



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE MATERIÁLŮ

INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE

STANOVENÍ HYDROXYKYSELIN VČETNĚ JEJICH NÍZKO- A VYSOKOMOLEKULÁRNÍCH DERIVÁTŮ

DETERMINATION OF HYDROXYACIDS INCLUDING THEIR LOW- AND HIGH MOLECULAR DERIVATIVES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Klára Lysáková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. Ing. Josef Čáslavský, CSc.

BRNO 2017

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1069/2016
Ústav: Ústav chemie materiálů
Studentka: **Klára Lysáková**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie, technologie a vlastnosti materiálů
Vedoucí práce: **prof. Ing. Josef Čáslavský, CSc.**
Akademický rok: 2016/17

Název bakalářské práce:

Stanovení hydroxykyselin včetně jejich nízko- a vysokomolekulárních derivátů

Zadání bakalářské práce:

1. Vypracování literární rešerše zaměřené na možnosti charakterizace monomerů, oligomerů a polymerů hydroxykyselin pomocí separačních a spektrálních metod.
2. Návrh optimální metody analýzy studovaných sloučenin s přihlédnutím k dostupné analytické instrumentaci.
3. Dle možností ověření navržené metody analýzou modelových a reálných vzorků.

Termín odevzdání bakalářské práce: 19.5.2017

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Klára Lysáková
student(ka)

prof. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
vedoucí práce

prof. RNDr. Josef Jančář, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT:

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou stanovení hydroxykyselin a jejich nízko- a vysokomolekulárních polymerů. Teoretická část pojednává o jejich vlastnostech, výrobě a využití. Polymery těchto látek jsou hojně využívány jako biodegradabilní plasty a jako vstřebatelné šicí materiály. Experimentální část je zaměřena na stanovení celkového složení a dále pak složení a množství nečistot vybraných vzorků ethyllaktátu, laktidů a polylaktidu. Analýza probíhala pomocí plynové chromatografie (GC) a pomocí tandemových technik, ve kterých bylo využito spojení plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (GC/MS), popřípadě ještě spojení Head-Space GC/MS analýzy.

ABSTRACT:

This bachelor thesis deals with the determination of hydroxy acids and their low and high molecular polymers. The theoretical part deals with their properties, production and utilization. The polymers of these substances are used as biodegradable plastics and as absorbable sewing materials. The experimental part is focused on the determination of the total component and on the composition and amount of impurities of selected samples of ethyl lactate, lactides and polylactide. Analysis was performed by gas chromatography (GC) and tandem techniques using GC/MS and Head-Space-GC/MS analysis.

KLÍČOVÁ SLOVA:

Hydroxykyseliny, ethyllaktát, laktid, polylaktid, plynová chromatografie (GC), plynová plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem (GC/MS)

KEYWORDS:

Hydroxyacids, ethyllactate, lactide, polylactide, gas chromatography (GC), gas chromatography plus mass spectrometry (GC/MS)

LYSÁKOVÁ, K. *Stanovení hydroxykyselin včetně jejich nízko- a vysokomolekulárních derivátů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 41 s. Vedoucí bakalářské práce prof. Ing. Josef Čáslavský, CSc..

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych chtěla poděkovat prof. Ing. Josefu Čáslavskému, CSc. za ochotu a odbornou pomoc při vedení mé bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala doc. RNDr. Jaroslavu Petrůjovi, CSc a Ing. Silvestru Figallovi, za ochotu při konzultacích. A v neposlední řadě také děkuji své rodině za podporu.

Obsah

1	Úvod.....	7
2	Teoretická část	8
2.1	Hydroxykyseliny	8
2.1.1	Alfa-hydroxykarboxylové kyseliny.....	8
2.1.2	Výroba kyseliny mléčné.....	9
2.1.3	Výroba kyseliny glykolové	10
2.1.4	Beta-hydroxykarboxylové kyseliny	10
2.1.5	Aromatické hydroxykarboxylové kyseliny	11
2.1.6	Výroba kyseliny salicylové	11
2.1.7	Využití.....	11
2.2	Deriváty	12
2.2.1	Ethyllaktát	12
2.2.2	Laktony.....	13
2.2.3	Laktid	13
2.2.4	Glykolid.....	14
2.3	Polymery hydroxykyselin.....	14
2.3.1	Vlastnosti.....	14
2.3.2	Výroba PGA	15
2.3.3	Výroba PLA	15
2.3.4	Využití.....	16
2.4	Metody analýzy polymerů	17
2.4.1	Jednoduché fyzikální a chemické testy	17
2.4.2	Určení molární hmotnosti.....	17
2.4.2.1	Membránová osmometrie	18
2.4.2.2	Rozptyl světla.....	18
2.4.2.3	Analýza koncových skupin.....	19
2.4.2.4	Viskozimetrické stanovení.....	19
2.4.3	Separační metody	19
2.4.3.1	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC).....	19
2.4.3.2	Gelová permeační chromatografie	20
2.4.3.3	Plynová chromatografie	21
2.4.3.4	Hmotnostní spektrometrie.....	22
2.4.4	Spektrální metody	23
2.4.4.1	Infračervená spektrometrie (IR spektrometrie).....	23
2.4.4.2	Ramanova spektrometrie	24

3	Experimentální část.....	25
3.1	Použité chemikálie.....	25
3.2	Příprava vzorku.....	25
3.3	Analytické metody.....	25
3.3.1	Plynová chromatografie (GC)	25
3.3.2	Head-Space GC/MS	26
3.3.3	GC/MS	27
4	Výsledky a diskuze	29
4.1	Stanovení nečistot ethyllaktátu.....	29
4.2	Stanovení složení různých typů laktidů.....	31
4.3	Stanovení nečistot ve vzorku PLA	35
5	Závěr	37
6	Seznam použitých zdrojů.....	38
7	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	41

1 ÚVOD

S hydroxykyselinami a jejich deriváty se dnes hojně setkáváme, samotné hydroxykyseliny se využívají v kosmetickém (kyselina mléčná) a farmaceutickém průmyslu (kyselina salicylová). Jejich deriváty se používají jako prekurzory k výrobě polymerů. Největší využití však mají polymery, které jsou biologicky odbouratelné a slouží jako náhrady v přírodě těžko rozložitelných plastů jako např. polystyren nebo polyethyltereftalát. Dále nacházejí uplatnění jako vstřebatelné šicí materiály, v přírodě rozložitelné plasty, náplně do 3D tiskáren a ve formě vláken také jako netkané textilie.

Ethyllaktát se nachází ve dvou optických izomerech a přirozeně se vyskytuje v široké škále potravin (víno, kuřecí maso). Vyrábí se esterifikační reakcí kyseliny mléčné s ethanolom. Používá se jako rozpouštědlo šetrné k životnímu prostředí, v kosmetickém, farmaceutickém a potravinářském průmyslu.

Laktidy jsou dehydratované dimery kyseliny mléčné, tvořící tři různé izomerní formy v závislosti na použité výchozí kyselině a slouží hlavně k výrobě polymerů. Jejich příprava se dělí do dvou kroků, kdy v prvním kroku vzniká nízkomolekulární polymer z bezvodé kyseliny mléčné a v druhém kroku probíhá depolymerace, která vede ke vzniku laktidu.

Polylaktid (PLA) je biologicky odbouratelný termoplastický polymer. PLA lze připravit buď přímou syntézou z kyseliny mléčné, kdy vzniká polymer s nízkou molární hmotností, nebo pomocí polymerace za otevření kruhu (ROP) z cyklického dimeru kyseliny mléčné. Tímto způsobem získáme vysokomolekulární polymer s vysokým stupněm stereoregularity.

Cílem této práce bylo stanovovat určité sloučeniny hydroxykyselin a jejich derivátů (ethyllaktát, laktid, polylaktid) a určit optimální metody jejich analýzy. Pro stanovení byla použita metoda plynové chromatografie s různými typy kolon (polární, nepolární). Dále byla využita metoda spojení plynového chromatografu a hmotnostního spektrometru (GC/MS) a také Head-Space GC/MS, kdy byl odebrán vzorek z hlavového prostoru nad pevným materiálem.

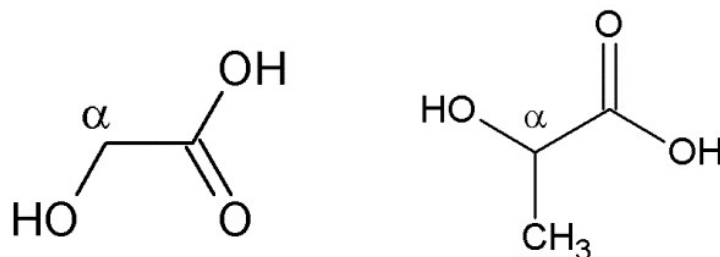
2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Hydroxykyseliny

Hydroxykyseliny jsou karboxylové kyseliny, které mají v řetězci jeden nebo více atomů vodíku nahrazeny hydroxylovou skupinou. Hydroxykyseliny rozdělujeme na lineární a aromatické a dále pak na alfa-, beta- a gama-. Tyto sloučeniny mohou být buď přírodní nebo syntetické [4].

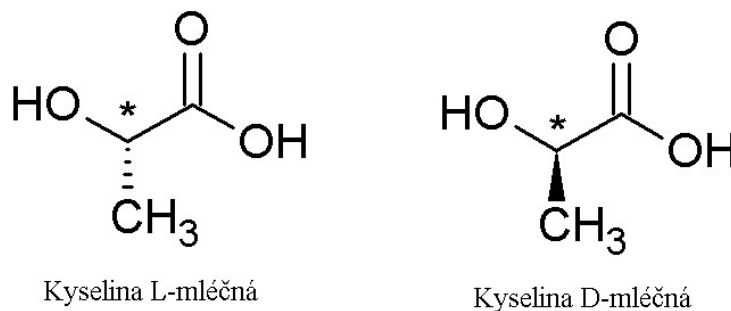
2.1.1 Alfa-hydroxykarboxylové kyseliny

Alfa-hydroxykyseliny jsou karboxylové kyseliny, které mají –OH skupinu navázanou na α -uhlíku, tedy na uhlíku sousedícím s karboxylovou skupinou. Mezi základní zástupce lineárních (alifatických) α -hydroxykyselin patří kyselina mléčná a kyselina glykolová (viz Obr. 1).



Obr. 1: Strukturální vzorce kyseliny glykolové a kyseliny mléčné

Kyselina mléčná je v přírodě nejrozšířenější alfa-hydroxykarboxylová kyselina, vyskytuje se v kyselém mléce, kefiru, jogurtech, kyselém zelí a kvašených okurkách. Díky chirálnímu uhlíku kyselina mléčná vytváří dva optické stereoizomery. Obvykle se vyskytuje jako racemická směs a je označována jako kyselina DL–mléčná. Tato směs má nulovou optickou aktivitu. Dále se vyskytuje jako (S)-mléčná kyselina (kyselina L-(+)- mléčná, L-kyselina mléčná), a (R)-mléčná kyselina (kyselina D-(–)- mléčná, D-kyselina mléčná). V přírodě se nachází v L-formě. Přítomnost karboxylové a hydroxylové skupiny umožňuje intermolekulární a intramolekulární esterifikační reakce a jako vedlejší produkt se odštěpuje voda [12].



Kyselina L-mléčná

Kyselina D-mléčná

Obr. 2: Optické stereoizomery kyseliny mléčné

Vlastnosti jsou závislé na struktuře kyseliny mléčné. Racemická směs má odlišné vlastnosti od obou enantiomerů. Ty mají vlastnosti stejné, jen otáčí rovinu polarizovaného světla opačně. Kyselina mléčná je v bezvodém stavu bílá hygroskopická krystalická látka. Je to středně silná kyselina, rozpustná ve vodě a ethanolu. V protickém rozpouštědle dobře odštěpuje proton a vzniká tak anion (laktát) [12][13].

Tabulka 1: Vlastnosti kyseliny mléčné [12]

Vlastnost	Hodnota	Jednotka
Sumární vzorec	$C_3H_6O_3$	–
Molekulová hmotnost	90,08	g/mol
Teplota tání	18 (racemická směs)	°C
	53 (enantiomer)	°C
Teplota varu	122 (při 14 mm Hg)	°C
Krystalová struktura	orthorombická	–
Hustota pevné látky	1,33 (20 °C)	g/cm ³
Hustota kapaliny	1,224 (100% podchlazená kapalina)	g/cm ³
	1,186 (80,8% vodní roztok)	g/cm ³
Rozpustnost ve vodě	86 (20°C, monomerní)	hm %
Viskozita	28,5 (85,3% vodní roztok, 25 °C)	mPa·s
pK _a	3,86	–

Kyselina glykolová je nejjednodušší α -hydroxykyselina a jako přírodní látka se vyskytuje v cukernatých rostlinách, ananasu, nezralých hroznech nebo v melounech. Je to bezbarvá, hygroskopická, krystalická látka rozpustná ve vodě, alkoholech, acetonu, kyselině octové a ethylacetátu [14][15].

Tabulka 2: Vlastnosti kyseliny glykolové [14]

Vlastnost	Hodnota	Jednotka
Sumární vzorec	$C_2H_4O_3$	–
Molekulová hmotnost	76,05	g/mol
Teplota tání	75	°C
Teplota varu	rozkládá se	°C
Hustota	1,49	g/cm ³
Rozpustnost ve vodě	70	hm %
Viskozita	11,28(70% vodní roztok, 15,6 °C)	mPa·s
pK _a	3,83	–

2.1.2 Výroba kyseliny mléčné

Kyselina mléčná se v průmyslu vyrábí fermentací nebo chemickou syntézou. Fermentační proces vyžaduje sacharidy skládající se převážně z hexózy nebo ze sloučenin, které se na hexózy snadno štěpí (glukóza, kukuřičný sirup, melasa, cukr řepné šťávy, syrovátka, jakož

i rýže, pšenice, kukuřice a bramborový škrob). Tyto látky se enzymaticky přeměňují na buněčnou energii (ATP, NADH) a metabolický produkt. Aby vznikala kyselina mléčná, musí fermentace probíhat anaerobně. V prvním kroku vzniká pyruvát a ve druhém kroku kyselina mléčná. Tímto způsobem lze vytvořit čisté L- a D- izomery [16][17].

Racemická směs se vyrábí reakcí kyanovodíku s acetaldehydem za vzniku laktonitridu. Ten se následně přečistí destilací a dále se hydrolyzuje pomocí kyseliny chlorovodíkové nebo sírové při teplotě kolem 100 °C. Jako vedlejší produkt vzniká odpovídající amonná sůl. Na přečištění vzniklé kyseliny se využívá reakce s methanolem za vzniku methyllaktátu, který se ze směsi oddestiluje, a následně probíhá hydrolyza, za vzniku čisté kyseliny mléčné a methanolu [11][18].

2.1.3 Výroba kyseliny glykolové

Kyselina glykolová se obvykle vyrábí hydrolyzou roztavené kyseliny monochloroctové s 50% vodným roztokem hydroxidu sodného při 90–130 °C. Výsledný roztok má koncentraci přibližně 60 % a obsahuje 12–14 % chloridu sodného. Sůl se odstraňuje odpařováním a následnou extrakcí kyseliny acetonem. Hydrolyza se také může provádět za přítomnosti kyselého katalyzátoru při 150–200 °C s vodou nebo párou pod tlakem. V tomto případě je vedlejším produktem chlorovodík, který se odstraňuje destilací. Nevýhodou této metody je velká spotřeba vody [15]

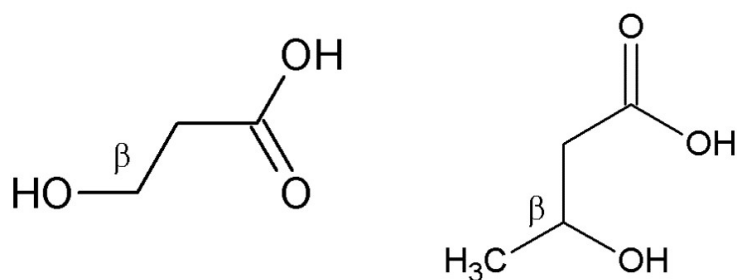
Další možností výroby je redukce kyseliny šťavelové, nebo katalyzovaná reakce formaldehydu a syntézního plynu, což je směs vodíku, oxidu uhelnatého a velmi často také oxidu uhličitého. Pomocí syntézního plynu se formaldehyd karbonyluje. Jedná se o ekologický a úsporný druh výroby [15]

2.1.4 Beta-hydroxykarboxylové kyseliny

β -hydroxykyseliny mají –OH skupinu navázanou na β -uhlíku. Mezi zástupce patří kyselina β -hydroxypropanová nebo β -hydroxybutanová (taktéž kyselina β -hydroxymáselná) (viz Obr. 3).

Kyselina β -hydroxypropanová je bezbarvá kapalina s mírně nasládlou vůní a je strukturním izomerem kyseliny mléčné. Využívá se při výrobě vstřebatelných protetických zařízení a chirurgických šicích materiálů, také na výrobu kyseliny akrylové, nebo tvoří kopolymery s kyselinou mléčnou. K výrobě polymerů se nepoužívá z důvodu vysokých nákladů [23].

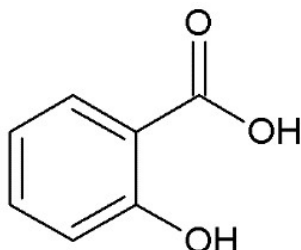
Kyselina β -hydroxymáselná je chirální sloučenina, která tvoří dva enantiomery. Člověk si tuto kyselinu syntetizuje v játrech z acetyl-CoA a využívá se jako zdroj energie pro mozek, když je hladina glukózy v krvi příliš nízká. V průmyslu se využívá k syntéze biologicky odbouratelných plastů (např. poly(3-hydroxybutyrát)) [22].



Obr. 3: Strukturní vzorce kyseliny β -hydroxypropanové a kyseliny β -hydroxybutanové

2.1.5 Aromatické hydroxykarboxylové kyseliny

Mezi aromatické hydroxykyseliny patří kyselina salicylová, kdy se –OH skupina nachází v poloze ortho ke skupině karboxylové [viz Obr. 4]. Také ji můžeme považovat za β–hydroxykyselinu. Je to bezbarvá krystalická látka bez zápachu, která je hojně využívána při organické syntéze. Působí jako rostlinný hormon, kdy napomáhá růstu a vývoji rostliny. V přírodě se nachází v kůře vrby. Je dobře rozpustná v oleji, terpentýnu, alkoholu, éteru, propanolu, ethanolu, acetonu a špatně rozpustná ve vodě.



Obr. 4: Strukturální vzorec kyseliny salicylové

Tabulka 3: Vlastnosti kyseliny salicylové [19]

Vlastnost	Hodnota	Jednotka
Sumární vzorec	C ₇ H ₆ O ₃	–
Molekulová hmotnost	138,122	g/mol
Teplota tání	159	°C
Teplota varu	211	°C
Hustota	1,443 (20 °C)	g/cm ³
Rozpustnost ve vodě	2,240 (25 °C)	g/l
pK _a	2,97	–

2.1.6 Výroba kyseliny salicylové

Kyselina salicylová se připravuje v průmyslovém měřítku pomocí syntézy Kolbe-Schmitt ze suchého fenoxidu sodného v proudu oxidu uhličitého při 150–160 °C a při tlaku 500 kPa. Použití tlaku má za následek výtěžek asi 90 % (za normálního tlaku je výtěžek pouze 50 %). Vzniklá kyselina je velice čistá, obsah kyseliny salicylové je přibližně 99,5 % a mezi nečistoty patří fenol, kyselina p-hydroxybenzoová, kyselina 4-hydroxyizoftalová (0,05–0,1 %) dále pak popel (<0,1 %) a voda (0,2 %) [19].

Ještě vyšší čistoty (farmaceutické použití) lze dosáhnout krystalizací salicylanu sodného z vody při teplotě ne vyšší než 20 °C, dále pak probíhá sublimace kyseliny při 20 kPa a teplotě 154 °C [19].

2.1.7 Využití

Hydroxykyseliny se využívají v kosmetickém průmyslu. Často se nacházejí v produktech, které napomáhají k redukci vrásek, nebo jsou součástí chemických peelingů. Tyto látky slouží k odstranění vnější vrstvy kůže, a to buď mechanickými, nebo chemickými prostředky.

Chemické odlupování kůže probíhá pomocí kyselin, které spálí vrchní vrstvu kožních buněk. Hydroxykyseliny se používají hlavně z důvodu, že jsou to středně silné kyseliny ($pK_a = 3$) a jejich použití je bezpečné. Nežádoucí účinky, které se mohou vyskytnout při nesprávné aplikaci, zahrnují zvýšenou citlivost kůže na slunci, puchýře, popáleniny nebo zvýšené riziko výskytu rakoviny kůže [2][4].

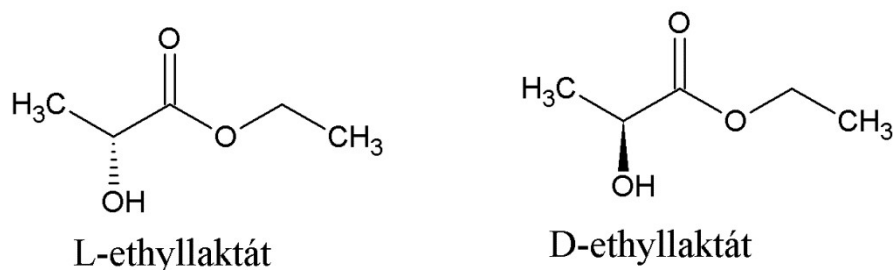
Kyselina mléčná se využívá jako pH regulátor v kosmetice, pro výrobu polymeru, který se využívá jako biodegradabilní materiál, dále jako okyselovací činidlo v kožedělném průmyslu, rozpouštědlo při čištění kovů, detergent, a zvlhčovač [17]. Kyselina glykolová má také využití v kosmetice, jako konzervační činidlo v potravinářství, dále k výrobě polymeru [15].

Kyselina salicylová slouží jako hlavní surovina pro výrobu kyseliny acetylsalicylové (aspirin). Samotná kyselina slouží k léčbě bradavic, lupénky, akné a pásového oparu, dále pak jako konzervační činidlo pro její baktericidní a antiseptické vlastnosti [20].

2.2 Deriváty

2.2.1 Ethyllaktát

Ethyllaktát (nebo také ethylester kyseliny mléčné) je ester kyseliny mléčné a jedná se o ekologicky nezávadné rozpouštědlo. Obdobně jako kyselina mléčná se nachází ve dvou optických izomerech. Jedná se o čirou bezbarvou kapalinu s charakteristickým zápachem. Je hustší než voda a páry jsou těžší než vzduch. Přirozeně se v malém množství vyskytuje v široké škále potravin (víno, kuřecí maso a některé další druhy potravin). Ethyllaktát je mísitelný s vodou, alkoholy, ketony, estery, ethery a benzínem. Bod tání je $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ a bod varu $154\text{ }^{\circ}\text{C}$ [14][44].



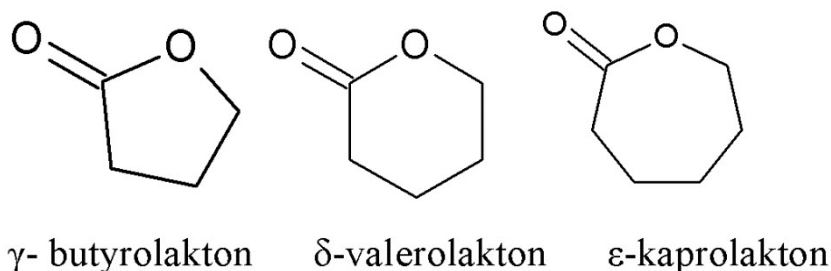
Obr. 5: Optické izomery ethyllaktátu

Ethyllaktát se vyrábí esterifikační reakcí kyseliny mléčné s ethanolom. Výhodou této reakce je obnovitelnost zdrojů, které se získávají fermentačním procesem nebo z biomasy. Výroba se provádí v přítomnosti homogenních katalyzátorů, silných kyselin (např. kyselina sírová, fosforečná...), nebo heterogenních katalyzátorů, jako jsou zeolity či iontovýmenné pryskyřice. Běžně reakce probíhá po dobu, než dospěje do rovnováhy, poté se vzniklý produkt odseparuje destilací. K dosažení vyšší konverze se reakce provádí v nadbytku ethanolu a vzniklý ester je odstraňován z reakční směsi [44][45].

Používá se jako rozpouštědlo, které je šetrné k životnímu prostředí a rozpouští kyselinu octovou, celulózu a mnoho pryskyřic. Dále se využívá v kosmetickém průmyslu, ve farmaceutickém průmyslu jako pomocné rozpouštědlo, v potravinářském průmyslu jako ochucovač a jako odmašťovač [44].

2.2.2 Laktony

Laktony jsou cyklické estery hydroxykarboxylových kyselin, které vznikají intramolekulární reakcí karboxylové a hydroxylové skupiny za odštěpení vody. β -hydroxykarboxylové kyseliny tvoří β -laktony, které jsou málo stabilní, γ -hydroxykarboxylové kyseliny tvoří γ -laktony atd. V přírodě se vyskytují γ - a δ -laktony, které dodávají vůni sýrů, másla a různých druhů ovoce. Nejstabilnější jsou pětičlenné γ -laktony a šestičlenné δ -laktony z důvodu výhodného energetického uspořádání vazeb. Mezi nejznámější zástupce patří γ -butyrolakton, δ -valerolakton a ϵ -kaprolakton [15][26].



Obr. 6: Strukturní vzorce laktonů

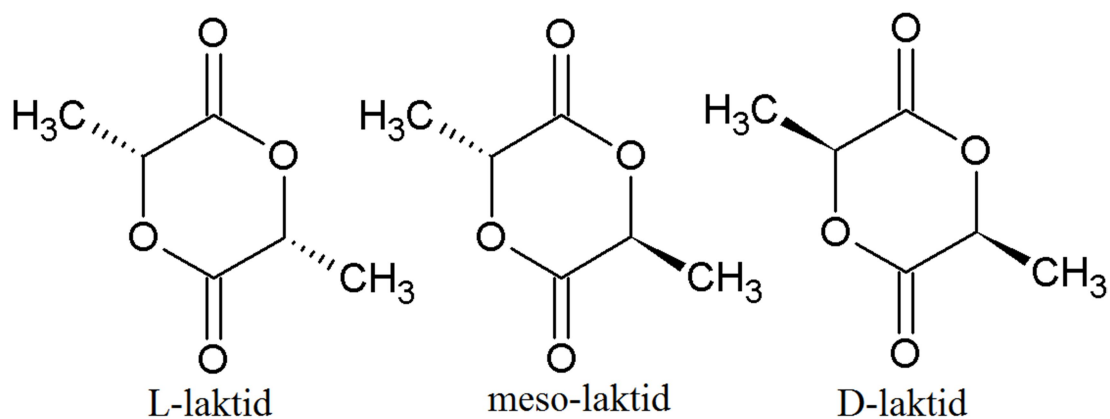
γ -butyrolakton (GBL) je odvozen od kyseliny γ -hydroxymáselné. Jeho bod varu je 204 °C a bod tání -44 °C. Je to čirá bezbarvá olejovitá jedovatá kapalina s příjemnou vůní, velmi dobře rozpustná v methanolu, acetonu, etheru, benzenu a mísitelná s vodou. Využívá se jako rozpouštědlo při čištění a odmašťování, dále jako inkoust do tonerů nebo na výrobu herbicidů a pesticidů. V minulosti se GBL přidával do doplňků stravy pro sportovce pro zvýšení růstu svalové hmoty a snížení únavy. Dnes už se tato látka do doplňků stravy nepřidává, protože může snížit dechovou frekvenci, způsobit bezvědomí, kóma, zvracení, záchvaty a v nejhorším případě i smrt. GBL je možné vyrobit vysokotlakou syntézou acetylenu a formaldehydu, hydrogenací anhydridu kyseliny maleinové nebo dehydrogenací 1,4-butandiolu, který se zavádí do horkého cirkulujícího vodíku a prochází skrz vrstvu měděného katalyzátoru. Výtěžek je přibližně 95% [26][27][28].

ϵ -kaprolakton je bezbarvá hygroskopická kapalina s charakteristickým zápachem. Je mísitelná s vodou a většinou organických rozpouštědel. Jeho bod varu je 237 °C a bod tání je -1,5 °C. ϵ -kaprolakton se získává jako produkt reakce kyseliny peroctové a cyklohexanonu. Využívá se jako prekurzor na výrobu kaprolaktamu a polykaprolaktonu, dále jako surovina při výrobě lepidel a těsnících hmot [29].

2.2.3 Laktid

Laktid je dehydratovaný dimer kyseliny mléčné, se systematickým názvem 3,6-dimethyl-1,4-dioxan-2,5-dion, který v závislosti na výchozí kyselině tvoří tři různé izomerní formy. Kyselina mléčná nemůže vytvářet laktony, protože karboxylová skupina se nachází blízko hydroxylové skupiny. Laktid je hlavní složkou pro výrobu polymeru [12].

L,D-laktid je tvořený odpovídajícím izomerem kyseliny mléčné, má stejné vlastnosti, jenom stáčí opačně rovinu polarizovaného světla. Teplota tání se pohybuje mezi 96–97 °C. Meso-laktid vzniká vždy z jedné molekuly L-mléčné kyseliny a jedné molekuly D-mléčné kyseliny. Jedná se o opticky inaktivní látku s teplotou tání 53 °C. Laktidy jsou rozpustné v benzenu, toluenu, xylenu, dichlormethanu, THF, chloroformu, ethylacetátu, methanolu, isopropanolu, acetonu a butanonu. Ve vodě hydrolyzují na kyselinu mléčnou [12].



Obr. 7: Izomery dilaktidu

Výrobu můžeme rozdělit do dvou kroků. Prvním krokem je příprava prepolymeru, kdy vzniká nízkomolekulární polymer z bezvodé kyseliny mléčné při teplotě 190 °C a tlaku 7-25 kPa; důležitým úkonem je odstraňování vody v průběhu reakce. V druhém kroku probíhá depolymerace při vysoké teplotě, nízkém tlaku a za přítomnosti katalyzátoru za vzniku laktidu. Dnes se využívá metoda přímé syntézy z esterů kyseliny mléčné (transesterifikace). Následně probíhá purifikace neboli čištění, kdy se nejvíce využívá technika krystalizace z roztoku nebo destilace [24][12].

2.2.4 Glykolid

Glykolid je dimer kyseliny glykolové se systematickým názvem 1,4-dioxan-2,5-dion a teplotou tání v rozsahu 82–86 °C. Výroba glykolidu je podobná jako u laktidu, kdy v prvním kroku vzniká nízkomolekulární polymer a poté v druhém kroku probíhá depolymerace za vzniku dimeru. Další možný způsob výroby spočívá v zahřívání oligomeru kyseliny polyglykolové do taveniny. Dimer se odpařuje z povrchu taveniny a je unášen inertním plynem (N₂), nevýhodou je pomalý vznik. Dále se dimer vyrábí z oligomeru za vyšší teploty v přítomnosti katalyzátoru a rozpouštědla, které je vhodné pro vynášení sloučeniny a plynná látka následně kondenzuje [25].

2.3 Polymery hydroxykyselin

Jedná se o biologicky odbouratelné termoplastické polymery odvozené od α -hydroxykyselin, nejčastěji pak homopolymery a kopolymery kyseliny mléčné a glykolové. Vyskytují se buď přírodní, nebo syntetické, kdy syntetické polymery jsou využívány častěji pro jejich stálost vlastností. Polymery se také nazývají polyglykolid nebo polylaktid, kdy jsou odvozené od dimeru, ze kterého jsou vyráběny [10].

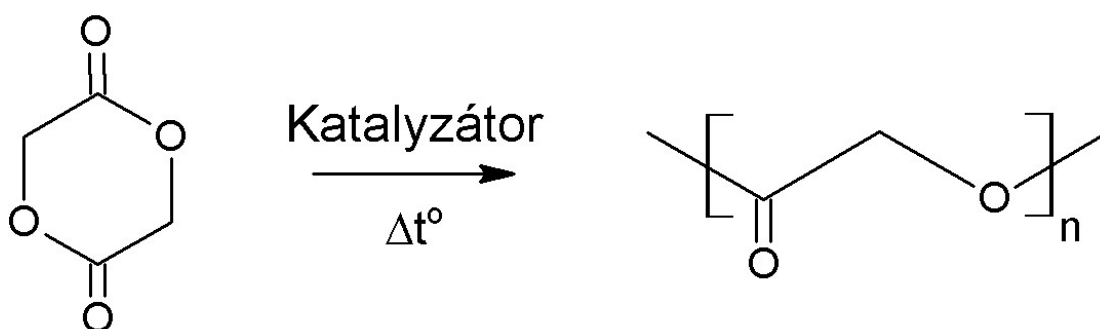
2.3.1 Vlastnosti

Polymery hydroxykyselin mají dobré chemické vlastnosti, jsou čiré a dobře se zpracovávají, nevýhodou je jejich křehkost. Hustota PGA při 25 °C je 1,530 g·cm⁻³, stupeň krystalinity je poměrně vysoký a nachází se v rozmezí 45–55 %, díky tomu je PGA nerozpustný ve vodě a ve většině organických rozpouštědel. Výjimku tvoří vysoce fluorovaná organická rozpouštědla (např. hexafluorisopropanol). Teplota skelného přechodu (T_g) se u PGA pohybuje mezi 36–40 °C. Má vysokou teplotu tání (T_m) 224–230 °C díky esterovým skupinám, které také stabilizují krystalovou strukturu. Vlákna z PGA vykazují vysokou pevnost a modul pružnosti (7 GPa) [9][10].

Poly(L-laktid) (PLLA) má stupeň krystalinity 37 %, je semikrystalický s teplotou tání (T_m) 175–178 °C a teplotou skelného přechodu (T_g) 60–65 °C. Má vysokou pevnost v tahu, nízké prodloužení (5–10%) a díky tomu vysoký modul pružnosti (2,7 GPa). Poly(DL-laktid) (PDLA) je amorfni polymer, má náhodné rozložení obou izomerních forem, a proto není schopen tvořit krystal. Má nižší modul pružnosti (1,9 GPa) a nižší T_g než PLLA (55–60 °C). PLA je rozpustný v chlorovaných rozpouštědlech, horkém benzenu, tetrahydrofuranu a dioxanu [10].

2.3.2 Výroba PGA

PGA lze polymerizovat buď přímo, nebo nepřímo z kyseliny glykolové. Přímou polykondenzací získáme produkt se střední molekulovou hmotností (M_n) menší než 10 000. Pro výrobu PGA o M_n vyšší než 10 000 je nutné použít „ring-opening“ polymerizaci, kdy dochází k otevření kruhu glykolidu za přítomnosti katalyzátoru (např. oxid antimonitý, zinkové, hliníkaté sloučeniny a sloučeniny cínu) a při teplotě 195–230 °C (viz Obr. 8) [9].



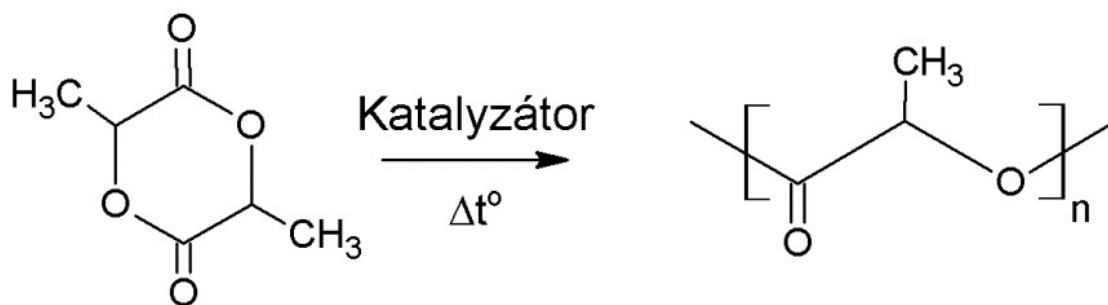
Obr. 8: Příprava PGA pomocí "ring-opening" polymerace

2.3.3 Výroba PLA

Poly(mléčná kyselina) (PLA) s nízkou molární hmotností, dosahující pouze několika desítek tisíc, se získá přímou polykondenzací za sníženého tlaku a za přítomnosti katalyzátoru. Důvodem je tvorba molekul vody, která se z vysoce viskózní reakční směsi velmi těžko odstraňuje. Další nevýhodou je, že během reakce není možno kontrolovat stereoregularitu a proto má také výsledný polymer horší mechanické vlastnosti [1].

Při polymeraci v pevném stavu se vychází ze semikrystalického prepolymeru o relativně nízké molekulové hmotnosti, který se zahřívá na teplotu skelného přechodu, ale pod teplotu tání. V reakční směsi se nachází dvě fáze - krystalická a amorfni, reakce probíhá v amorfni částech polymeru, kde se nachází všechny reaktivní koncové skupiny. Touto metodou získáme vysokomolekulární produkt [1][12].

Pomocí polymerace za otevření kruhu (viz Obr. 9) lze připravit PLA o vysoké molární hmotnosti s vysokým stupněm stereoregularity. PLA je syntetizována z laktidů, cyklických dimerů kyseliny mléčné, které se získávají z nízkomolekulárních oligomerů za vysoké teploty a nízkého tlaku v přítomnosti katalyzátorů. Polymerace může být klasifikována podle mechanismu a použitého iniciátoru jako aniontová, kationtová nebo koordinačně-insertní. Poslední jmenovaná metoda je nejrozšířenější a jako katalyzátory se využívají alkoholáty kovů (Mg, Sn, Ti, Zr, Al a Zn) [1][11][21].



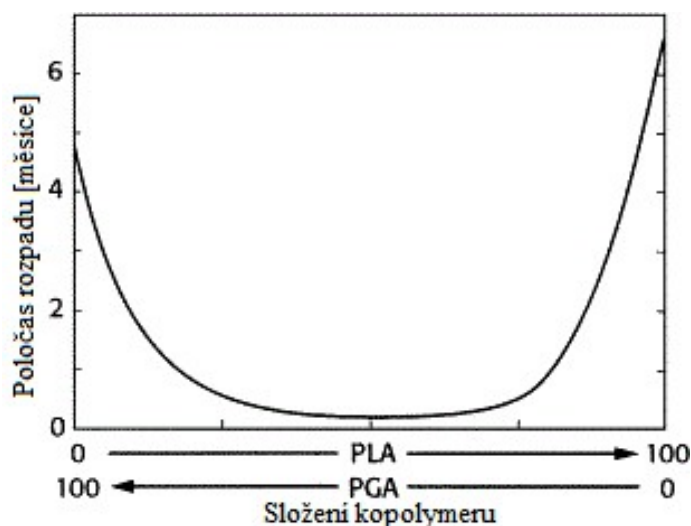
Obr. 9: Příprava PLA pomocí "ring-opening" polymerace

2.3.4 Využití

V dnešní době se polymery hydroxykyselin využívají v chirurgii jako vstřebatelný šicí materiál. Vyrábí se jak homopolymery, tak kopolymery PGA a PLA, kdy procentuální složení kopolymeru závisí na požadované rychlosti rozpadu. Například kopolymer 50% PGA a 50% PDLA degraduje rychleji než homopolymer (viz Obr. 10). Stehy vyráběné z PGA ztrácejí asi 50 % síly do dvou týdnů a zcela se absorbují do 4–6 měsíců [10].

Další použití jsou v tkáni rozložitelné šrouby nebo hřeby. Obecně poly(alfa-hydroxy kyseliny) podléhají degradaci. Molekulová hmotnost polymeru klesá od prvního dne (např. PGA, PDLA) nebo po několika týdnech (např. PLLA) od vložení materiálu do tkáně. Biologicky odbouratelný materiál, který je implantovaný do těla, zachovává po určitou potřebnou dobu své mechanické vlastnosti. Jakmile se stává pro tělo nepotřebný, vstřebává se do těla beze stopy [7] [10].

Dále se tyto polymery používají jako nosiče léčiv, kde se využívá nízké molekulární hmotnosti. PLA lze využít také jako náplň do 3D tiskáren, jednorázové kelímky, rozložitelný obalový materiál a ve formě vláken a netkaných textilií se využívá na jednorázové hygienické potřeby.



Obr. 10: Poločas rozpadu homopolymerů, kopolymerů PLA a PGA v závislosti na složení

2.4 Metody analýzy polymerů

Abychom úplně charakterizovali neznámý polymer, musíme získat tyto informace:

- a) typ polymeru
- b) typy a množství přítomných zpracovatelských přísad
- c) typ a množství inertní plniva
- d) typ a množství přítomného monomeru
- e) typy a množství organických těkavých látek
- f) obsah vody
- g) typy a množství katalytických zbytků
- h) typy a množství jiných nečistot

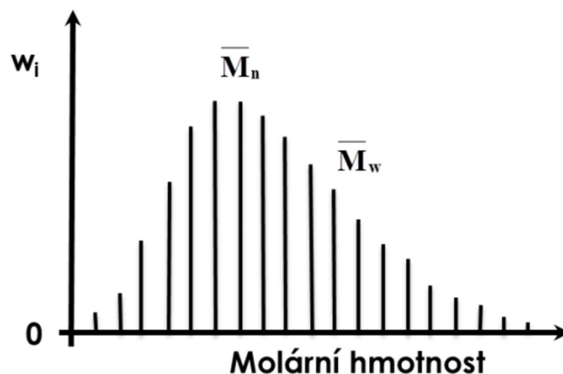
K úspěšné identifikaci polymerů je třeba je oddělit od přítomných zpracovatelských přísad a plniv a tím zamezit rušení v průběhu identifikace. K oddělení polymeru od aditiv se nejčastěji používají dvě metody. První možnost je, že se látka rozpouští v rozpouštědle vhodném jak pro polymer, tak pro aditivum a dále se přidá látka, která polymer vysráží a ponechá aditiva rozpuštěné (frakční srážení). Druhý způsob spočívá v zahřívání polymeru s rozpouštědlem pod zpětným chladičem a vzniká dispergovaná fáze, která obsahuje aditiva (frakční extrakce). Další metody jsou difúzní dialýza nebo elektrodialýza [33].

2.4.1 Jednoduché fyzikální a chemické testy

Po odstranění aditiv mohou být provedeny některé předběžné testy, mezi které patří zkouška rozpustnosti, hořlavost, zkouška barevnosti nebo zkouška zápachu (např. štiplavý zápach chlorovodíku určí chorovaný polymer). Tyto testy nám dají omezené informace a v případě kopolymerů jsou tyto testy zbytečné [33].

2.4.2 Určení molární hmotnosti

Typická odlišnost polymerů oproti nízkomolekulárním látkám je distribuce molární hmotnosti (DMH), z tohoto důvodu zavádíme průměrné hodnoty molární hmotnosti (M_n , M_w , M_v , M_z). Stanovení těchto průměrů lze provést na základě řady metod. Rozptyl světla poskytuje M_w , osmometrie a stanovení koncových skupin M_n , viskozimetrie M_v a sedimentační metody M_z . Žádná z těchto metod nám však nedokáže poskytnout informaci o DMH. Pro stanovení DMH je potřeba použít vhodnou separační techniku, která zajistí rozdělení polymerního vzorku na frakce s odlišnými molárními hmotnostmi. Jednoduchým matematickým zpracováním pak získáme všechny průměry molárních hmotností a vnesením množství (např. hm. zlomků) frakcí v závislosti na jejich molární hmotnosti získáme tzv. distribuční křivku, která graficky podává unikátní informaci o vzorku. Nejběžnější separační metodou je gelová permeační chromatografie [35].



Obr. 11: Příklad distribuční křivky molárních hmotností přibližným vyznačením číselného (M_n) a hmotnostního (M_w) průměru molárních hmotností [35]

2.4.2.1 Membránová osmometrie

Jedná se o absolutní analytickou metodu, která určuje číselný střed molární hmotnosti (M_n). Přístroj se skládá ze dvou komor propojených polopropustnou membránou, která je specifická pro určité sloučeniny. V jedné komoře se nachází čisté rozpouštědlo a druhá komora obsahuje roztok, ve kterém je rozpuštěn polymer s neznámou molekulární hmotností. Metoda spočívá v měření rozdílů osmotických tlaků, kdy se měří rozdíl hladin v obou komorách. Metoda je nevhodná pro měření velmi malých nebo velkých molárních hmotností. Běžnou membránovou osmometrii je možno použít pro stanovení molárních hmotností od hodnot přibližně $1,5 \cdot 10^4$ do 10^6 (horní mez je dána citlivostí přístroje) [34].

2.4.2.2 Rozptyl světla

Rozptyl světla je jev, kdy dochází k interakci světla s molekulami či částicemi. Světelné paprsky se při této interakci odchýlí od přímého směru do více různých směrů. Měřením rozptylu světla polymerů získáváme hmotnostní střed molárních hmotností [40].

Při dopadu fotonů na povrch dochází k jejich rozptylu - elastickému nebo neelastickému. Elastický rozptyl na atomových zbytcích představuje srážku s mnohonásobně těžší částicí, dochází tedy pouze ke změně směru a ne ke změně energie. Jednotlivé atomové zbytky můžeme považovat za rozptylová centra, rozptýlená vlna má vlnový vektor o stejné velikosti jako vlna primární, ale může se šířit libovolným směrem. Jednotlivé rozptýlené vlny spolu interferují, při pravidelném uspořádání rozptylových center nebo jejich skupin (krystalická látka, atomární nebo molekulární) se v určitých směrech vzájemně zesilují a pozorujeme elektronovou difrakci. Při neelastických srážkách dochází ke změně vlnové délky záření, molekula se stává sekundárním zdrojem záření [41].

Metoda dynamického rozptylu světla je založená na měření intenzity světla rozptýleného molekulami ve vzorku v průběhu času. Molekuly v roztoku vykonávají Brownův pohyb. Podle toho, jak se pohybuje částice vůči detektoru, frekvence rozptýleného záření se buď zvyšuje, nebo snižuje, a tím vzniká fázový rozdíl mezi rozptýlenými vlnami, které mezi sebou interferují. Platí tedy, že čím rychleji se molekuly pohybují, tím rychleji se mění intenzita rozptýleného záření. Rychlost změny intenzity rozptýleného záření přímo závisí na pohybu molekuly. Pohyb molekuly ovlivňují faktory jako teplota, viskozita rozpouštědla a velikost částic (čím větší částice, tím pomaleji se pohybuje). Pokud je teplota a viskozita rozpouštědla můžeme určit velikost částic [38][39].

2.4.2.3 *Analýza koncových skupin*

Tato metoda stanovení spočívá v titraci roztoku polymeru vhodným roztokem; získáváme hodnoty střední molární hmotnosti (M_n) (vhodná pro polymery do $2 \cdot 10^4$). Je vhodná pro polymery mající koncové skupiny (OH, COOH, NH_2 , epoxy skupiny) vhodné pro titrační stanovení.

2.4.2.4 *Viskozimetrické stanovení*

Kapilární reometry se používají k měření viskozity zředěných polymerů (nebo taveniny). Získáme tak viskozitní průměr molární hmotnosti. Vzorek tlačem pístem a měří se závislost smykového napětí na smykové rychlosti. Kapilární viskozimetr může být použit k získání přibližné viskozity taveniny za různých smykových rychlostí pomocí rovnice pro tok taveniny skrz kapiláry. Pro tyto hodnoty viskozity, může být vypočtena viskozita nulové smykové rychlosti (η_0) [43].

Index toku taveniny může být také stanoven s použitím kapilárního viskozimetru. Rychlost vytlačování taveniny polymeru je určena pomocí zařízení specificky stanovených rozměrů [43].

2.4.3 *Separační metody*

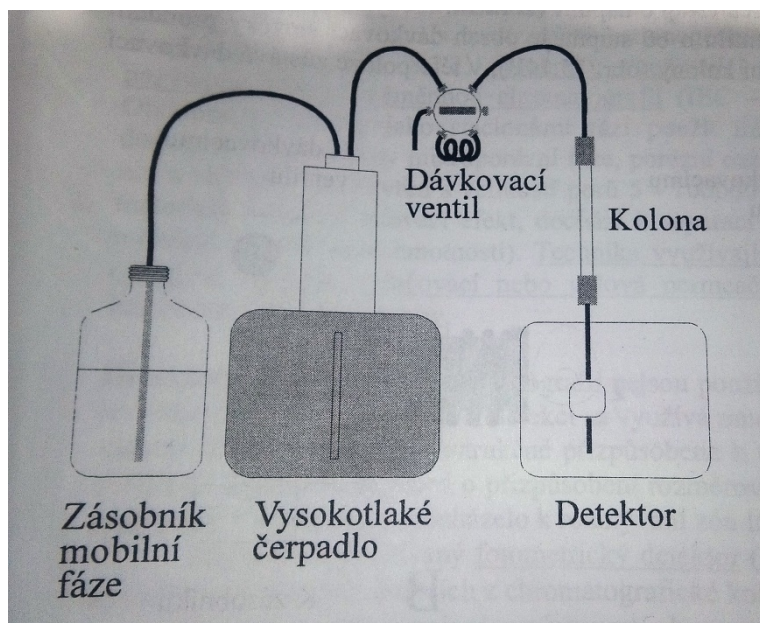
Pro separační metody je charakteristická vysoká selektivita daná povahou procesu analýzy, jedná se o metody vhodné zejména pro analýzu komplexních vzorků se složitou maticí. Proces analýzy se dá rozdělit do dvou kroků, do kroku separačního, kdy dochází k fyzickému oddělení složek analyzovaného vzorku, a druhého kroku, kterým je detekce [30][32].

Separační metody slouží k identifikaci a stanovení obsahu stabilizátorů a jiných aditiv, k určení látek způsobujících zápach. Dále pak ke stanovení stopových nečistot v monomerech a zbytkových monomerů [36].

2.4.3.1 *Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)*

Kapalinová chromatografie se využívá především k separaci směsí látek, které jsou netěkavé nebo špatně těkavé a termicky labilní. K separaci využívá různé systémy pevné nebo kapalné stacionární fáze a kapalné mobilní fáze, která hraje důležitou úlohu. Podle mechanismu separace se používají rozpouštědla různé polarity, přičemž změna vlastností mobilní fáze je v systému s danou stacionární fází hlavním faktorem ovlivňujícím retenci jednotlivých složek směsi a tím i jejich vzájemné rozdělení [30] [32].

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) je pokročilou instrumentálně náročnou technikou, ve které je dosahováno vysoké účinnosti separace. Kontinuální separace se provádí v kolonách se stacionární fází o velmi malých částicích (1,7–5 μm). Tyto kolony se vyznačují vysokou hustotou a homogenitou náplně stacionární fáze a tedy i velkým hydrodynamickým odporem. Pro dosažení dostatečného průtoku mobilní fáze je nutné aplikovat přetlak (jednotky až desítky MPa) pomocí vysokotlakých čerpadel. Schéma přístroje viz Obr. 12 [30] [32].



Obr. 12: Schéma vysokoúčinného kapalinového chromatografu (HPLC) [31]

Dávkování vzorku u HPLC musí být přesně definováno, vzorek musí být nastříknut do proudu mobilní fáze protlačované kolonou pod velkým tlakem. Při dávkování nesmí dojít k výrazným fluktuacím průtokové rychlosti mobilní fáze. Nejčastěji se používá ventil s částečně plněnou smyčkou [30].

Separační kolony používané v HPLC musí odolat vysokému tlaku mobilní fáze a jsou tudíž vyrobené z nerezové oceli. Jejich vnitřní průměr bývá 2–4,6 mm a délka 30–300 mm. Stacionární fáze obvykle bývá silikagel vhodné zrnitosti, nejčastěji modifikovaný navázáním vhodných funkčních skupin, které určují polaritu fáze. Dále se používá iontoměnič, tvořený nejčastěji síťovaným polystyrenem s navázanými kationogenními nebo anionogenními funkčními skupinami. Tato metoda se nazývá iontová chromatografie. Obdobně lze využít mikroporézních sorbentů. Při interakci se vzorkem tyto materiály vykazují síťový efekt, dochází k separaci komponent vzorku dle velikosti molekul (molekulové hmotnosti). Tato metoda se jmenuje chromatografie sterické výluky nebo gelová permeační chromatografie [30].

Detektory v HPLC kontinuálně sledují složení eluátu. Nejčastěji používaný detektor je spektrofotometrický, který sleduje absorbanci eluátu. V současnosti se často využívá detektor s diodovým polem, který umožňuje okamžitý záznam celého spektra ve zvolené oblasti vlnových délek. A v neposlední řadě se využívá také hmotnostní detektor s možností přímé identifikace jednotlivých separovaných látek vycházejících z kolony [30].

2.4.3.2 Gelová permeační chromatografie

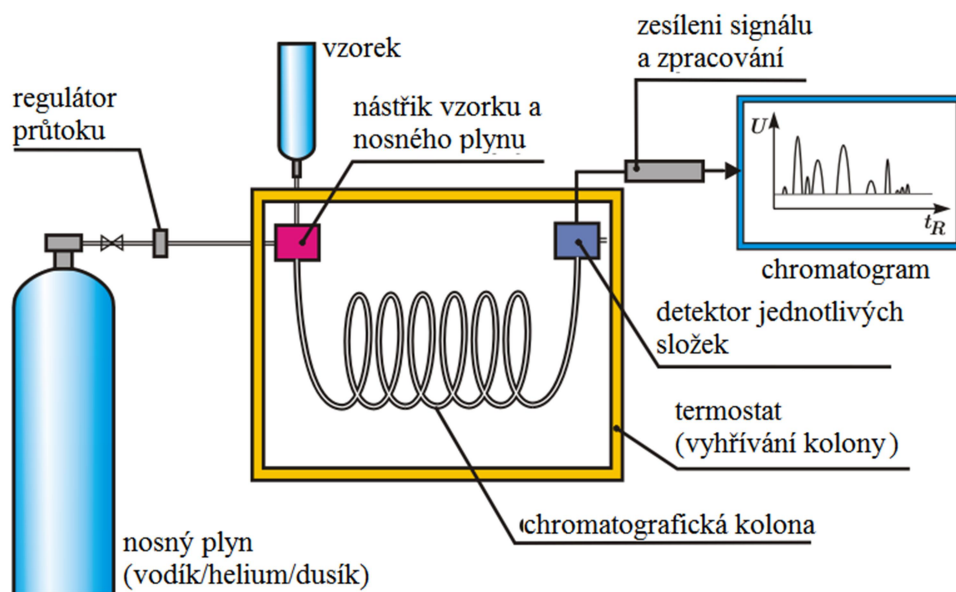
Gelová permeační chromatografie je zvláštní druh kolonové kapalinové chromatografie, která se využívá ke stanovení molárních hmotností, distribuce molárních hmotností a k analýze směsí oligomerních sloučenin u syntetických polymerů i biopolymerů. Separace je závislá pouze na velikosti molekul analyzovaných látek a téměř vůbec nezávisí na jejich chemické povaze. Pomocí gelové chromatografie lze separovat jakékoliv molekuly, které se liší svými rozměry, pokud se dobře rozpouští v některém rozpouštědle [37].

Chromatografická kolona pro gelovou permeační chromatografii je naplněná malými částicemi gelu, který obsahuje póry různých rozměrů. Prostory mezi zrny gelové náplně i póry jsou vyplněny rozpouštědlem (mobilní fází). Zředěný roztok vzorku se nanese na vstup

do kolony a postupně se mobilní fází vymývá. Koncentrace vzorku v eluátu na výstupu z kolony se sleduje vhodným detektorem. Nejmenší molekuly mohou difundovat až do vnitřního prostoru gelu, a jsou tudíž nejdéle zadržovány v koloně, zatímco středně velké molekuly se dostanou pouze do větších pórů gelu a nemohou difundovat až do jeho nitra. Molekuly, které mají rozměry větší, než jsou rozměry pórů, jsou z gelové náplně vyloučeny (exkludovány), mohou se nacházet pouze v prostoru mezi zrny a procházejí kolonou bez zadržení. Jelikož mobilní fáze volně proudí pouze v prostoru mezi zrny, je pořadí eluce při gelové chromatografii takové, že největší molekuly opouštějí kolonu nejdříve a teprve potom odcházejí z kolony molekuly s menší molární hmotností. Nejmenší molekuly tedy musí vykonat mnohem delší cestu při průchodu kolonou [37].

2.4.3.3 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie je vhodná pro analýzu látek, jež je možno převést do plynného stavu. Používá se pro separaci, identifikaci a stanovení složitějších směsí plynů a těkavých a polotěkavých látek. Podle mechanismu rozdělujeme plynovou chromatografii na adsorpční (plyn-pevná stacionární fáze), rozdělovací, využívající jako stacionární fázi film netěkavé kapaliny nanesené na povrchu tuhého inertního nosiče, a na separaci na molekulových sítích. Jednotlivé složky vzorku jsou separovány na základě rozdílných interakcí se stacionární fází a jsou postupně vymývány inertním nosným plynem, který slouží pouze k transportu složek a neinteraguje se separovanými složkami a stacionární fází. Složitější směsi jsou většinou analyzovány za podmínek teplotního gradientu, umožňujícího dosáhnout úplné separace v kratším čase. Schéma přístroje viz Obr. 13 [32].



Obr. 13: Schéma přístroje plynového chromatografu

Dávkování vzorku se provádí pomocí mikrodávkočů. Dávkování s děličem toku (děličové, split injection) se používá v případě vzorků obsahujících vyšší koncentrace analyzovaných komponent. Vzorek se po mžikovém odpaření a smíchání s nosným plynem rozdělí na dvě části, přičemž na kapilární kolonu vstupuje obvykle 0,1–10 % objemu a zbytek putuje mimo chromatografický systém. Dávkování bez děliče toku (bezděličové, splitless injection) se používá při analýze málo koncentrovaných vzorků. On-column dávkování je

dávkování přímo do kolony a používá se při analýzách vzorků, jejichž složky se těsně nad bodem varu rozkládají [30][32].

V plynové chromatografii se používají náplňové nebo kapilární separační kolony. Kolony náplňové jsou tvořeny do spirály stočenou kovovou nebo skleněnou trubicí o vnitřním průměru nejčastěji 2–4 mm a délce většinou 2–6 m. Kolony se plní adsorbenty na bázi silikagelu, aktivního uhlí, molekulovými sítí nebo syntetickými polymery. Kapilární kolony jsou nejčastěji vyrobeny z křemenné kapiláry o průměru 50–530 μm a jsou potaženy vrstvou polyimidu pro zvýšení mechanické odolnosti. Stacionární fáze je nanášena na vnitřní stěně kolony. Délka kapilárních kolon se nejčastěji pohybuje v rozmezí 15–100 m [30][31][32].

Detektory v plynové chromatografii kontinuálně sledují složení eluátu. Teplotně vodivostní detektor (katarometr, TCD) je nedestrukční univerzální detektor. Je tvořen žhaveným kovovým vláknem stočeným do spirálky, jehož elektrický odpor, závisí na jeho teplotě a ta je závislá na tepelné vodivosti okolí. Přítomností separovaných složek dojde ke změně tepelné vodivosti, což vyvolá změnu teploty vlákna a jeho elektrického odporu, přičemž tato změna je úměrná tepelné vodivosti separované látky a její koncentraci. V současnosti nejpoužívanější je plamenový ionizační detektor (FID). Analyt je unášen nosným plynem a je spalován ve vodíko-vzduchovém plamenu, který hoří mezi dvěma elektrodami. Molekuly organických sloučenin poskytují radikály, které přechází na ionty, jež zvyšují vodivost plamene a detektorem prochází proud úměrný koncentraci sloučeniny. Další používaný je detektor elektronového záchytu (ECD), kdy v měrné cele je umístěna fólie s β -zářičem (^{63}Ni) emitujícím rychlé elektrony. Pokud se dostane do detekční cely separovaná látka s elektronegativními vlastnostmi, dojde k záchytu elektronů a tedy i k poklesu hodnoty procházejícího proudu [32].

2.4.3.4 Hmotnostní spektrometrie

Metoda je založená na principu, kdy jsou molekuly látky ionizovány a jako výstup získáme soubor fragmentů lišících se poměrem hmotnost/náboj (m/z). Druhy vzniklých fragmentů a jejich zastoupení v souboru jsou pro danou látku charakteristické a umožňují její identifikaci. Základními součástmi každého hmotnostního spektrometru jsou iontový zdroj, hmotnostní analyzátor (separátor) a detektor [32].

Neutrální částici lze vhodnými způsoby dodat dostatečné množství energie, aby došlo ke vzniku iontů. Nejobvyklejším postupem je ionizace svazkem urychlených elektronů, tzv. elektronová ionizace (EI). Proces probíhá ve vakuu a elektrony emitované žhaveným kovovým vláknem jsou urychleny elektrostatickým polem a při jejich interakci s cílovou molekulou dochází k vyrazení elektronu za vzniku radikálkaliontů. Při interakci dochází k přenosu větší energie a ta následně způsobuje fragmentaci molekulového iontu. Tento proces je reprodukovatelný, a proto se mohou vytvářet databáze spekter. Desorpce a ionizace laserem za přítomnosti matrice (MALDI), probíhá tak, že na terčík se nanese směs vzorku a matrice (matrice je nízkomolekulární a je jí hodně a vzorek naopak) a pomocí krátkého pulsu UV laseru se část vzorku a matrice odpaří. Část fotonů je absorbována maticí, což vede k její excitaci, a excitovaná matrice ionizuje vzorek [32].

Hmotnostní analyzátoři separují ionty podle poměru hmotnosti a náboje, kdy měříme odchýlení trajektorie v magnetickém a elektrickém poli, oscilaci v elektrickém poli, dobu letu a absorpci energie při kruhovém pohybu. U kvadrupolového analyzátoru působí na nabitou částici síla, úměrná její výchylce od neutrální polohy. Kvadrupol je složený ze čtyř tyčí, do kterých je úhlopříčně vložen stejný potenciál složený ze stejnosměrné a střídavé složky. Ionty vykonávají složité kmity a filtrem projdou pouze ty, které se pohybují po stabilní dráze, ostatní se vybíjí dotykem s některou tyčí. Dalším typem analyzátoru je sférická iontová past

(3D-IT). Skládá se ze tří elektrod, jedné prstencové a dvou krycích. Na prstencovou elektrodu se vkládá střídavé napětí a ionty se díky tomu pohybují v trajektorii do tvaru osmičky. Zvyšování napětí způsobuje dřívější vylétnutí malých a poté větších iontů. Průletový analyzátor (TOF) funguje na principu, kdy jsou vznikající ionty urychleny elektrickým polem, přičemž je jim udělena stejná kinetická energie, a postupují oblastí bez pole. Jejich rychlost je závislá na urychlovacím napětí, jejich hmotnosti a náboji, takže dopadají na detektor v různém čase [32].

Ionty procházející zařízením se během letu nesmí s ničím srazit, a proto se používá vakuových systémů. Typy detektorů závisí na celkové konstrukci zařízení. Dnes se nejčastěji používají elektronové násobiče s kontinuální dynodou [32].

2.4.4 Spektrální metody

Spektrální metody patří mezi metody optické a jsou založené na výměně energie mezi látkou a zářením. Spektrum je závislost intenzity záření vysílaného nebo prošlého vzorkem na vlnové délce. Spektrální metody dělíme na:

- a) Metody emisní jsou založeny na měření záření vysílaného (emitovaného) vzorkem. Emise se vyvolá dodáním energie vzorku v podobě tepla, elektrické energie, proudu elementárních částic nebo jiného elektromagnetického záření. Přijetím této energie se atomy nebo molekuly dostávají do méně stabilních (excitovaných) energetických stavů a přebytečné energie se zbavují ve formě elektromagnetického záření – vyzářením fotonu [42].
- b) Metody absorpční sledují pohlcování (absorpci) záření vzorkem. Využíváme při nich vlnové délky z různých oblastí spektra elektromagnetického záření. Podle použitého záření a charakteru vzorku se dělí na mnoho metod (ultrafialová a viditelná spektrometrie, infračervená spektrometrie atd.) [42].

Spektrální metody se používají jak pro kvalitativní analýzu, kdy se identifikují polymerní materiály, stabilizátory, aditiva a čistotu látek, tak pro kvantitativní analýzu, kdy se určuje složení kopolymerů, monitorování degradabilních změn v polymerech, stupeň větvení a stupeň krystalinity v semikrystalických polymerech [36].

2.4.4.1 Infračervená spektrometrie (IR spektrometrie)

Infračervená spektrometrie patří do nedestruktivních analytických metod. Principem je absorpce infračerveného záření molekul látek, při níž dochází ke změnám rotačně vibračních energetických stavů v závislosti na změnách dipólového momentu molekuly. IR spektra můžeme měřit v plynném, kapalném i pevném skupenství [32].

Klasický infračervený spektrometr je dvoupaprskový hranolový nebo mřížkový přístroj s kombinovanými rovinnými i dutými zrcadly. Přístroje pracují na principu optické nuly obou svazků paprsků nebo principu přímého poměru intenzit primárního a propuštěného záření po zesílení a usměrnění elektrických signálů z detektoru [32].

Moderní variantou je infračervená spektrometrie s použitím Fourierovy transformace (FT-IR), kdy na rozdíl od disperzního prvku je Michelsonův interferometr, v němž ze dvou interferujících paprsků vzniká v časovém sledu interferogram všech vlnových délek IR záření. Interferogram se matematicky převede na spektrum pomocí Fourierovy transformace. Michelsonův interferometr je soustava dvou zrcadel, z nichž jedno se pohybuje konstantní rychlostí, a jednoho šikmého polopropustného zrcadla rovinného (plotýnka). Polychromatické IR záření dopadá na polopropustné rovinné zrcadlo a rozdělí se na dva paprsky, po odrazu na zrcadlech se opět setkávají na plotýnce, kde pro každou vlnovou délku interferují. Pohyblivé

zrcadlo způsobuje kosinovou modulaci výsledného záření s frekvencí, která závisí na vlnové délce a rychlosti pohybujícího se zrcadla [32].

2.4.4.2 Ramanova spektrometrie

Vedle převážně elastických kolizí fotonů s molekulami se objevují neelastické kolize. Sekundární záření vykazuje vedle stejné vlnové délky s primárním zářením také záření o větší a menší vlnové délce jako důsledek výměny energie s molekulou. Změny se iniciují zářením nejčastěji z viditelné oblasti a odpovídají fundamentálním vibracím. Při interakci záření s molekulou se mění polarizovatelnost molekuly v průběhu vibrace atomů a vzniká indukovaný dipólový moment [30][32].

Ramanovo spektrum se objevuje u symetrických nepolárních molekul bez permanentního dipólového momentu, případně u antisymetrických vibrací atomů v molekule. Látky s výrazným IR spektrem dávají jen nevýrazné Ramanovo. Ramanovo spektrum získáme při ozařování roztoku vzorku intenzivním čárovým zdrojem (UV-VIS laser) [30][32].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Cílem experimentální části bylo analyzovat přidělené vzorky ethyllaktátů, laktidů a polylaktidu.

3.1 Použité chemikálie

○ Ethanol	≥99,9%	Merck KGaA, Německo
○ Methanol	≥99,9%	Sigma-Aldrich, Německo
○ Ethyllaktát	≥98%	Sigma-Aldrich, Německo
○ Ethyllaktát		příprava v laboratoři
○ Laktid (standart)	≥99,9% (97% L-izomeru)	
○ D,L-laktid		příprava v laboratoři
○ L,L-laktid		příprava v laboratoři
○ polylaktid (PLA)		příprava v laboratoři

3.2 Příprava vzorku

Vzhledem k tomu, že jsem všechny vzorky dostala již vyrobené, spočívala příprava vzorků laktidů k samotnému měření ve smíchání s rozpouštědlem (methanol), aby výsledná koncentrace byla 1 mg/ml. Ostatní vzorky se nijak nemusely upravovat pro účely měření.

3.3 Analytické metody

Analytické metody použité ke stanovení složení vzorků, a dále pak složení a obsahu jejich nečistot:

3.3.1 Plynová chromatografie (GC)

Pro stanovení rozdílu složení a množství nečistot sériově vyráběného a laboratorně připraveného ethyllaktátu byla využita plynová chromatografie. Dále se pomocí této metody stanovovalo složení laktidů. K analýze vzorků byl použit plynový chromatograf Hewlett-Packard 5890 Series II s plamenovým ionizačním detektorem (FID) a manuálním dávkováním. Nastavení chromatografu bylo následující:

- Kolona: polární, Zebron ZB-624, délka 60 m, vnitřní průměr 0,32 mm, tloušťka vrstvy stacionární fáze 1,80 μm , materiál stacionární fáze 94% dimethylpolysiloxan a 6% kyanopropylfenyl, teplotní limity -20 až 260 $^{\circ}\text{C}$
- Množství nastříknutého vzorku: 1 μl
- Teplota kolony: 40 $^{\circ}\text{C}$ (izoterma 1 min), poté nárůst teploty 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ do 250 $^{\circ}\text{C}$, finální izoterma 3 min
- Teplota injektoru: 200 $^{\circ}\text{C}$
- Detektor: plamenově ionizační (FID)
- Teplota detektoru: 260 $^{\circ}\text{C}$
- Nosný plyn: vodík (H_2) vstupní tlak 100 kPa (konstantní tlak), nástřík děličový, dělicí poměr 1:50
- Průtoky plynů do detektoru:
 - Vodík: 35 ml/min
 - Make-up (dusík): 25 ml/min
 - Vzduch: 300 ml/min



Obr. 14: Přístroj Hewlett Packard 5890 series II

3.3.2 Head-Space GC/MS

Vzorek PLA byl analyzován pomocí Head-Space GC/MS analýzy, kdy se vzorkuje rovnovážná plynná fáze nad pevným vzorkem. Poté se vzorek analyzoval pomocí plynové chromatografie ve spojení s hmotnostním spektrometrem na přístroji ISQ™ Series Single Quadropole GC-MS Systems. Využitím této analýzy získáme jak podrobné složení analyzované látky, tak množství jednotlivých složek. Podmínky analýzy byly následující:

Hmotnost vzorku: 1,5 g

Head-Space

- Čas inkubace: 30 min
- Teplota inkubace: 150 °C

Plynový chromatograf:

- Kolona: polární, TG WaxMS, délka 30 m, vnitřní průměr 0,25 mm, tloušťka stacionární fáze 0,25 μm , materiál stacionární fáze 100% polyethylenglykol (PEG), teplotní limit 250 °C
- Množství nastříknutého vzorku: 1 ml
- Teplota kolony: 40 °C (izoterma 1 min), poté nárůst teploty 15 °C/min do 220 °C
- Teplota injektoru: 240 °C
- Nosný plyn: Helium (He) s průtokem 1 ml/min

Hmotnostní spektrometr:

- Způsob ionizace: elektronová ionizace (EI), energie ionizace 70 eV
- Detektor: kvadrupol
- Rozsah sledovaných molekulových hmotností: 25–300
- Skenovací rychlost: 5 spekter/s
- Teplota iontového zdroje: 200 °C



Obr. 15: Příklad ISQ™ Series Single Quadrupole GC-MS Systems

3.3.3 GC/MS

Vzorky laktidů byly stanovovány pomocí přístroje LECO Pegasus® BT. Vzorky se analyzovaly pomocí plynového chromatografu (GC) ve spojení s hmotnostním spektrometrem, který využíval průletový analyzátor (TOF). Z důvodu velké pík rozpouštědla, bylo zaznamenávání výsledků měření zahájeno až od 3 minuty. Využitím této analýzy získáme jak podrobné složení analyzované látky, tak množství jednotlivých složek. Podmínky analýzy byly následující:

Plynový chromatograf:

- Kolona: nepolární, RESTEK Rxi-5ms, délka 30 m, vnitřní průměr 0,25 mm, tloušťka stacionární fáze 0,25 μm , materiál stacionární fáze 95% dimethylpolysiloxan a 5% difenyl, teplotní limit 330 $^{\circ}\text{C}$
- Množství nastříknutého vzorku: 1 μl
- Teplota kolony: 80 $^{\circ}\text{C}$ (izoterma 1 min), poté nárůst teploty 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ do 280 $^{\circ}\text{C}$
- Injektor: 260 $^{\circ}\text{C}$
- Nosný plyn: Helium (He 6.0 SIAD) s průtokem 1 ml/min

Hmotnostní spektrometr:

- Způsob ionizace: elektronová ionizace (EI), energie ionizace 70 eV
- Detektor: průletový analyzátor (TOF)
- Rozsah sledovaných molekulových hmotností: 35–550
- Skenovací rychlost: 10 spekter/s
- Teplota iontového zdroje: 250 $^{\circ}\text{C}$

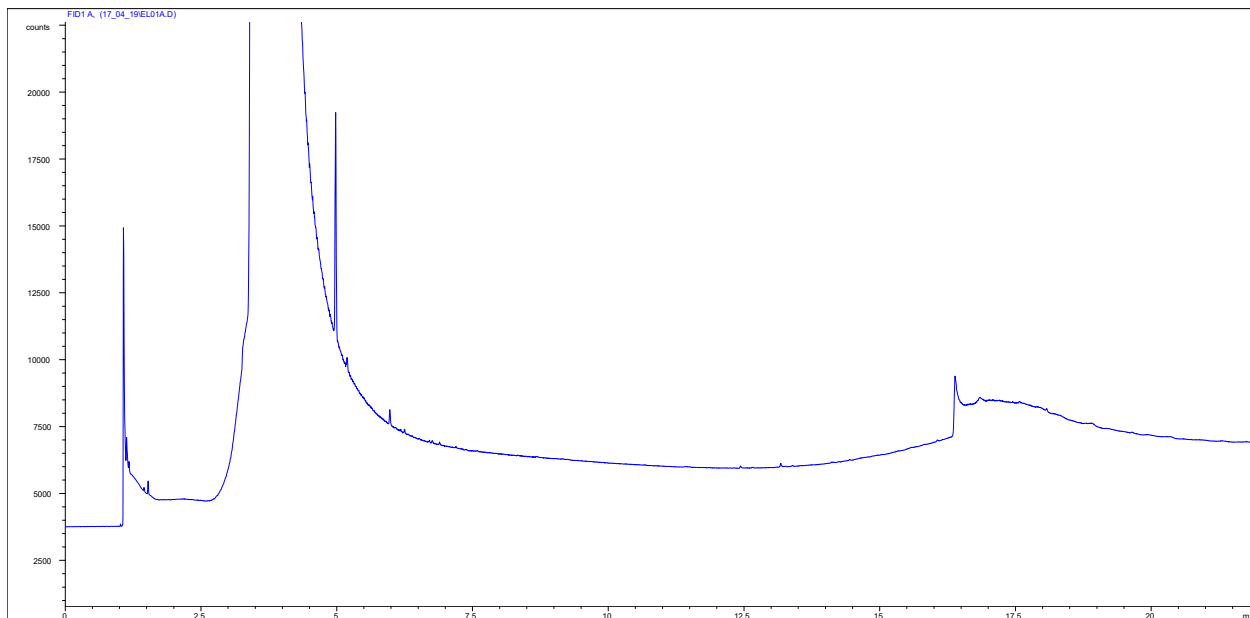


Obr. 16: Přístroj přístroje LECO Pegasus® BT

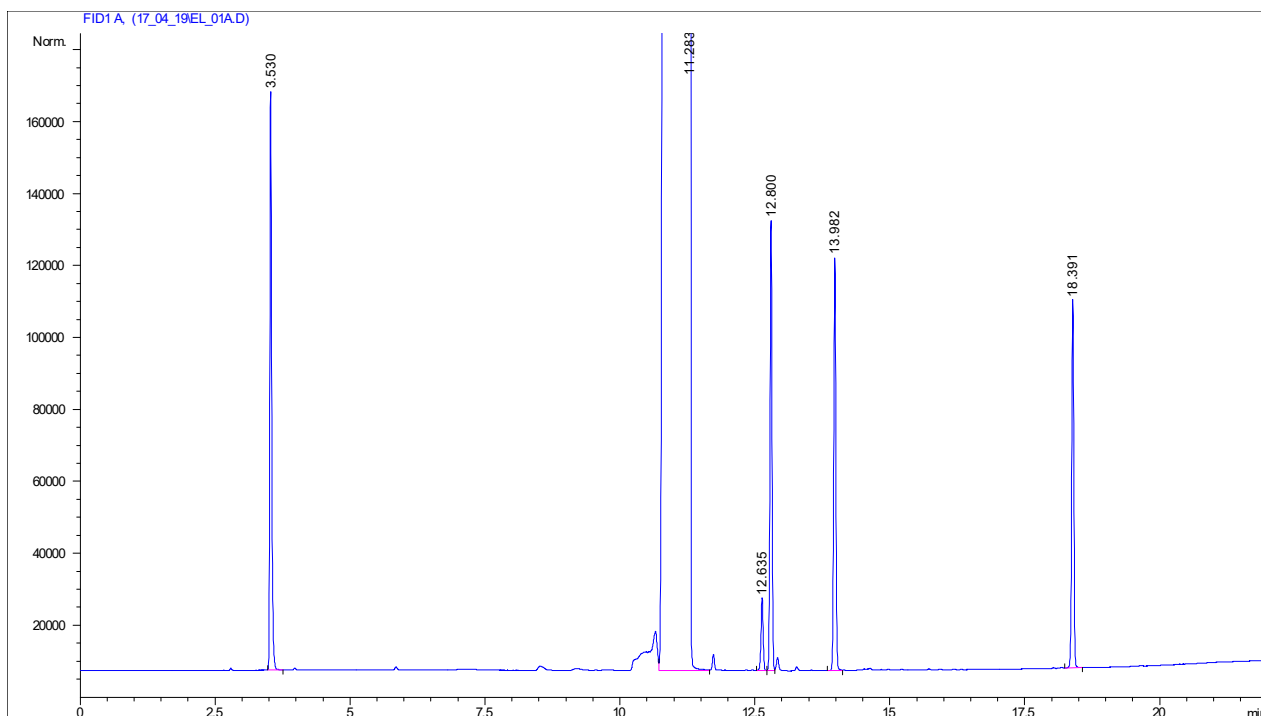
4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Stanovení nečistot ethyllaktátu

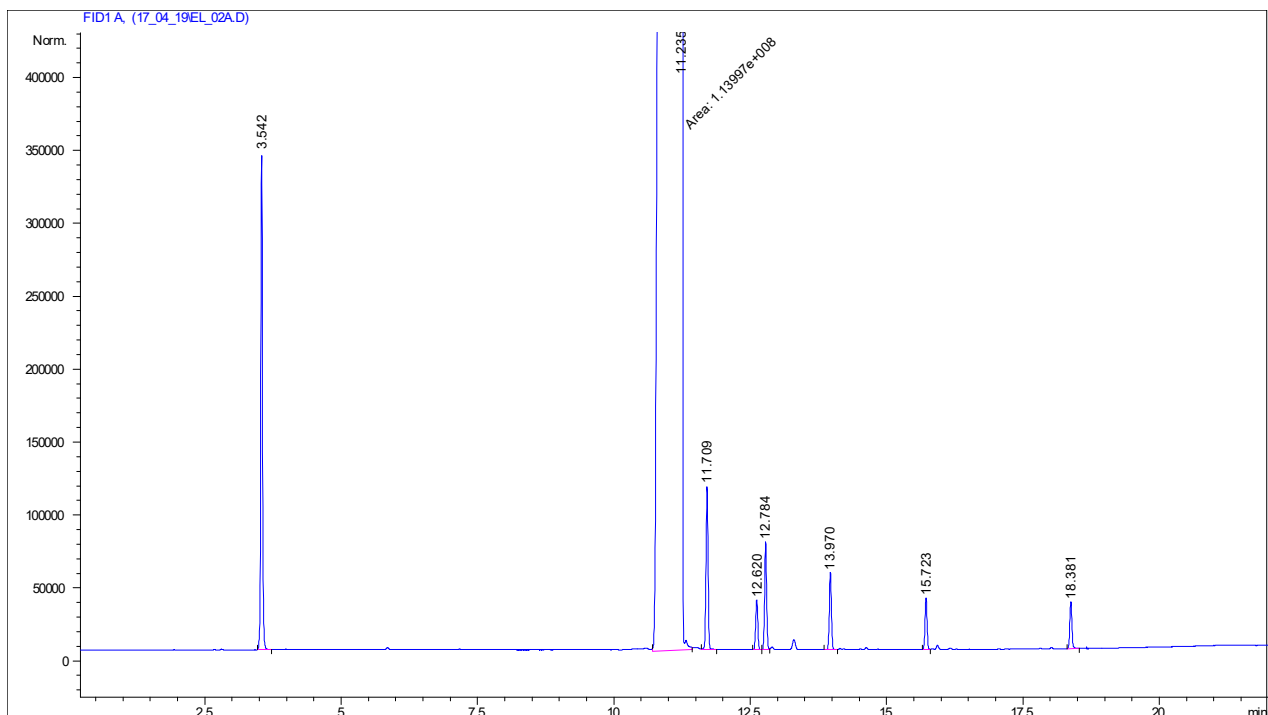
Cílem bylo stanovit rozdíl v množství nečistot u průmyslově vyráběného a laboratorně připraveného ethyllaktátu a určení jejich přibližné čistoty. Identifikace vzorků probíhala pomocí plynové chromatografie na polární a nepolární koloně. Jako vhodnější se ukázala polární kolona, která lépe rozdělila stanovované látky, protože ethyllaktát je polární látka.



Obr. 17: Ukázka chromatogramu vzorku ethyllaktátu od firmy Sigma-Aldrich separovaného pomocí plynové chromatografie (GC) na nepolární koloně DB-5ms



Obr. 18: Ukázka chromatogramu průmyslově vyráběného ethyllaktátu od firmy Sigma-Aldrich měřeného pomocí plynové chromatografie (GC) na polární koloně ZB-624



Obr. 19: Ukázka chromatogramu laboratorně připraveného ethyllaktátu měřeného pomocí plynové chromatografie (GC) na polární koloně ZB-624

V tabulce 4 (viz níže) bylo určováno množství nečistot průmyslově vyráběného a laboratorně připraveného ethyllaktátu. Bylo porovnáváno osm hlavních píků, kdy píky v čase 11,28 min u standardu a 11,24 min u vzorku byly hlavní složka, tedy ethyllaktát. Pík v čase 3,53 min resp. 3,54 min byl u vzorku přibližně 2 krát větší než u standardu, podobně tomu bylo i u píku v čase 12,64 min resp. 12,62 min, kdy byla plocha píku vzorku přibližně 1,7 krát větší než u standardu. V časech 11,71 min a 15,72 min se u vzorku objevily píky, které u ethyllaktátu vyráběného firmou Sigma-Aldrich nebyly patrné. Naopak menší plochy píku u vzorku než u standardu, přibližně 1,7 krát, byly zaznamenány v časech 12,79 min a 13,97 min. V čase 18,38 min byla plocha píku 3 krát menší u vzorku než u ethyllaktátu standardně vyrobeného. Celková čistota vzorku průmyslově vyráběného ethyllaktátu byla určena na 99,011 % a u laboratorně připraveného 98,589 %. Z toho vyplývá, že čistota standardu je o 0,422% vyšší než u dodaného vzorku.

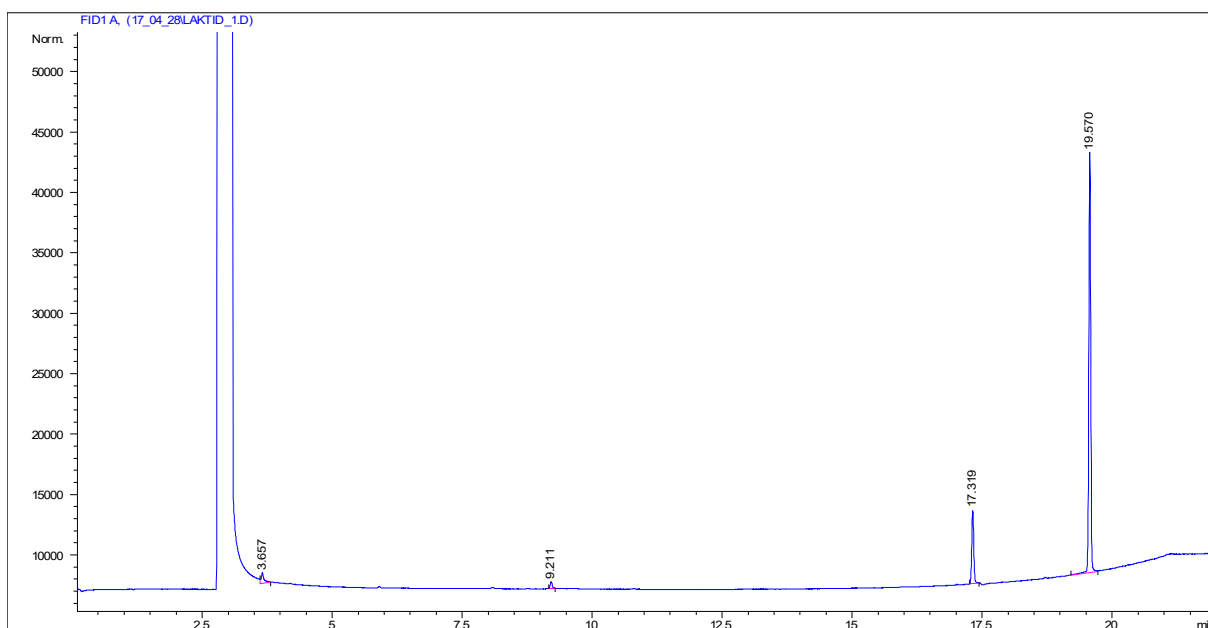
Tabulka 4: Naměřené hodnoty pro vzorky ethyllaktátu na plynovém chromatografu s plamenovou ionizační detekcí

pík č.	Standard	Vzorek	Standard	Vzorek	Standard	Vzorek	Standard	Vzorek
	retenční čas (min)		plocha píku		plocha píku (%)		výška píku	
1	3,53	3,54	374981	732863	0,277	0,634	160696	341191
2	11,28	11,24	134130840	113996584	99,011	98,589	8389149	7677431
3	x	11,71	0	291860	0	0,252	0	111853
4	12,64	12,62	55444	92362	0,041	0,08	20239	34229
5	12,8	12,79	320674	190817	0,237	0,165	125136	73792
6	13,98	13,97	310699	143336	0,229	0,124	115088	52910
7	x	15,72	0	92311	0	0,08	0	35329
8	18,39	18,38	277458	87524	0,205	0,076	102383	32183

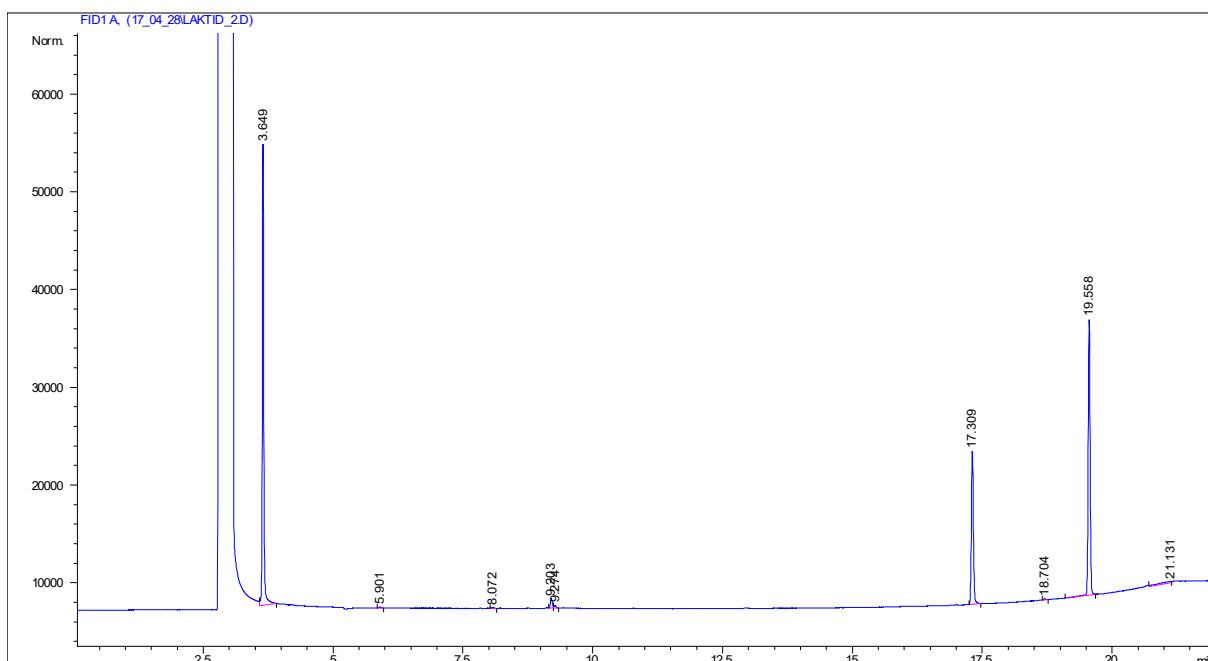
Pomocí GC/MS analýzy na nepolární koloně mohly být nečistoty identifikovány, bohužel kvůli velkému rozmytí hlavního píku ethyllaktátu a nedostatečné separaci nebylo toto možné.

4.2 Stanovení složení různých typů laktidů

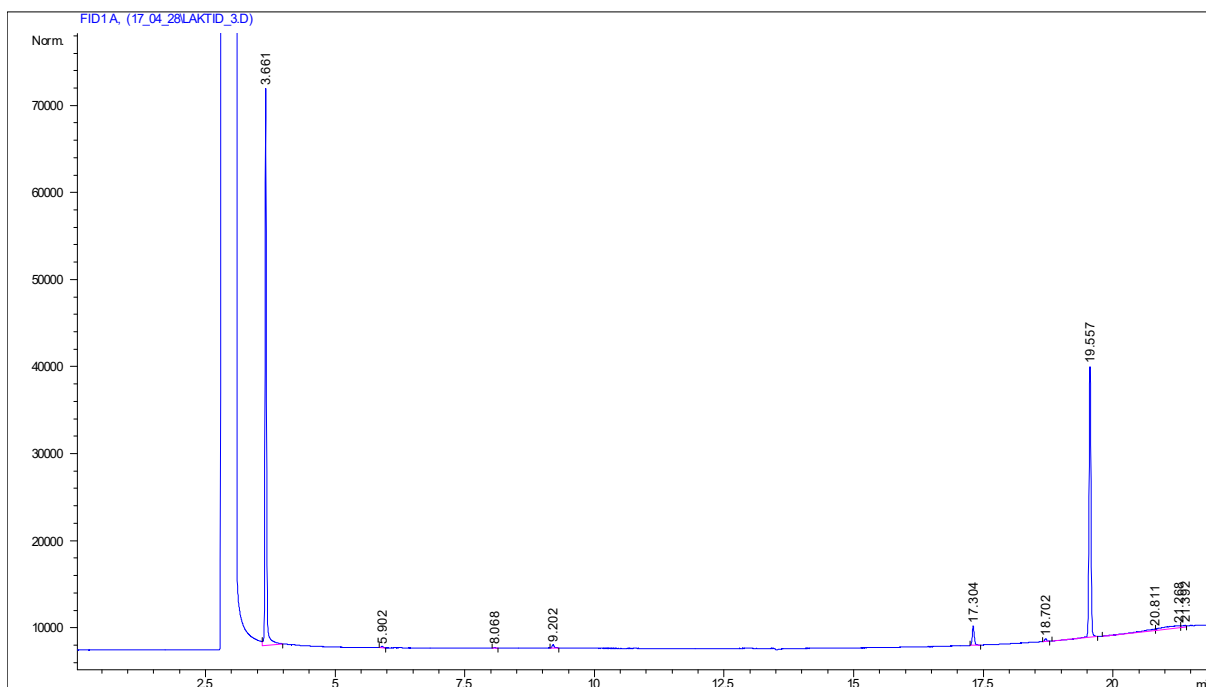
U přidělených vzorků laktidů bylo úkolem stanovit obsah D a L izomerů. K tomuto účelu byla využita plynová chromatografie pro předběžné výsledky, kdy probíhalo měření na polární koloně. A dále bylo využito GC/MS analýzy a nepolární kolony, pro určení přesného složení vzorků laktidů.



Obr. 20: Ukázka chromatogramu standardu laktidu s čistotou 99,9% a 97% L-izomeru, analyzovaného pomocí plynové chromatografie (GC) na polární koloně ZB-624



Obr. 21: Ukázka chromatogramu vzorku L,L-laktidu, analyzovaného pomocí plynové chromatografie (GC) na polární koloně ZB-624

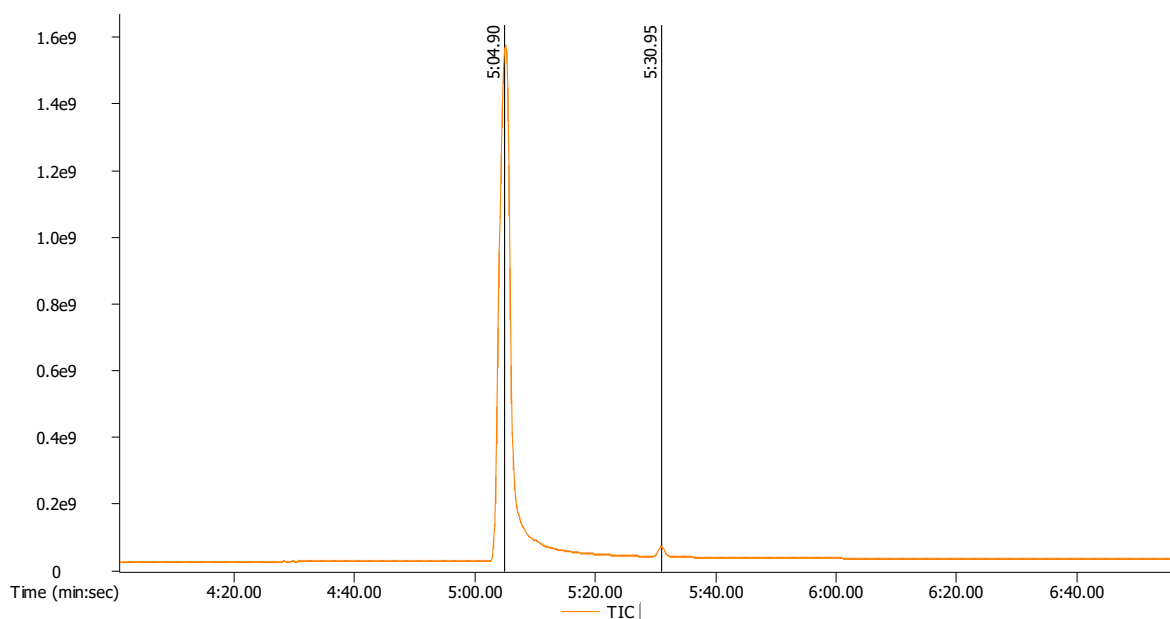


Obr. 22: Ukázka chromatogramu vzorku D,L–laktidu, analyzovaného pomocí plynové chromatografie (GC) na polární koloně ZB-624

Po srovnání chromatogramů všech měřených vzorků laktidů, lze usuzovat, že oproti standardu se ve vzorcích D,L-laktidu a L,L-laktidu vyskytuje více nečistot. V tabulce 5 (viz níže) pak vidíme rozdíl v množství píků a také srovnání velikostí píků (modře označené jsou píky větší než u standardu), které jsou způsobeny jak odlišným složením izomerů, tak i nečistot.

Tabulka 5: Naměřené hodnoty pro vzorky laktidů na plynovém chromatografu s plamenovou ionizační detekcí (GC-FID)

pík č.	Standard	L,L-laktid	D,L-laktid	Standard	L,L-laktid	D,L-laktid	Standard	L,L-laktid	D,L-laktid
	retenční čas (min)			plocha píku			plocha píku (%)		
1	3,657	3,649	3,661	3647,9	94569,5	126731	3,325	43,858	56,018
2	x	5,901	5,902	0	336	457,4	0	0,156	0,202
3	x	8,072	8,068	0	292,8	166,7	0	0,136	0,074
4	9,211	9,203	9,202	1628,9	2682,8	1196,6	1,485	1,244	0,529
5	x	9,274	x	0	745,1	0	0	0,346	0
6	17,319	17,309	17,304	16188,9	42441,9	5973,9	14,756	19,683	2,641
7	x	18,704	18,702	0	318,1	884,1	0	0,148	0,391
8	19,57	19,558	19,557	88248,4	71189,3	79958,7	80,435	33,015	35,343
9	x	x	20,811	0	0	2690,2	0	0	1,189
10	x	21,131	x	0	3048,8	0	0	1,414	0
11	x	x	21,268	0	0	6947,7	0	0	3,071
12	x	x	21,392	0	0	1227,8	0	0	0,543



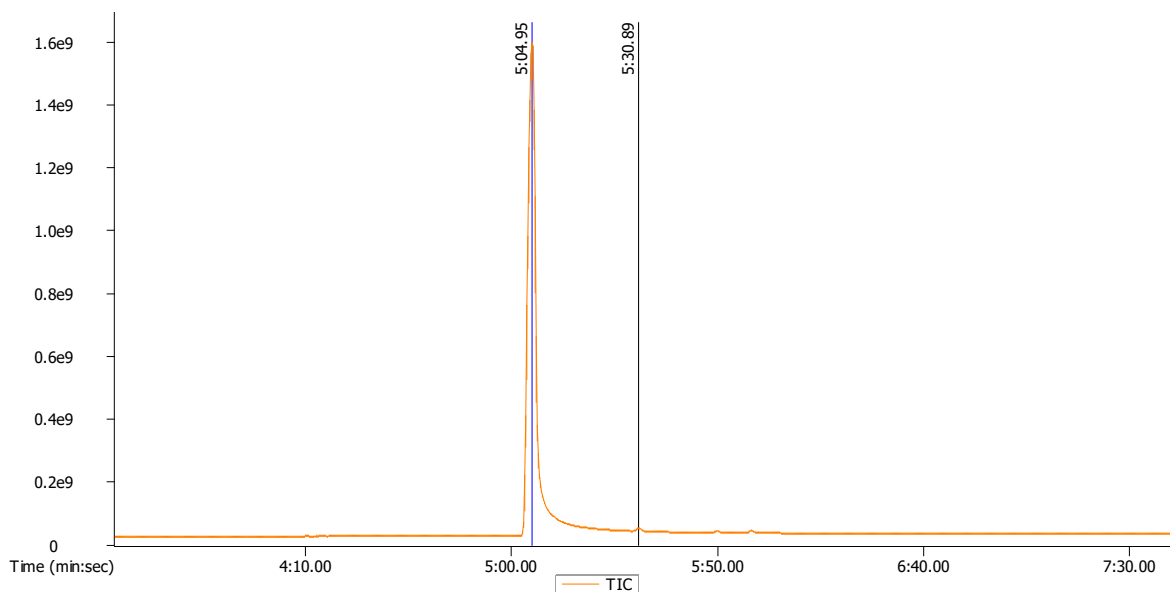
Obr. 23: Chromatogram standardu laktidu s čistotou 99,9% a 97% L-izomeru, analyzovaného pomocí plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (GC/MS) na nepolární koloně RESTEK Rxi-5ms

Tabulka 6: Hodnoty získané z GC/MS analýzy pro vzorek standardu laktidu s čistotou 99,9% a 97% L-izomeru

pík č.	název látky	retenční čas (min)	plocha píku	výška píku
1	Isobutylhydrazin	5:04.90	5931553463	200011555
2	L-laktid	5:30.95	115006763	9116628

Při vyhodnocování výsledků vzorku standardu laktidu s čistotou 99,9% a 97% L-izomeru získaných pomocí GC/MS analýzy bylo zjištěno, že se ve vzorku vyskytují dva hlavní píky (viz Tabulka 6 výše). Pík v čase 5:04.90 min byl určen s nejvyšší shodou hmotnostních spekter jako isobutylhydrazin, druhou nejlepší pak shodu vyhodnotil program jako ethyl methoxyacetát, který více odpovídá podstatě vzorku. Z důvodu přečišťování surového laktidu pomocí ethylacetátu a toluenu krystalizací z rozpouštědla, je pravděpodobnější výskyt druhé vyhodnocené sloučeniny. Druhý zaznamenaný pík v čase 5:30.95 byl vyhodnocen jako L-laktid, kterého by směs měla obsahovat 97%. Toto procentuální rozložení není z chromatogramu získaného GC/MS analýzou na nepolární koloně patrné, což může být způsobeno nevhodným typem kolony.

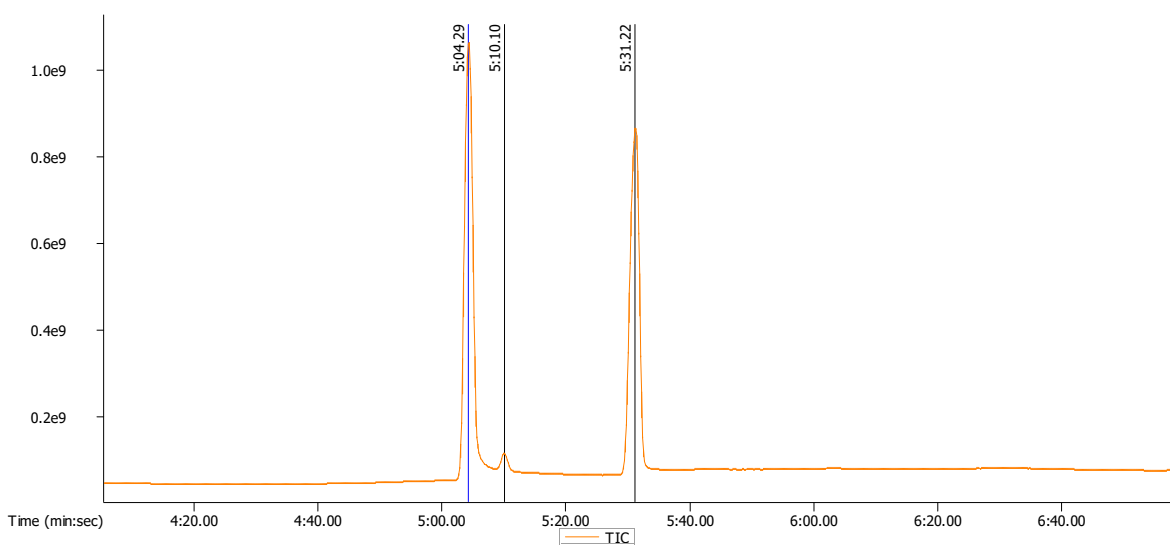
Stejným způsobem byl určován i vzorek L,L-laktidu (viz Tabulka 7 níže), kdy byly vyhodnoceny taktéž dva hlavní píky. První pík byl zaznamenan v čase 5:04.95 min a byl vyhodnocen jako isobutylhydrazin. Kyselina L-mléčná byla vyhodnocena jako další možná látka a přítomnost této sloučeniny by se dala vysvětlit jako nezreagovaný zbytek. V čase 5:30.89 min byl zaznamenan druhý pík a byl identifikován jako L-laktid. Kdybychom vycházeli z předpokladu, že obsah L-laktidu ve vzorku standardu je 97%, tak přepočtem pomocí ploch píků určíme, že obsah L-laktidu v tomto vzorku je 35,27%.



Obr. 24: Chromatogram L,L-laktidu, měřeného pomocí plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (GC/MS) na nepolární koloně RESTEK Rxi-5ms

Tabulka 7: Hodnoty získané z GC/MS analýzy pro vzorek L,L-laktidu

pík č.	název látky	retenční čas (min)	plocha píku	výška píku
1	Isobutylhydrazin	5:04.95	6027269862	195428206
2	L-laktid	5:30.89	41422093	3215416



Obr. 25: Chromatogram D,L-laktidu, měřeného pomocí plynové chromatografie a hmotnostního spektrometru (GC/MS) na nepolární koloně RESTEK Rxi-5ms

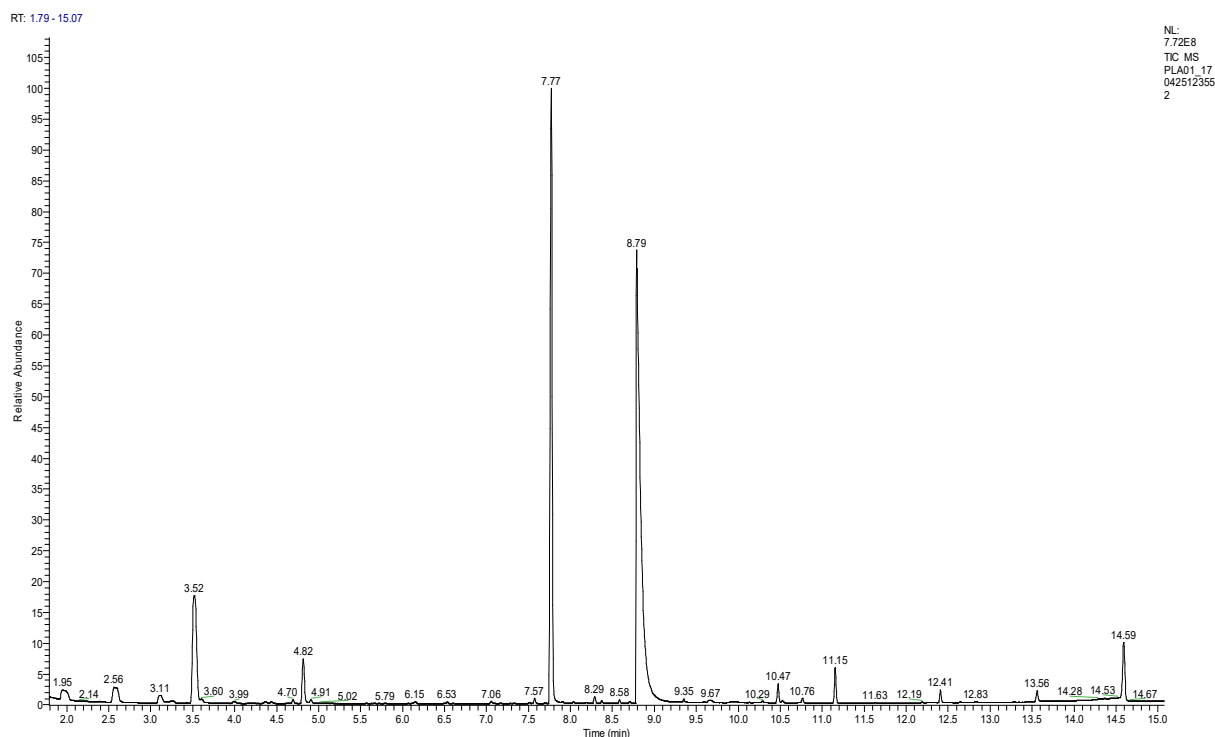
Tabulka 8: Hodnoty získané z GC/MS analýzy pro vzorek D,L-laktidu

pík č.	název látky	retenční čas (min)	plocha píku	výška píku
1	Isobutylhydrazin	5:04.29	167760738	167760738
2	D-laktid	5:10.10	12849230	12849230
3	L-laktid	5:31.22	185319902	185319902

Poslední vzorek D,L-laktidu nám poskytl tři hlavní píky (viz Tabulka 8 výše), kdy první pík v čase 5:04.29 min byl určen jako isobutylhydrazin. Další možnosti byly 3-hydroxybutanon nebo 1-methoxy-2-methyl-propan, které lépe odpovídají a mohly vzniknout přečišťováním a reakcemi mezi nezreagovanými zbytky a rozpouštědly. Druhý pík pak v čase 5:10.10 min odpovídá D-laktidu a třetí pík v čase 5:31.22 min odpovídá L-laktidu. Bohužel procentuální složení nelze srovnat se standardem kvůli mnohonásobně většímu píku L-laktidu. Můžeme tedy porovnat pouze poměry obou izomerů, které jsou 6,49% D-laktidu ku 93,41% L-laktidu.

4.3 Stanovení nečistot ve vzorku PLA

Vzorek polylaktidu byl stanovován pomocí Head-Space GC/MS analýzy, kdy měl být určen hlavně obsah laktidu a ethyllaktátu, ale také dalších nečistot. Při Head-Space analýze se vzorkuje rovnovážná plynná fáze nad povrchem pevného PLA po 30 minutách zahřívání na 150 °C.



Obr. 26: Chromatogram PLA, analyzovaného pomocí Head-Space GC/MS analýzy na polární koloně TG WaxMS

Tabulka 9: Retenční časy a názvy sloučenin pro vzorek PLA

pík č.	retenční čas (min)	název sloučeniny	pík č.	retenční čas (min)	název sloučeniny
1	1,92	acetaldehyd	14	7,57	(S)isopropyl laktát
2	2,56	aceton	15	7,7	2,4,5-trimethyl 1,3 dioxolan
3	3,11	ethylacetát	16	7,77	ethylaktát
4	3,52	ethanol	17	8,29	tercetylfenylether
5	3,99	2,3-butandion	18	8,37	ethyl ester kyseliny 2-hydroxybutanové
6	4,43	chloroform	19	8,58	ethyl ester kyseliny 2-hydroxy-3-methylbutanové
7	4,70	toluen	20	8,79	kyselina octová
8	4,82	2,3-pentadion	21	10,47	methylester kyseliny benzoové
9	4,91	camphen	22	10,76	camphol
10	6,15	methoxyethanol	23	12,41	kyselina mléčná
11	6,53	2-methoxy-1,3-dioxolan	24	13,56	D,L-laktid
12	7,06	ethylester kyseliny 2-oxo propanové	25	14,59	D,L-laktid
13	7,51	1-hydroxy-2-propanon			

Na chromatogramu (viz Obr. 26) můžeme sledovat složení těkavých látek ve vzorku PLA, podrobnější výpis všech identifikovaných látek uvádí Tabulka 9. Modrou barvou jsou zobrazeny látky, které jsme měli ve vzorku najít, a to je v retenčním čase 7,77 min ethylaktát, dále pak kyselina mléčná v čase 12,41 min a jako poslední se v časech 13,56 a 14,59 min objevily dva píky s D,L-laktidem. Všechny tyto látky jsou pozůstatky po reakcích, které vedly ke vzniku polylaktidu. Dále se ve sloučenině objevovaly látky, které jsou zbytky po přečištění, a to např. acetaldehyd (RT 1,92 min), aceton (RT 2,56 min), ethanol (RT 3,52 min), toluen (RT 4,70 min), a v neposlední řadě také různé estery hydroxykyselin, které vznikají jako vedlejší produkty.

5 ZÁVĚR

V teoretické části bakalářské práce byly popsány vlastnosti, možnosti výroby a použití hlavních zástupců hydroxykyselin, jejich derivátů a také polymerů. Dále jsem se zaměřila na metody analýzy těchto sloučenin, velkou část jsem věnovala separačním metodám a to hlavně plynové chromatografii a hmotnostní spektrometrii. Také jsem se věnovala spektrálním metodám, jako infračervená a Ramanova spektrometrie i jednodušším metodám, které sloužily ke stanovení molárních hmotností polymerů.

V experimentální části jsem se věnovala analýze přidělených vzorků ethyllaktátu, laktidů a polylaktidu. Ve vzorku laboratorně připraveného ethyllaktátu byl stanovován obsah nečistot v porovnání s průmyslově vyráběným ethyllaktátem od firmy Sigma-Aldrich. Analýza probíhala pomocí plynové chromatografie na polární koloně. Bylo zjištěno, že se u laboratorně připraveného ethyllaktátu objevily některé nečistoty, které u standardu nebyly patrné a celková čistota pak byla po srovnání obsahu všech píků u standardu o 0,5% procenta vyšší. Ve vzorcích D,L-laktidu a L,L-laktidu bylo určováno složení izomerů pomocí standardu, který obsahoval 97% L-izomeru. Analýza probíhala na plynovém chromatografu a také na GC/MS analyzátoru. V L,L- laktidu bylo zjištěno 35,27% L-izomeru a v D,L-laktidu byl poměr 6,49% D-laktidu ku 93,41% L-laktidu. Ve vzorku polylaktidu bylo stanovováno pomocí Head-Space GC/MS analýzy složení nečistot. Jako pozůstatky po syntéze se ve vzorku objevil ethyllaktát, kyselina mléčná a D,L-laktid. Dále se ve sloučenině objevily látky, které byly zbytky po přečišťování (acetaldehyd, aceton, ethanol, toluen) a také různé estery hydroxykyselin.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] ŠNEJDROVÁ, E., DITTRICH, M.: Poly(α -hydroxykyseliny) jako nosiče léčiv. *Chem. Listy*, 2011, vol. 105, p. 27-33. Dostupné z: http://www.chemickelisty.cz/docs/full/2011_01_27-33.pdf
- [2] KURTZWEIL, Paula. Alpha hydroxy acids for skin care. *FDA Consumer*. 1998, **32**(2), 30-35. DOI: 227033892. ISSN 0362-1332. Dostupné také z: <https://mv.ezproxy.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/docview/227033892?accountid=17115>
- [3] MITA, Tsuyoshi, Yuki HIGUCHI a Yoshihiro SATO. Carboxylation with CO₂ via Brook Rearrangement: Preparation of α -Hydroxy Acid Derivatives. *Organic Letters*. 2014, **16**(1), 14-17. DOI: 10.1021/ol403099f. ISSN 1523-7060. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ol403099f>
- [4] RAYMOND, Kenneth. *General Organic and Biological Chemistry*. 3. Hoboken: John Wiley, 2009. ISBN 978-0-470-50476-5.
- [5] BOON, J. J., J. W. DE LEEUW, G. J. HOEK a J. H. VOSJAN. Significance and taxonomic value of iso and anteiso monoenoic fatty acids and branched beta-hydroxy acids in *Desulfovibrio desulfuricans*. *Journal of bacteriology*. 1977, **129**(3), 1183-1191. ISSN 0021-9193.
- [6] STEINBÜCHEL, A. a H. G. SCHLEGEL. Physiology and molecular genetics of poly(α -hydroxyalkanoic acid) synthesis in *Alcaligenes eutrophus*. *Molecular Microbiology*. 1991, **5**(3), 535-542. DOI: 10.1111/j.1365-2958.1991.tb00725.x. ISSN 0950-382x. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2958.1991.tb00725.x>
- [7] HUTMACHER, Dietmar W. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*. 2000, **21**(24), 2529-2543. DOI: 10.1016/S0142-9612(00)00121-6. ISSN 01429612. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961200001216>
- [8] Vlastní tvorba pomocí programu ChemSketch
- [9] PARK, Joon Bu. a Joseph D. BRONZINO. *Biomaterials: principles and applications*. 2. Boca Raton: CRC Press, c2002. ISBN 08-493-1491-7.
- [10] MIDDLETON, John C a Arthur J TIPTON. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials*. 2000, **21**(23), 2335-2346. DOI: 10.1016/S0142-9612(00)00101-0. ISSN 01429612. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961200001010>
- [11] NARAYANAN, Niju, Pradip K. ROYCHOUDHURY a Aradhana SRIVASTAVA. L (+) lactic acid fermentation and its product polymerization. In: *Electronic Journal of Biotechnology* [online]. 2004-08-15, s. -. ISSN 0717-3458. DOI: 10.2225/vol7-issue2-fulltext-7. Dostupné z: <http://www.ejbiotechnology.info/index.php/ejbiotechnology/article/view/260>
- [12] AURAS, Rafael. *Poly(lactic acid): synthesis, structures, properties, processing, and applications/ edited by Rafael Auras .. [et al.]*. -. Hoboken, N.J.: Wiley, c2010. ISBN 978-0-470-29366-9.
- [13] SVOBODA, Jiří. *Organická chemie I*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005. ISBN 80-708-0561-7.
- [14] *PubChem* [online]. Rockville Pike: National Center for Biotechnology Information, US National Library of Medicine, 2004 [cit. 2017-03-11]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [15] ELVERS, Barbara. a Giuseppe. BELLUSSI. *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*. 7th, completely rev. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2011. ISBN 35-273-2943-9.

- [16] JIM NEZ, Alfonso, Mercedes PELTZER a Roxana RUSECKAITE. Poly(lactic acid) science and technology: processing, properties, additives and applications. xvii, 353 pages. ISBN 1849738793.
- [17] VIJAYAKUMAR, J., R. ARAVINDAN a T. VIRUTHAGIRI. Recent Trends in the Production, Purification and Application of Lactic Acid. In: Chemical and biochemical engineering quarterly. 22 (2). Zagreb: Croatian Society of Chemical Engineers, 2008, s. 245-264. ISSN 0352-9568. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/27208692_Recent_Trends_in_the_Production_Purification_and_Application_of_Lactic_Acid
- [18] AZAPAGIC, Adisa, Slobodan PERDAN a R CLIFT. Sustainable in practice: case studies for engineers and scientists [online]. Hoboken, NJ: John Wiley, s. 250-282, 2004 [cit. 2014-04-12]. ISBN 04-708-5609-2.
- [19] ED.: MATTHIAS BOHNET .. *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*. 6th ed. ; Release 2000-. New York: Wiley, 2000. ISBN 978-352-7306-732.
- [20] SCHRÖR, Karsten. *Acetylsalicylic acid*. 2nd ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2016. ISBN 978-3-527-33805-4.
- [21] MARQUES, Dina A.S., Susana JARMELO, Cristina M.S. G. BAPTISTA a M.H. GIL. Poly(lactic acid) Synthesis in Solution Polymerization. *Macromolecular Symposia*. 2010, **296**(1), 63-71. DOI: 10.1002/masy.201051010. ISSN 10221360. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/masy.201051010>
- [22] OWEN, O. E., A. P. MORGAN, H. G. KEMP, J. M. SULLIVAN, M. G. HERRERA a G. F. CAHILL. Brain Metabolism during Fasting*. *Journal of Clinical Investigation*. 1967-10-1, **46**(10), 1589-1595. DOI: 10.1172/JCI105650. ISSN 0021-9738. Dostupné také z: <http://www.jci.org/articles/view/105650>
- [23] SUTHERS, Patrick F. a Douglas C. CAMERON. *Production of 3-hydroxypropionic acid in recombinant organisms*. 2000. USA. US 6852517 B1. Uděleno 8.2.2005. Zapsáno 30.8.2000.
- [24] MASUTANI, Kazunari a Yoshiharu KIMURA. *Chapter 1. PLA Synthesis. From the Monomer to the Polymer.* , 1. DOI: 10.1039/9781782624806-00001. Dostupné také z: <http://ebook.rsc.org/?DOI=10.1039/9781782624806-00001>
- [25] YAMANE, Kazuyuki a Yukichika KAWAKAMI. *Glycolide production process, and glycolic acid oligomer for glycolide production*. 2002. US 20040122240 A1. Uděleno 24. červen 2004. Zapsáno 10. duben 2002.
- [26] DUBOIS, Philippe, Olivier COULEMBIER a Jean-Marie RAQUEZ. *Handbook of ring-opening polymerization*. -. Weinheim: Wiley-VCH, c2009. ISBN 978-3-527-31953-4.
- [27] WINDHOLZ, Martha. *The Merck index: an encyclopedia of chemicals and drugs*. 9th ed. Rahway, N.J.: Merck, 1976. ISBN 09-119-1026-3.
- [28] BIGELOW, Barbara C. a Kathleen J. EDGAR. *UXL encyclopedia of drugs*. -. Detroit: UXL, c2006. ISBN 14-144-0444-1.
- [29] RITZ, Josef, Hugo FUCHS, Heinz KIECZKA a William C. MORAN. Caprolactam. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag, 2000. DOI: 10.1002/14356007.a05_031. ISBN 3527306730. Dostupné také z: http://doi.wiley.com/10.1002/14356007.a05_031
- [30] MERMET, J.M., M OTTO a H.M. WIDMER. *Analytical chemistry: the approved text to the FECS curriculum analytical chemistry*. 1. Weinheim: Wiley-VCH, 1998. ISBN 35-272-8881-3.

- [31] OPEKAR, František. *Základní analytická chemie pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. Praha: Karolinum, 2002. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 80-246-0553-8.
- [32] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie*. Brno: VUTIUM, 2000. ISBN 80-214-1742-0.
- [33] T. R. CROMPTON. *Practical Polymer Analysis*. Boston, MA: Springer US, 1993. ISBN 978-146-1362-463.
- [34] RUDIN, Alfred. a Phillip. CHOI. *The elements of polymer science and engineering*. Third edition /. Oxford: Elsevier, 2013. ISBN 978-0-12-382178-2.
- [35] Stanovení molární hmotnosti a její distribuce metodou rozměrově-vylučovací chromatografie (SEC/GPC). *Ústav polymerů VŠCHT PRAHA* [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2014 [cit. 2017-04-16]. Dostupné z: http://pol.vscht.cz/files/uzel/0009793/SECcc_w.pdf?redirected
- [36] STUART, Barbara. *Polymer analysis*. -. New York: J. Wiley, c2002. ISBN 04-718-1363-X.
- [37] CHURÁČEK, Jaroslav. *Analytická separace látek: celostátní vysokoškolská učebnice pro vysoké školy chemickotechnologické*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1990. ISBN 80-030-0569-8.
- [38] BROWN, Wyn. *Dynamic light scattering: the method and some applications*. -. New York: Oxford University Press, 1993. ISBN 978-0-19-853942-1.
- [39] KVÍTEK, Libor, Aleš PANÁČEK. *Základy koloidní chemie*. [online] Olomouc, 2007 [cit. 2017-04-017]. Dostupné z: <http://fch.upol.cz/skripta/kol/koch.pdf>
- [40] MIROSLAW JONASZ AND GEORGES R. FOURNIER. *Light scattering by particles in water: theoretical and experimental foundations*. London: Burlington, MA, 2007. ISBN 978-012-3887-511.
- [41] Dopad elektronu na povrch. *Fyzika povrchů* [online]. Praha: -, 2002 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: http://physics.mff.cuni.cz/kfpp/skripta/Fyzika_povrchu/3_Dopad_elektronu.pdf
- [42] Optické metody. *Mendelova univerzita v Brně* [online]. Brno: Mendelova univerzita v Brně, ©2017 [cit. 2017-04-02]. Dostupné z: https://is.mendelu.cz/eknihovna/opory/zobraz_cast.pl?cast=52959
- [43] STUART, Barbara. *Polymer analysis*. -. New York: J. Wiley, c2002. ISBN 04-718-9926-7.
- [44] PEREIRA, Carla S. M., Viviana M. T. M. SILVA a Alírio E. RODRIGUES. Ethyl lactate as a solvent: Properties, applications and production processes – a review. *Green Chemistry*. 2011, **13**(10), 2658-. DOI: 10.1039/c1gc15523g. ISSN 1463-9262. Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c1gc15523g>
- [45] ĀNAL, MĀNE. ETHYL LACTATE PRODUCTION BY HYBRID PROCESSES: DETERMINATION OF PHASE DIAGRAMS AND EVALUATION OF PERFORMANCE OF ORGANOPHILIC PERVAPORATION MEMBRANES. 2003. Dostupné z: <http://etd.lib.metu.edu.tr/upload/4/1121243/index.pdf>. Master thesis. Department of Chemical Engineering, The Middle East technical University.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

AHA	alfa-hydroxy kyselina
ATP	Adenosintrifosfát
DMH	Distribuce molární hmotnosti
ECD	Detektor elektronového záchytu
EI	Elektronová ionizace
FID	Plamenový ionizační detektor
FT-IR	Infračervená spektrometrie s použitím Fourierovy transformace
GBL	γ -butyrolakton
GC	Plynová chromatografie
GC/MS	Plynová chromatografie a hmotnostní spektrometrie
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
IT	Iontová past
M_n	Střední číselný střed molekulové hmotnosti
M_v	Viskozitní střed molekulové hmotnosti
M_w	Hmotnostní střed molekulové hmotnosti
M_z	střed molekulové hmotnosti
η_0	Viskozita nulové smykové rychlosti
NADH	Protonovaný nikotinamidadenindinukleotid
PGA	Poly(glykolová kyselina)
PDLA	Poly(D- kyselina mléčná)
PDLLA	Poly(D,L- kyselina mléčná)
pK_a	Disociační konstanta
PLA	Poly(mléčná kyselina)
PLLA	Poly(L- kyselina mléčná)
RT	Retenční čas
TCD	Teplotně vodivostní detektor
T_g	Teplota skelného přechodu
THF	Tetrahydrofuran
T_m	Teplota tání
TOF	Průletový analyzátor