

# 第一篇 环境友好塑料的生产

## 第一章 聚乳酸的生产与应用

### 第一节 概述

聚乳酸的研制和开发可追溯到 20 世纪 30 年代，著名高分子化学家 Carothers 对聚乳酸的合成做过报道，但他所得到的聚合物分子量较低，化学性能差，实际用途不大。

1944 年，Filachiene 在 Hovey、Hodgins 及 Begji 研究基础之上，对当时聚乳酸的聚合方法进行了系统的探索，但得到的聚合物分子量仍较低。

1954 年，Du Pont 公司采用新型的聚合方法制备出高分子量的聚乳酸，并对聚合过程申请了专利，但由于当时人们对其性能认识尚不充分，聚乳酸未能进入实用性阶段。

1962 年，美国 Cyanamid 公司发现用聚乳酸制成的可吸收缝合线，克服了以往用多肽制备的缝合线所具有的过敏性，其降解产物乳酸、二氧化碳、水均是无害的天然小分子。

20 世纪 70 年代，聚乳酸在人体内的易分解性和分解产物的高度安全性得到确认。1987 年，Leenslag 等采用四苯基锡为催化剂，制备出高分子量的聚乳酸。在 20 世纪 70~80 年代，有关乳酸聚合物的聚合机制、结构和性质的研究有了很大进展。由于这些研究，以及乳酸发酵和提取技术的重要改进，使得目前人们可以开始进入聚乳酸生产技术和应用推广阶段。

20 世纪 90 年代以后，由于环保的呼声越来越强，人们将目光集中在聚乳酸的性能改进方面，着重进行改性研究及加工工艺的改进，这一时期的研究非常活跃，并取得了一定的成果。从 20 世纪 90 年代至今，国际市场上相继出现了 5 种牌号的聚乳酸树脂。对于其市场前景，生产商 Cargill Dow 公司的总裁认为聚乳酸树脂代替现有的降解材料已成为必然，并具有与烯烃类聚合物竞争的能力。

聚乳酸属于最容易生物降解的热塑料材料——脂肪族聚酯类化合物中的一种，是国内外近年来开发研究最活跃的降解材料之一。聚乳酸是以淀粉、糖蜜等为原料，发酵制得乳酸，再通过化学方法合成的高分子材料，是生物降解性材料中最有发展前途的品种之一。

由于乳酸存在一个羟基和一个羧基 ( $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{COOH}$ )，因此，它可以通过聚缩反应被直接转化成低分子量的聚酯。Carother 的前期研究给出了一个合成高分子量聚合物的两步法。第一步是合成环状的乳酸二聚体——丙交酯，并除去副产物水。在第二步，纯化的丙交酯单体通过开环聚合反应被转化成高分子量的聚酯。通过选择适宜的聚合条件，可以合成得到所希望分子量的聚合物。

乳酸是具有光学活性的最小的分子之一。乳酸和丙交酯不仅可以被加工成各种立体异构体，而且通过采用不同异构体得到的聚合物或其衍生物，可具有非常不同的物理和化学性质。

出于塑料废物对环境的污染，人们对可降解塑料的兴趣逐渐增强。传统的化学合成塑料

由于分子量大和疏水性，在环境中很难被降解。事实上，科学家们对传统塑料的降解、再利用、焚烧和转化也作过很多工作，但是，至今塑料废物仍然是一个主要的环境问题。

与塑料饮料瓶不同，某些经常使用的东西，如被污染的食品包装材料、尿布、医院物品，以及妇女卫生用品是不好收集和再使用的。为了满足这些方面的应用需求，乳酸类塑料正在被人们不断开发。

## 第二节 乳酸的生物合成

### 一、乳酸合成的生物化学和微生物学

#### 1. 背景

乳酸 (2-hydroxypropanoic acid) 的发酵生产是大家有所共知的。Scheele 在 1780 年从酸牛奶中分离出了乳酸菌，Pasteur 发现这些微生物是牛奶变酸的原因。从 1881 年开始，乳酸菌就被用于工业上生产奶酪、香肠、泡菜和乳酸。在 20 世纪 50~60 年代，乳酸发酵的生化知识得到很大进展。现在，我们面临的关键可能是采用基因工程技术来进行乳酸菌的进一步改造。

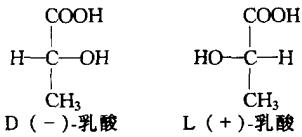


图 1-2-1 乳酸的对映异构体

#### 2. 乳酸代谢途径

乳酸有两种光学异构体，如图 1-2-1 所示。L(+) 型异构体存在于哺乳动物中，很容易被人体吸收。在细菌中，L(+) 和 D(-) 型都存在，它是发酵的终端产物，由丙酮酸还原产生，同时有  $\text{NAD}^+$  的再生。反应是由以  $\text{NAD}^+$  为辅基的乳酸脱氢酶催化进行。但是有些细菌中含有无  $\text{NAD}^+$  为辅基的乳酸脱氢酶，不会造成  $\text{NADH}_2$  的氧化。

乳酸菌的主要代谢发酵分为同型发酵 (homefermentative) 和异型发酵 (heterofermentative) 两部分，具体代谢途径如图 1-2-2 所示。

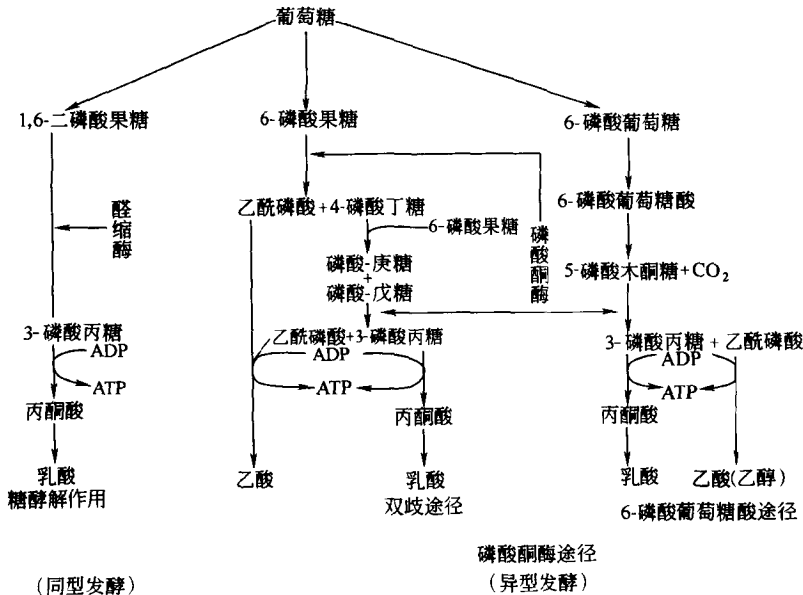


图 1-2-2 乳酸菌中己糖发酵的主要途径

同型发酵细菌通过 Embden-Meyerhof 途径分解代谢己糖，从每摩尔己糖可得到高达 1.8mol 的乳酸，其他产物如乙酸、乙醇和二氧化碳很少。这个转化率相当于从每 100g 葡萄糖产生大于 90g 的乳酸。异型发酵代谢己糖产生的乳酸较少，有较多的其他代谢产物产生，如乙酸、乙醇、甘油、甲酸、甘露醇以及二氧化碳。异型发酵有两条途径，一是 Bifidus 途径，产生的乙酸和乳酸的摩尔比为 3:2；另一条是 6-磷酸葡萄糖途径，产生等摩尔的乳酸、二氧化碳和乙酸或乙醇。由于同型发酵途径乳酸产率高、副产物少，因此其在乳酸工业生产中具有重要的地位。

发酵产生的乳酸异构体类型取决于菌体所具有的乳酸脱氢酶的立体特异性。当一种菌株中同时具有 L-型和 D-型乳酸脱氢酶时，会产生外消旋混合物，或者在有些时候，乳酸脱氢酶产生 L-乳酸后，在乳酸外消旋酶作用下也会得到外消旋混合物。

### 3. 微生物选育

有许多微生物可以发酵生产乳酸，但是工业上使用的大多数菌株都是乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*) 属。其中有些菌有很高的乳酸合成速率和产率，并且所希望的发酵条件 (温度高于 40℃, 较低 pH 值, 低氧浓度和高乳酸浓度) 使过程不易染菌。

乳酸杆菌的分类包括专性同型发酵、兼性异型发酵和专性异型发酵。前两类中有些菌具有工业生产价值，因为这些菌以己糖为基质发酵，主要产物是乳酸。对这两类菌选育的基准是：产生乳酸的立体异构性；能利用的碳水化合物类型；复杂营养物 (如维生素和氨基酸) 的需求情况。发酵副产物和对乳酸的承受程度也是要考虑的。总之，最希望得到的菌株能利用便宜的原料快速和完全发酵，需要很少的其他营养。最佳的菌株还应该具有大量生产特定立体结构的乳酸、细胞产量很小、副产物几乎可以忽略的特点。

(1) 异构体的立体特性 采用的菌株生产产品 (乳酸) 的立体异构体情况可以首先查阅文献，然后进行实验验证。由于不同菌体产生的乳酸的立体结构不同，因此，进行实验验证是非常重要的。另外，不同发酵条件也会得到不同的乳酸。

主要生产 L (+) 乳酸的菌种包括 *L. amylophilus*, *L. bavaricus*, *L. casei*, *L. maltaronicus* 和 *L. salivarius*。生产 D (-) 的菌种有 *L. coryniformis*, *L. delbrueckii* 和 *L. jensenii* 几种乳酸杆菌生产乳酸异构体的情况如表 1-2-1 所示。

表 1-2-1 代表性乳酸杆菌生产乳酸异构体的情况

| 同型发酵菌   | 乳酸异构体 | 兼性异型发酵菌   | 乳酸异构体 |
|---|-------|---|-------|
| <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i> | D     | <i>L. agilis</i>                                  | L     |
| <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>  | D     | <i>L. bavaricus</i>                               | L     |
| <i>L. acidophilus</i>                           | D/L   | <i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>               | L     |
| <i>L. amylophilus</i>                           | L     | <i>L. coryniformis</i> subsp. <i>coryniformis</i> | D     |
| <i>L. amylovorus</i>                            | D/L   | <i>L. curvatus</i>                                | D/L   |
| <i>L. helveticus</i>                            | D/L   | <i>L. homohiochii</i>                             | D/L   |
| <i>L. jensenii</i>                              | D     | <i>L. maltaromicus</i>                            | L     |
| <i>L. salivarius</i>                            | D     | <i>L. plantarum</i>                               | D/L   |

注：D 或 L 表示总乳酸中该型异构体达到 90% 或以上；D/L 表示总乳酸中 25%~75% 是 L (+) 型。

(2) 可利用的碳水化合物 菌种选育时也要考虑发酵所要提供的碳水化合物。能利用的碳水化合物的范围因菌种而异，可以查些资料，然后进行实验确定。代表性乳酸杆菌所能利用的碳水化合物见表 1-2-2。

用于乳酸发酵的碳水化合物基本上都是农副产品，包括葡萄糖和麦芽糖 (瓜干和玉米淀

表 1-2-2 代表性乳酸杆菌所能利用的碳水化合物

| 菌种   | 碳水化合物 |    |     |     |    |     |     |     |    |     |    |     |
|--|-------|----|-----|-----|----|-----|-----|-----|----|-----|----|-----|
|  | 纤维二糖  | 果糖 | 半乳糖 | 葡萄糖 | 乳糖 | 麦芽糖 | 甘露糖 | 松三糖 | 核糖 | 山梨糖 | 蔗糖 | 海藻糖 |
| <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>     | d     | +  | -   | +   | -  | d   | -   | -   | -  | +   | +  | d   |
| <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> | -     | +  | -   | +   | +  | -   | -   | -   | -  | +   | -  | -   |
| <i>L. acidophilus</i>                          | +     | +  | +   | +   | +  | +   | -   | -   | -  | +   | +  | d   |
| <i>L. helveticus</i>                           | -     | d  | +   | +   | +  | d   | -   | -   | -  | +   | -  | d   |
| <i>L. bavaricus</i>                            | +     | +  | +   | +   | +  | +   | -   | -   | +  | -   | +  | -   |
| <i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>            | +     | +  | +   | +   | d  | +   | +   | +   | +  | +   | +  | +   |
| <i>L. curvatus</i>                             | +     | +  | +   | +   | d  | +   | -   | -   | +  | -   | -  | -   |
| <i>L. plantarum</i>                            | +     | +  | +   | +   | +  | +   | +   | d   | +  | +   | +  | +   |

注：+表示一生长；-表示一不生长；d表示一取决于不同菌株。

粉水解产物)、蔗糖(甘蔗和甜菜制糖)和乳糖(来自干酪乳清)。采用这些原料在工业上生产乳酸已有很长的历史。制浆造纸产生的亚硫酸盐废液也被尝试过,但用这种原料发酵前需进行预处理。亚硫酸盐废物中含有许多戊糖,由此假如采用兼性异型发酵菌,会有大量乙酸产生。

除了这些原料以外,采用淀粉降解乳杆菌(*L. amylovorus*),或用霉菌(*Aspergillus awamori*)和乳酸链球菌(*Streptococcus lactis*)两步法,直接利用淀粉发酵生产乳酸,也有一些研究。以淀粉直接发酵生产乳酸的产率和速率与采用其他原料时的分批发酵相同,但是这一技术还未工业化。近来,也有尝试利用大麦、木薯、玉米、燕麦或大米得到一些简单的糖,用霉菌米根霉(*Rhizopus oryzae*)直接发酵生产乳酸。但是产率不是令人非常满意,用木薯乳酸得率仅达到70%。通过对菌种和发酵过程进行优化可能会有工业应用价值。

到目前为止,在20世纪30~50年代使用的乳酸发酵原料还会继续使用。由于乳酸聚合物的应用前景非常看好,几个公司和研究所都宣称他们已经开发或正在开发利用这些农副产品生产乳酸的技术,其中包括由美国Argonne国家实验室开发的采用土豆加工下脚料的生产技术,由Batelle开发的采用糖蜜、土豆加工下脚料和乳清的生产技术,由生物化学产品(EcoChem)公司(杜邦和ConAgra的合资公司)开发的采用干酪乳清的生产技术,以及由Cargill和Archer-Daniel Midland开发的采用玉米淀粉生产技术。

(3) 营养需求 乳酸杆菌是一类对营养要求非常苛刻的微生物,需要包括维生素、核苷、氨基酸和无机盐等。所以,一些发酵培养基中常常加入酵母膏、玉米浆、棉籽粉或大豆粉。这些物质的加入会对生产成本有很大的影响,所以需求量要把握好,包括发酵运行成本与培养基成本的关系要确定。由于乳酸菌有的需求不是很清楚,因而经常需要通过实验得出。

所有的乳酸杆菌都需要维生素B,有些菌还需要一些特定的维生素。具体需要的种类因特定菌种而异。不同菌株需要氨基酸的种类基本相似。对特定菌株这些具体的营养要求已由Bergey和Snell进行了综述。

在酵母膏、玉米浆等中,有些成分对菌体生长并不是必要的,但对乳酸杆菌有刺激作用。例如,在玉米浆中含的氨基酸和肽对*L. casei*有刺激作用;番茄酱中含的核酸和核苷对有些乳酸菌有刺激作用。不饱和脂肪酸和甲酸也被发现对有些乳酸菌有刺激作用。

由于乳酸杆菌的生长因子比较复杂和多变,因此最好的方法是针对特定的菌进行培养基优化。例如,Cox等发现对保加利亚乳杆菌(*L. bulgaricus*),酵母膏比玉米浆好,但是两者对菌体产乳酸又有协同作用。Roy等也发现对瑞士乳杆菌(*L. helveticus*)酵母膏是比玉



在厌氧条件下，只有当培养基是碱性时，才能产生乙酸；在好氧条件时，无论培养基是碱性还是酸性，都能产生乙酸。*L. casei* 在好氧或厌氧条件下，不同培养基 pH 值时也会产生不同的产物。另外，其可以将甘露醇转化成乳酸，但在厌氧条件下，甘露醇的转化产物则包括乳酸、乙酸、甲酸和乙醇。

在一定的条件下不仅乳酸菌的发酵产物可以变化，而且乳酸异构体的比例也可调整。例如，用 *L. plantarum* 菌时，在好氧条件下改变培养的 pH 值，L (+) 型和 D (-) 型乳酸的比率将变化。用 *L. casei* 菌时，通过限氮也可得到不同比率的 L (+) 型和 D (-) 型乳酸。

虽然乳酸是同型和兼性异型乳酸发酵菌的主要发酵产物，但在好氧条件下，乳酸会被进一步代谢成乙酸和 CO<sub>2</sub>。*L. casei* 和 *L. plantarum* 已被报道能进行乳酸氧化。有学者测试了 23 株乳酸杆菌，其中 21 株被发现能氧化乳酸。

## 5. 菌种改良

尽管从微生物学研究的起始阶段开始，乳酸杆菌就已经被研究，但是至今，乳酸杆菌的遗传学和基因操作的知识还是非常缺乏。在 20 世纪 80 年代，研究乳酸菌遗传学的研究室有很大增加，得到的信息为采用基因工程技术构建优化的乳酸菌提供了基础。这些技术包括传统的诱变和筛选，也包括重组 DNA 技术。

(1) 传统诱变 对乳酸菌进行化学诱变和照射已取得一些成功，但有关诱变的具体本质还有许多问题不清楚。用 NSG 和  $\gamma$  照射处理后的 *L. bulgaricus* 和 *L. casei* 变异株被分离出来后，发现产酸量增加。采用 NSG、甲磺酸乙酯、 $\gamma$  照射、UV 照射等得到的 *L. bulgaricus* 和 *L. casei* 变异株也被发现其蛋白水解活性增强。

诱变也用于研究许多营养缺陷型乳酸杆菌的基因损伤问题。失去了许多（但不是全部）氨基酸需求的 *L. casei*、*L. helveticus*、*L. plantarum* 和 *L. acidophilus* 的突变株，可以用多种诱变剂处理后得到。这些研究可以得到一些乳酸菌中调节机制方面的知识，并可能会使乳酸发酵培养基更加简单。最近，采用传统的诱变技术，Argonne National Lab 用紫外照射方法筛选出一株乳酸杆菌 (*Lactococcus lactis*) 的乳酸钠抗性株。这种变异株肯定可以在分批或连续发酵中产生高浓度乳酸。类似的研究采用了乙基甲烷进行诱变，也得到了乳酸抗性株，其产乳酸浓度比出发株要明显高一些。

(2) 基因工程 在 20 世纪 80 年代中期，用于乳酸基因改造的手段非常有限，不像其他一些复杂系统如大肠杆菌那样，但现在这方面已有了很大发展，在乳酸菌中克隆和表达同源和异源基因完全可以做到。

为了实现重组 DNA 技术进行乳酸杆菌的改造，已开发出一些适宜的克隆载体和转化系统。起初人们致力于确定原生质体转化系统，但发现这一系统速度慢、效率低并且不稳定。乳酸杆菌的传导也进行了研究，但由于乳酸杆菌噬菌体的基因分析和分子生物学信息较缺乏，应用受到限制。Electroporation 已证明是将 DNA 导入乳酸杆菌的一种有效方法。不少研究者采用这种方法传导 DNA 于不同乳酸杆菌中都得到了较好的结果，但是最佳条件要使不同乳酸杆菌而异。

随着乳酸杆菌基因工程手段的不断完善，有关乳酸杆菌的基因信息也不断增加，这些将用于乳酸生产的改进。进一步的工作可能是改进蛋白酶活性，提高耐酸性，增大乳酸脱氢酶活性，并产生构体绝对单一的乳酸。

## 二、乳酸发酵过程

### 1. 环境参数

(1) pH值的影响 pH值是发酵过程中很容易控制的参数，它对细胞生长和代谢有很强的作用。从生产的角度来说，为了得到必要的乳酸浓度而使生产过程经济、合理，pH值控制是绝对需要的。通常，乳酸菌能承受的pH值在3.4~8.0，但生长和生产产品的pH值大多在5.4~6.4，具体最佳值视各菌种而异。

对德氏乳杆菌 (*L. delbrueckii*) 控制pH值4.5~6.0进行研究发现，在低pH值下最大比生长速率下降，总发酵时间延长，在pH值5.4时细胞产率最大。对*L. helveticus*菌，有研究发现，虽然将pH值从4.7增加到6.3，乳酸产量也呈线性增长，但在高pH值下在发酵结束时，细胞死亡速率很大。

pH值对乳酸菌的抑制没有直接的影响。低pH值将使乳酸的离解平衡朝着非离子形式进行，由于非离子状态的乳酸对微生物是最有毒的，并已有证明会产生抑制，因此低pH值使抑制的影响增强。对*L. delbrueckii*，抑制生长和产物生成的乳酸浓度在1.3mmol/L，而对*L. helveticus*，如果乳酸浓度达到50~70mmol/L，生长将完全停止。

在乳酸发酵中，我们总是希望获得最大的乳酸浓度，因此，一般pH值总取在一定的适宜范围的高限。

(2) 温度的影响 大多数乳酸菌在温度37~42℃生长最好，但有些被称为“嗜热”的乳酸菌，温度上限可达55℃。不同菌株的最佳温度稍微有些不同，如*L. helveticus*，在温度38~42℃时，生长速率最大，一出这一范围，生长速率急剧下降。而对*L. amylovorus*，最大乳酸生产速率发生在温度40~45℃，最终乳酸浓度在温度30~45℃范围内基本相同。也有一些情况，如用奶油色链球菌 (*Streptococcus cremoris*) 发酵时，比生长速率不随温度变化，但比生产速率在高温时有所提高。

(3) 氧的影响 乳酸杆菌是微氧需要菌或耐氧菌，因此，氧的存在对其代谢有重要的影响。好氧环境对有些菌可能有毒害，但对许多其他菌，氧常常是重要的电子受体，使厌氧糖代谢产生的还原性嘧啶核苷再氧化。这将使乳酸菌能利用的基质范围较广，并拥有厌氧条件下停止的代谢途径，也会改进细胞的摩尔产率。

在乳酸生产的发酵罐中，通常总是避免有氧状态，因为氧的存在对生产有影响。在*L. casei*好氧培养时，发现最大生长速率较小，葡萄糖的利用和乳酸的生产呈指数曲线变化，由于产生的副产物较多，乳酸产率较低，葡萄糖与乳酸转化的定量关系在好氧条件下不确定。

(4) 搅拌的影响 在好氧发酵中非常重要的搅拌，对乳酸生产没有什么作用。但是，有些研究发现，在采用像乳清这些原料时，由于许多营养物都是存在于不溶解物中，因此，必须采取措施使这些固体物质完全呈悬浮状态。在用乳清发酵生产乳酸时，已经发现乳酸生产速率随着体系中雷诺数的增加而增大，直至雷诺数达到10000后，速率保持恒定。另一方面是，乳酸杆菌对剪切力不敏感，采用高的搅拌速率未发现有什么影响。

## 2. 过程设计基础

对乳酸生产而言，各种环境因素的最佳范围已很清楚，当然不同的菌、采用不同培养基和要求达到不同乳酸浓度时，这些因素的范围会有变化。已有研究证明，乳酸生产既属于生长相关，也属于生长不相关，在细胞生长停止后，菌体会继续发酵。在不同情况下，比生产速率有所不同。由于一些控制因素，如温度、pH值、高盐浓度和乳酸浓度会造成细胞生长和乳酸合成的不耦联，因此，这些问题都会影响过程设计。

多大的乳酸浓度会使生长与合成不耦联与菌种有关。对*L. helveticus*，已发现培养基组

成对生产机制有重要影响。用葡萄糖培养基时，由生长非耦联机制产生的乳酸量要小于细胞生长时期产生的乳酸量，但在采用含乳清和酵母膏的培养基时，情况正好相反。因为对细胞生长有抑制的乳酸浓度要比对生产抑制的浓度低得多，因此，非生长耦联机制对达到高乳酸浓度有很大作用。

由不同机制产生的乳酸的比例也取决于发酵过程的操作方式。像连续细胞循环或固定化细胞这样的过程，生产主要是依靠非生长耦联机制，培养基和环境因素等对机制的影响应该具体分析。

乳酸的毒性是影响发酵生产过程的主要问题。有关环境条件变化对毒性的影响，已有一些研究，大多数提出的解决办法已经应用在过程或系统的开发中，可以减少抑制。实际上，较好的发酵过程是通过提高反应速率而不是产物浓度来提高生产强度，尽可能地缩短发酵时间。

当需要得到高乳酸浓度时，需要提供高糖浓度，这时，初始糖浓度也是一个重要的设计参数。乳酸产量在对数生长期是葡萄糖消耗的线性函数，葡萄糖对乳酸的产率基本都在  $0.9\sim 0.95\text{g/g}$ ，变化不大，而用于细胞生长和维持的葡萄糖消耗可以忽略不计。但是，也有研究证明，对某些菌，如 *L. delbrueckii*，初始葡萄糖浓度从 5% 增加到 33% 导致菌体最大比生长速率从  $0.55\text{h}^{-1}$  下降到  $0.18\text{h}^{-1}$ 。初始葡萄糖浓度在 15% 以上对发酵会产生严重的负面影响，但对反应器设计而言，由于葡萄糖浓度要被控制在较低水平，因此是有利的。

### 3. 发酵方式

对高效、高产率的发酵方式过去的几年中已有不少研究。但大多数研究均是在实验室规模进行的，虽然有了一些令人鼓舞的结果，但还看不出在不久的将来能在工业上像分批发酵那样进行应用。在发酵工业，分批发酵是最熟悉的，其他一些发酵方式由于在过程放大方面还存在一些问题，因此还需要进一步研究才能工业化。

(1) 分批发酵 分批发酵是至今工业上一直采用的方法，已经有 50 多年的历史。在美国，发酵法生产乳酸直到 1992 年被化学合成法替代。但在欧洲，发酵法仍然在使用。

在 20 世纪的 40~50 年代，在美国，由于用  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  和  $\text{Ca}_3(\text{CO})_2$  调 pH 值，乳酸是以乳酸钙的形式生产。发酵条件随着不同生产者采用不同的菌种和原材料而不同。但无论哪个公司，pH 值和温度总是被维持在上述范围内，但最终的乳酸浓度和发酵时间则取决于碳源。当碳源采用葡萄糖或水解淀粉糖，菌种为 *L. delbrueckii*，初糖浓度为 12%~15% 时，发酵时间为 3~6d。当采用牛奶乳清为原料时，初糖浓度为 5%，菌种为 *L. bulgaricus*，发酵时间为 1~2d，最大生产强度可达到  $1\sim 2\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$ 。在这些工业规模设备中，不采取灭菌措施，因为乳酸对大多数其他微生物均有抑制。

近年来，通过采用良好的设备设计、过程参数（特别是温度和 pH 值）控制，也包括菌种改良，乳酸的发酵速率有了改进。人们研究的重点也从原料和终产物转到对发酵过程。

关于乳清的利用，现在主要的目的是发酵乳清本身，而不是乳酸。用于 pH 值控制的现在是  $\text{NH}_4\text{OH}$  而不是以前的  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ，发酵液进行蒸发浓缩，最终产物是蛋白质含量相当 55% 的，其中 75% 是来自乳酸铵。

(2) 连续搅拌反应器 (CSTR) 中的连续发酵 虽然在工业上乳酸生产没有采用连续发酵的方法，但连续发酵的可行性已作过一些研究。早在 1931 年，Whittier 和 Rogers 就进行的中试研究，但由于当时灭菌和过程控制条件很差，结果不甚理想。为了进一步了解连续发

酵过程，在 1966 年，Childs 和 Welsby 采用水解淀粉糖，*L. delbrueckii* 类菌，又进行了尝试。结果令人鼓舞：在一步系统中生产强度达到 3.7g/L，两步系统中 4.3g/L。这个结果比同样条件下分批过程的结果要高 60%。

在连续搅拌反应器的操作过程中，乳酸的毒性对细胞生长起着很重要的作用，乳酸浓度升高，细胞生长将下降。在单级恒化器，这时细胞生长速率等于稀释率，乳酸浓度是稀释率的函数，稀释率越高，菌体生长越快（直到最大比生长速率），但乳酸浓度越低，没有被利用的糖浓度越高。在恒化器中，乳酸发酵是典型的菌体生长与产物形成相耦联的发酵类型。最大生产强度将靠近最大稀释率，但这时糖的利用效率最低。

同样的，在采用不同培养基、菌种和操作条件时，不同的研究得出了不同的结果，但相似的规律还是有的。一般说来，采用一步发酵，当稀释率低于  $0.1\text{h}^{-1}$  时，糖利用可以非常完全，乳酸的最大浓度可在 36~58g/L。在稀释率  $0.4\text{h}^{-1}$  时，生产强度可以达到 8~9g/(L·h)，但糖的转化率只有 60%。

在一步发酵后再加一步或多步已被证明是有效的，可以得到较高乳酸浓度和糖利用率。这样的系统可以将生长耦联和非耦联的过程分开，也可以减少第一级中乳酸对细胞生长的抑制。对于含 5% 以上糖的原料，有建议采用多级系统，并且已有两步或三步过程被用于 *Streptococcus cremoris* 发酵乳清渗透液生产乳酸，比一步过程生产强度得到提高。也有研究试图优化这一系统中各级的稀释率。

连续培养也会使细胞代谢发生变化。对 *L. bulgaricus*，有报道，菌体的形态变化与稀释率有关；对 *L. helveticus* 和戊糖片球菌 (*Pediococcus pentosaceus*)，在高稀释率下可以得到高 L-D 乳酸比例。另外，也发现与分批培养一样，乳酸对葡萄糖的产率在不同发酵条件下不一样。这些对于每一个具体生产过程都应该认真对待。

(3) 细胞循环反应器 细胞循环反应器开发的目的是想通过在发酵罐中维持高细胞密度而增加乳酸生成速率。具体是将一个 CSTR 与一个细胞分离装置相耦联，细胞分离装置将细胞回收后再将其返回入反应器。这一系统的优点是将细胞可以全部存留在反应器中。由于菌体不会被洗出，因此，稀释率可以大大高于细胞生长速率。

细胞循环系统的生产强度可以几倍于分批或其他连续培养系统，具体情况还与菌种和操作条件有关，报道的数值是在用 *L. delbrueckii* 发酵葡萄糖生产乳酸时，生产强度在乳酸 35g/L 达到 76g/(L·h)，在乳酸 60g/L 时达到 150g/(L·h)；用 *L. bulgaricus* 发酵乳清渗透液生产乳酸，乳酸 117g/L 时生产强度为 84g/(L·h)。一般 60g/L 的乳酸浓度在这种系统中都能达到。乳酸的抑制使得本来可以发酵降低的葡萄糖浓度偏高，但如果乳酸浓度在抑制浓度以上，即使稀释率高达  $2.55\text{h}^{-1}$ ，葡萄糖转化也可以完全。细胞浓度可达到 60~140g/L。

这种系统一个有趣的特点是，一旦达到高细胞浓度和稳态，细胞基本不再生长，大部分乳酸由生长非耦联机制产生。结果，只需要提供很少量的氮源和生长因子维持细胞浓度。但是，有些营养物质必须添加，因为已经证明，乳酸的形成需要蛋白质的合成。对生长因子的需求取决于所用的糖源，在相似条件下，用乳糖比用葡萄糖时需要多一些，并且用乳糖乳酸浓度也低一些。

虽然已有研究表明，这种系统可以稳定运行几个星期，特别是在低乳酸浓度下，但是也有报道，在培养过程和细胞积累过程中，生物量合成和乳酸生产的比速率是下降的，并且乳酸比生产速率与菌体比生长速率直接相关。生长速率下降的同时生物量产率也下降，这是由

于葡萄糖用于乳酸的形成，而不是细胞生长。

细胞完全循环也会对不同菌的代谢产生不同的影响。如对一个外消旋菌种 *L. helveticus*，就发现增加稀释率，L(+)型乳酸比例会增加；对主要产L(+)乳酸的 *L. casei*，随时间的进行D(-)型乳酸会增加，并且在循环了100多小时的细胞中发现一种与通常菌不同的胞内蛋白质；更多的变化是对 *Lactococcus lactis*，在连续全细胞回流过程中，乙酸、甲酸和乙醇会被诱导产生；对 *Lactobacillus* sp 93 SMRICC235，其甚至会从同型乳酸发酵变成异型乳酸发酵。

(4) 固定化细胞反应器 将细胞用胶固定化或固定在惰性载体上主要是为了以下的目的。在连续培养的反应器中得到高细胞密度，从而可采用高流速；在重复多批次发酵中，细胞可以使用很长时间；固定化后可以在恶劣的环境中保护细胞。

处于固定化状态的细胞其紧靠的环境与反应器总的液相环境条件(pH值、产物浓度等)是不一样的，因此已有许多研究针对环境因素对固定化细胞生长动力学和产物形成机制。

几种固定化材料已被用过，其中海藻酸钙用的最多，另外还有聚丙烯酰胺、琼脂、κ-角叉菜聚糖和烧结的玻璃球。

固定化对维持细胞处于稳定和活性状态是非常有效的。有报道采用 *L. casei* 和 *L. lactis* 的共固定化，细胞可用于重复分批培养系统20d；将 *L. casei* 在0.2%酵母膏4保存，其可以保持活性产乳酸达2个多月；*L. delbrueckii* 在连续培养过程中的半衰期为100d；将 *L. casei* 包埋在琼脂中发现其得到了很好的保护，6%盐浓度存在下仍有发酵活性；类似的结果在用κ-角叉菜聚糖固定 *L. delbrueckii* 时也被发现，其对于乳酸萃取的有机溶剂有一定的抗性。但是在大多数情况，固定化系统达到的生产强度在2.5g/(L·h)以下，低于相应的游离细胞系统。

关于反应器，各种类型的都试过，包括搅拌罐、填充床、流化床等。每一种都有缺陷。填充床反应器不太适合实际应用，主要缺点是pH值很难控制，经常被漏出的细胞堵塞，海藻酸钙粒子会脱钙。用搅拌罐会减少pH值控制问题，除非在粒子内部由于扩散的原因，但搅拌容易使海藻酸钙粒子被破坏，稳定性受影响。用烧结的玻璃球的流化床得到的结果最好，乳酸浓度在25g/L时，生产强度达到13.5g/(L·h)，但在一些条件下大多数糖是被游离细胞转化的。

在这些固定化系统中，不可能同时达到低基质浓度、高固定化细胞浓度和高生产强度。这是因为要使载体内部的细胞生长良好的话，糖的浓度梯度要相当高，以保证糖有较高的扩散速率能从液体中传到载体中。另一个只是在实验室中被检验过的主要的缺点是，系统的工业放大非常困难，主要是在这些系统中，传质和传热对过程的进行影响很大。

(5) 萃取发酵 如前面所述，乳酸发酵过程受抑制，生产速率随乳酸的积累而下降。为了减少抑制，人们研究了几种随程萃取技术，如溶剂萃取、离子交换、透析、电渗析等。总的来说，虽然这些技术应用后取得的发酵结果比原来的分批发酵要好，但是系统较为复杂，大规模生产采用有一定的困难。

透析方面的研究是由Stieber等人研究的，采用了连续的透析装置，可以用较浓的培养基，也得到了比分批发酵要好的结果，但是出料中的乳酸铵浓度较低。电渗析是先有人用游离细胞进行了分批发酵，结果膜的堵塞很严重，然后采用固定化细胞或用超滤的方法进行细胞分离，改进了系统，但增加了额外的设备。采用电渗析的优点是pH值可以通过除去乳酸进行控制，而不要再加碱。在有些电渗析系统中还存在一些问题，如乳酸通过阳离子膜时有

损失，丙酮酸氧化等。在采用溶剂萃取方法时，用的溶剂是丙氨酸 336/油酸，细胞进行了固定化，结果在低乳酸浓度时生产强度比批发酵提高 70%，但问题是过程较复杂，产物有较大的损失。为了克服溶剂毒性问题，也有人在溶剂相和水相界面加了疏水膜，或用固体吸附剂。采用离子交换的方法是 Srivastava 等提出的，在控制 pH 值的同时，他们得到了比同样控制下的批发酵高 5 倍的生产强度，从 0.32g/(L·h) 提高到 1.66g/(L·h)，提取的产物也较纯。这一系统的主要问题是树脂容量有限。如果使吸附速率较高，循环要求较短，可能离子交换法还是有前途的。

### 三、乳酸的提取和纯化

从发酵液中提取乳酸是乳酸生产过程中非常重要的一步，也是发酵法与化工合成法生产乳酸进行竞争的难点所在。关于乳酸提取过程的公开资料大多数来自 20 世纪 40~50 年代美国的一些乳酸生产工厂，一些新技术也有提出的和试验的，但具体在现代建立的工厂里的使用情况没有报道。

一些过去的乳酸提取过程的改进是将乳酸从乳酸钙溶液中提取出来。具体细节请参考一些文献。提取过程包括一系列连续的过滤和漂白操作，用植物炭作为吸附剂。漂白的乳酸钙浓缩到 32% 后，用硫酸处理产生硫酸钙沉淀，乳酸溶解出。再进行过滤和漂白后，乳酸从 8% 浓缩到 50%。是否需要再进行纯化和蒸发操作，要根据产品的纯度要求决定。重金属的去除是通过加硫化钠。

在工业上采用的另一个乳酸提取过程是将乳酸过滤液蒸发后进行结晶。将晶体洗涤几遍，洗涤水也进行结晶。纯化步骤包括炭处理、重金属沉淀、再溶解、重结晶等多步。这个方法是非常复杂，主要是因为乳酸钙易于结晶成块状，包含结晶母液，很难洗，并且由于乳酸钙有很高的溶解性，因而也使对洗涤水要进行几次提取。得到的产品乳酸钙浓度很高。在 C.V.Chemie Combinatie Amsterdam 公司，这种提取过程仍在使用。

在英国和西班牙，乳酸生产工业上也采用液-液萃取技术。用的萃取剂水溶性低，乳酸分配系数很大。Weiser 和 Geankoplis 试过许多溶剂，认为异戊醇最好。异丙酯也用过，可能现在有些过程中还使用一些其他溶剂。在液-液萃取过程中，乳酸要能从溶剂中提取出来，溶剂也要能回收再使用，还需要一些其他纯化处理。最近有人申请了用三烷基胺进行乳酸萃取的专利。

乳酸的酯化可以得到最纯的产品。这一过程必需包括酸酯的制备、蒸馏除去杂质以及酸和醇的水解回收。也有人研究了从发酵液中得到以乳酸铵形式的纯乳酸。他们采用丁醇为酯化剂，比较了用与不用催化剂的情况。通过将副产物进行循环，丁乳酸的产率达到 85%。这种工艺将很可能对乳酸的发酵生产和化工合成之间的竞争有很大的影响。从稀溶液中萃取酯可以用溶剂 1,2-二氯乙烷，而不是水解。

还有一些其他技术，如 Sugimoto 申请了用强酸、强碱离子交换树脂进行提取的专利；Kulprathipanja 等人的专利是采用带有三胺或嘧啶功能团的水不溶弱碱性阴离子交换树脂，或有四胺功能团的强碱性阴离子交换树脂，还有反渗透和液膜萃取，等等。

## 第三节 聚乳酸的合成

### 一、乳酸的聚合

#### 1. 乳酸和丙交酯的生产

早在 1845 年就有人发现，在 130℃ 下将水从乳酸溶液中去掉的话，会形成一种浆状液

体，其组成中水少于乳酸。这种乳酸的两分子酯，现在称为乳酰乳酸。图 1-3-1 是乳酰乳酸的形成示意图。

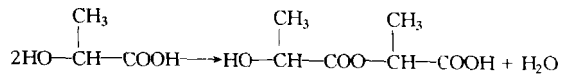


图 1-3-1 乳酰乳酸的形成示意图

当水溶液中乳酸浓度超过大约 50% 时，就会有酯化反应发生。但是，在较低温度 (<50℃) 时反应非常慢，乳酸单体和酯化产物达到平衡需要几个月。在高温下，反应速度加快，达到平衡只需要几十分钟，得到的乳酰乳酸的晶体熔点为 39℃。后来发现达到平衡后反应并未停止，继续形成乳酸低聚体。当乳酸在 90℃、15mm mmHg 下加热脱水，同时用毛细管迅速吹热空气，产生的酸、水和稀醇混合物的部分沉淀有含 3~6 个乳酸分子的线性酯。用气相色谱证明乳酸浓缩液中存在线性的二聚体、三聚体和长链乳酸聚酯。

因为无论是乳酸单体还是消旋混合物都是非常吸湿的，因此乳酸通常是浆状，要在低温 (-15℃) 下贮存。但乳酸可以采用低温蒸馏，然后在 52.8℃ 或 16.8 的熔点下分部结晶，得到不同的纯晶体。

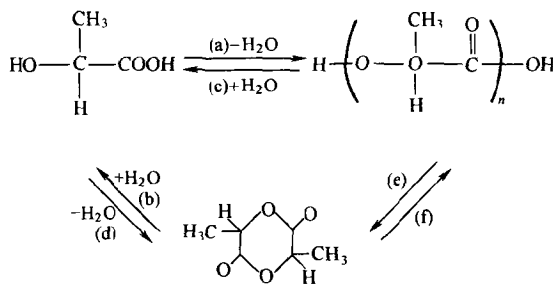


图 1-3-2 由乳酸形成聚乳酸和丙交酯

如果将浓缩的乳酸浆在更高温度 (>90℃) 下蒸馏，另一个与丙交酯对应的脱水的化合物将形成，即乳酸的环状二聚体。丙交酯很容易水解，因此在乳酸水溶液中丙交酯不可能大量存在。线性聚乳酸和丙交酯的形成是密切相关的，它们与乳酸之间的反应平衡关系如图 1-3-2 所示。

在图 1-3-2 中，反应 (a) 是自酯化和浓缩成线性聚合物；反应 (d) 是当乳酸加热或脱水后环状二聚体和丙交酯都存在；逆反应 (b) 和 (c) 代表线性聚乳酸或丙交酯水解返回成乳酸。反应 (e) 和 (f) 表示丙交酯的可能的开环聚合和解聚。自酯化和浓缩是一个典型的在酰基碳原子上的酸催化二分子亲核羧酸替代反应。丙交酯的生成是单分子转酯反应。上述各反应占优势的可能性取决于反应条件，如温度、脱水率和使用的催化剂。

丙交酯单体可以以四种不同的结晶态化合物存在，这主要取决于形成丙交酯的乳酸部分的结构。L 和 D 型丙交酯分别由 L 型或 D 型乳酸形成。由于这两者结构差异很小，因此性质基本相同。内消旋 (meso) 丙交酯是由一分子 L 型乳酸和一分子 D 型乳酸形成，是一个非对映异构体，没有光学活性。当量克分子的 L 和 D 型丙交酯混合物溶液结晶时会产生外消旋丙交酯，这就是文献中所说的 D,L-丙交酯，是有两种对映异构体分子的化合物。

如果丙交酯是从外消旋乳酸得到，它将含有等量的 L 型和内消旋型，少量的 D 型。D 型对湿度比外消旋的和光学纯丙交酯要更敏感。在解聚过程中，乳酸和丙交酯的光学活性均会发生变化，主要是有外消旋倾向 (即 L 型向 D,L 型和内消旋型转化)。具体外消旋的速度与开始时 D 和 L 型的相对浓度、杂质的存在、采用的催化剂种类、不同温度和压力时的时间等都有关，这也因此造成了控制丙交酯光学纯度的困难。

大多数丙交酯制备过程的原理是一样的，即先用空气蒸馏除去水，然后再真空蒸馏。不

同的只是采用的真空度和温度。典型过程是，在蒸发器中除去水或其他溶剂，然后进一步加热，产生丙交酯聚合物前体（低分子量的聚乳酸）。这种聚合物前体的解聚可以在真空丙交酯反应器中进行，向反应器中通干空气或氮气可以加快脱水。

加入一些催化剂，如金属氧化物、金属卤化物以及有机金属化合物，可以加快解聚过程。如有发现，有少量的弱碱性试剂，特别是对丙交酯的制备有利；钛酚盐可以是光学活性丙交酯制备的催化剂。但由于会促进外消旋作用，一些强碱，如碳酸钠不适宜用于有光学活性丙交酯的制备。

## 2. 乳酸的浓缩聚合

图 1-3-3 为乳酸聚合物的生产步骤。

乳酸的聚合酯化过程是按照众所周知的酸催化反应进行，反应包括羧基基团的质子化，然后与羟基功能团反应产生酯键。如果不外加酸，乳酸自身将作为催化剂进行酯化反应。自催化聚合通常总的是三级反应，但也有二级反应，与羧基浓度有关。聚合速率可以表示为

$$R = \frac{-d[\text{COOH}]}{dt} = k[\text{COOH}]^2[\text{OH}] \quad (1-3-1)$$

乳酸浓缩成聚乳酸被认为是一步聚合，聚合链的扩展是通过单聚体、低聚体和多聚体乳酸的羧基和羟基之间的酯化反应进行的。在相对较慢的速度下每个聚合链的生长遵循 Carothers 关系式。

$$X_n = \frac{1}{(1-p)} \quad (1-3-2)$$

这里  $X_n$  聚合度的平均值，是多少乳酸被浓缩成大分子的数量； $p$  是反应的程度，要使得得到聚乳酸分子量高 ( $M_n > 40000\text{Da}$ )，成膜或纤维的物理性质良好，反应必须达到 99.5% 完成。这不是容易的，因为从很粘的熔融状态的聚乳酸中去除水有难度，另外反应同时会有交酯形成。已有人发现，低分子量的聚乳酸可以用高沸点溶剂，如二甲苯和异丙苯作为脱水剂，进行共沸脱水制备。如果有硫酸作为催化剂，脱水速率会加快。也有采用通干空气流的方法加快脱水。在有强酸离子交换树脂（如 Amberlite118H 或 Dowex HCR-W）时，乳酸和乙二醇的共聚浓缩会产生分子量高达 6000~35000Da 的乳酸-乙二醇共聚物。

乳酸的直接缩合的制备聚乳酸的简单方法，但一般只能得到低聚物（数均分子量小于 5000，分子量分布约 2.0），而且聚合温度高于 180 时，通常导致产物带色。由预聚物理学有机溶剂中通过 DCC 催化的再缩聚来制备高分子量的聚乳酸也有报道。

## 3. 乳酸的开环聚合

(1) 催化和聚合机理 到目前为止，聚乳酸主要是通过乳酸的开环聚合制得。依据引发剂的不同，乳酸的开环聚合可分为正离子聚合、负离子聚合和配位聚合。乳酸正离子开环聚合是烷氧键断开，每次增长是在手性碳上，因此外消旋成了不可避免的，而且随聚合温度的升高而增加。另外的不足之处在于能引发乳酸正离子聚合的引发剂不多，而且难以得到高分子量的聚乳酸；不能用来制得现在使用较多的 PLGA。乳酸负离子开环聚合的合适引发剂是仲或叔丁基锂和碱金属烷氧化物，较弱的碱如苯甲酸钾，硬脂酸钾只能在 120 以上进行本体聚合。乳酸负离子开环聚合比正离子聚合的速度快得多，引发和链增长涉及到烷氧负离子

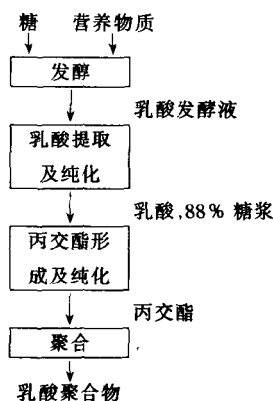


图 1-3-3 乳酸聚合物的生产步骤

向酰氧键的进攻，尽管该步不会导致外消旋，但烷氧负离子能使单体脱质子化，从而导致部分外消旋化，而且使聚合物分子量受到限制。高分子量的 PLA 能通过丁基锂和伯醇（如苯甲醇、PEG 的单甲基醚等）原位反应生成的引发体系来实现。

在开环聚合中，乳酸的配位开环聚合更显重要，引发剂常为辛酸亚锡或异丙醇铝或双金属  $\mu$ -氧桥烷氧化合物引发剂即  $[(n-C_4H_9O)_2 \cdot AlO]_2Zn$  等。辛酸亚锡引发体系的优点是单体高转化率和产物低消旋化。辛酸亚锡本身已被美国 FDA 通过，允许作为食品添加剂，因此它是目前应用最多的体系之一，多用于本体聚合中。

关于其中的酯交换问题，研究的结果是：辛酸亚锡引发丙交酯本体聚合，当温度低于 120 时，酯交换是可以忽略的。当分别以甘油和氨基经甲基丙二醇作引发剂制得星型的 PLLA 其物理性能和降解行为均与分子量等同的线型 PLLA 有明显的差异。Goosen 等专门研究了辛酸亚锡引发 DL-LA 聚合中产物分子量的影响因子，认为要制得高分子量的 PDL-LA，条件一为单体的高纯度，条件二为高真空封管聚合。当真空度由 100mmHg 上升到 0.05mmHg 时，产物分子量提高了 10 倍（1mmHg = 133.322Pa）。另外，Ikada 也研究了辛酸亚锡引发 LLA 本体聚合制备不同分子量 PLLA 的条件。另外，也有人认为辛酸亚锡或多或少还是有细胞毒性的。

在研究中使用较多的另一引发剂是异丙醇铝。依据异丙醇铝引发丙交酯聚合得到的低聚物的核磁共振结果，两端基分别为羟基和异丙醇的酯基，而不存在羧端基。从聚合物的聚合度与 [单体]/[引发剂] 关联结果可知，在一定范围内 [单体]/[引发剂] 小于 1600（甲苯溶液中，70℃），认为异丙醇铝分子中所有的“Al-OR”都参与了引发反应，而不同于己内酯聚合中（聚合温度范围 0~100℃）聚合活性数不超过 1.4，这归因于 DL-或 L-LA 的聚合速率常数比己内酯的小 60 倍之故。进一步研究发现，当 PLLA 的理论分子量超过 90000 时（70 溶液聚合），或延长聚合时间，或提高聚合温度，都能导致分子内酯交换（“回咬”），生成环状的乳酸齐聚物，从而导致分子量分布变宽，不再符合活性聚合。

另一值得提及的是双金属引发剂。Teyssie 等设计合成了它并应用于己内酯的活性聚合，冯新德等首先将该引发剂应用于 D, L-LA 及 GA 的开环聚合、并证明了其活性聚合的特征，该活性引发体系最大的优点是能控制合成具不同长度的嵌段共聚物。

法国的 Vert 小组使用自己发现的金属锌引发体系，认为该体系除了锌外不引入其他金属离子，而锌对人体是友好的。另外，稀土类引发体系也越来越受到重视。

(2) 外消旋作用 对于 L-交酯聚合物的制备，外消旋问题非常重要。已经发现，在用氧化镁、乙醇盐、乙酸盐、硬脂酸盐和 2,4-戊烷 dionate 做催化剂时，出现 L-交酯的外消旋。L-交酯在 120~180℃，有各种金属氧化物、碳酸盐、羧酸盐存在时，其聚合表现出外消旋随催化剂的碱性增加而增大。反应时间长、温度高也会明显加速外消旋。

当采用碱性铝、锡、锌氧化物以及  $SnCl_2$ 、 $SnBr_2$ 、 $SnCl_4$  等时，L-交酯通过非离子插入机制聚合很少发现有外消旋作用。聚交酯应用于生物医学时要求有很好的机械性能，这就要求有很高的分子量 ( $M_w > 10^5$ )。采用合适的催化剂，如至今为止可能最有效的是一些锡化合物（ $SnCl_4$ ，卤化锡，锡 2-己酸乙酯），可以较容易合成这样的聚交酯。而在催化剂浓度很低（0.015wt%）、温度（100℃）稍高于 L-交酯的熔点（98℃）时，可以合成得到很高粘度的聚交酯（ $[\eta] = 13 \text{ dl/g}$ ； $M_v \approx 1 \times 10^6$ ）。

(3) 过程设计 交酯单体的分批和连续聚合最好在水体系中进行，这样可免去溶剂的使用和循环。经济有效的连续操作是将交酯的制备、纯化和聚合在同一地方进行，这样可使对

湿度敏感的二酯单体避免一些运输等方面的问题。可以采用不同的聚合反应器，包括搅拌罐、线性管式反应器或组合型反应器。典型的二酯单体聚合过程是：在第一个反应器中控制温度 170~200℃，常压，停留时间 1~3h（取决于反应器体积大小），转化率达到 85%；然后将融化的聚合物放入第二个反应器，在 185~200℃ 下 1~3h，使转化率达到 95%；再用泵将聚合物送入容器中，在保持 200~220℃ 和小于 0.005 大气压下除去挥发性物质，并减少残余的二酯单体。这最后一步对聚二酯聚合物的热稳定性非常重要。也可采用在真空下用惰性气体吹脱的方法除去未反应的单体。

(4) 共聚 共聚可以产生具有不同性质的多种聚合物。表 1-3-1 给出了各种二酯共聚体反应的一些参数。

表 1-3-1 L-二酯与其他单体的共聚参数

| 其他单体  | $r_1^a$ | $r_2^a$ | 引发剂   | 温度/℃ |
|-------|---------|---------|---|------|
| 乙二酯   | 0.35    | 2.7     | SnCl <sub>2</sub>                               | 170  |
| 乙二酯   | 0.9     | 10.5    | CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> | 70   |
| 乙二酯   | 0.5     | 14.0    | CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> H               | 70   |
| 乙二酯   | 0.2     | 2.8     | SnO <sub>CT</sub>                               | 200  |
| ε-己内酯 | 57.1    | 0.39    | SnO <sub>CT</sub>                               | 80   |
| ε-己内酯 | 42.0    | 0.36    | SnO <sub>CT</sub>                               | 110  |
| ε-己内酯 | 34.9    | 0.24    | SnO <sub>CT</sub>                               | 130  |
| ε-己内酯 | 17.9    | 0.58    | Al(OiPr) <sub>3</sub>                           | 70   |
| 丙烯酸盐  | 0.46    | 5.6     | SnO <sub>2</sub>                                | 170  |

注： $r_1$ —自身单体合成速率； $r_2$ —与其他单体合成速率。

从 L-丙二酯和乙二酯制备的结晶共聚物已被发现可以广泛的用于医疗缝合线。三元共聚物树脂是一种丙二酯和乙二酯共聚酯，其被用作熔点为 210℃ 左右、玻璃折光率 1.43 的半晶体材料。无定形的 L-丙二酯、D,L-丙二酯和乙二酯的共聚物用于生物相容和生物可降解的药物传递系统材料有很大的潜力。丙二酯和乙二酯的共聚通常在水体系中进行，温度在 170~200℃，以一些金属盐如锡和锌盐作为引发剂。关于丙二酯和乙二酯共聚物的合成、微结构和光学旋转性等已有大量的研究。

丙二酯和 ε-己内酯共聚成的弹性共聚体和热塑共聚体被认为可用于生物医药。由于丙二酯和 ε-己内酯的辛酸锡作为催化剂的开环聚合反应，与一般反应有大的差别，因而得到的共聚物结构结实。改变聚合温度，可以得到不同平均链长度的共聚物。实际上，平均单体链长度对这些共聚物的热性质和机械性能有很大的影响。

很高分子量摩尔、表观粘度达 9.9dl/g 的共聚物可以在以锡 2-己酸乙酯为催化剂，L-丙二酯和 ε-己内酯的比例 50:50 的条件下，进行开环聚合反应得到。这种共聚物有非随机的单体分布，形成 L-丙二酯长结晶链。这些结晶区使得材料具有良好的机械性能，从而强度高、可降解、有弹性，适用于生物医药，如神经传导。当丙二酯含量低于或达到 40wt% 时，这种共聚物很容易与 PVC 混合。

## 二、含聚乳酸的共聚物

### 1. 无功能侧基的共聚物

冯新德等为了延长乳酸类聚合物的降解时间，同时也为了调整羧族类药物在该类基材中的扩散系数，利用双金属引发剂能引发 LA、GA 和 ε-CL 活性聚合的特点，成功地制备了一系列二及三嵌段共聚物：PCL-b-PDLLA，PCL-PDLLA-PGA，PCL-PGA-PDLLA，

还通过异氰酸酯偶联的方法制备了 PCL—PDLLA—PCI 等。这些嵌段共聚物在结构上具有微相分离，也有一定的相容性。由于嵌段共聚物的降解周期居于各均聚物之间，能通过调节嵌段成分之比例来控制降解行为，使降解周期从几周到几年，并提出了双重释放机理。在甾族类药物的释放上，初期由于药物在 PCL 相的渗透性强，而在 PI, A 相的渗透性差，主要是从 PCL 相扩散到环境，而随时间的增加，PLA 或 PGA 相开始侵蚀后渗透性增加，从而使药物从 PLA 相的扩散增加，弥补了由于 PCL 相药物浓度的降低而造成此相药物释放量的减少。在 CL 含量为 60%~65% 时，这种互补得到平衡，在 120d 左右微球释药为零级恒速释放。由该 4 种嵌段共聚物制备的含甾族类药物微球，经长时间洗涤后，可以避免暴释行为，释放能基本符合零级释放。上述工作表明这类嵌段共聚物是理想的甾族类药物的长效缓释基材。就 D,L-LA 和 GA 开环聚合活性而言，两者是有较大差距的。在辛酸亚锡作引发剂的体系中，当生长链末端为乙交酯单元时，引发乙交酯增长的几率同丙交酯的相比是 3:1，而当生长链末端为丙交酯单元时，该比率上升为 5:1；而在双金属引发体系中，所测竞聚率结果为： $\gamma_{GA} = 3.3$ ， $\gamma_{D,L-LA} = 0.13$ 。因此，在乙交酯与丙交酯投料比各半的共聚中，实际上先是大于 90% 乙交酯成分的共聚，而后乙交酯成分逐渐减少至零，所剩丙交酯聚合成聚丙交酯 (PLA)，从而得到嵌段共聚物。在辛酸亚锡作用下本体开环聚合得到羟基乙酸和 DL-乳酸的交替共聚物，所得产物  $^1\text{H-NMR}$  表征结果表明只有一种序列结构，即开环总是在无空间位阻的一侧酰氧键断裂所成。

PLA 作为少数已被美国 FDA 批准的生物降解性生物医用材料，已有系列产品批准上市。目前，美国 Medisorb 公司、Birmingham-Polymers 公司及德国 Boehringer Ingelheim 公司的产品主要为不同分子量的 PDLLA 或 PLLA，不同组分比、不同分子量的 PLGA，供科研和医药生产使用。B.I.Chemical 公司新近又推出一种结构明确的含端羧基的 PLGA，如 RG502H。至于这些产品的制备方法，除了在法国是用金属锌粉末引发本体聚合，其余均无详细报道，可能均用辛酸亚锡引发聚合。

PLGA 类商品已被广泛地应用于多肽和蛋白类药物的释放。蛋白类药物从 PLGA 类基体中的释放受许多尚未彻底理解的因素所影响，其中蛋白的凝集和失活是亟待解决的问题。根据不同分子量不同亲水性多肽或蛋白从 PLGA 微球中的释放结果，其释放行为可以描述为：起始暴释相（孔扩散机理），然后休眠至基体腐蚀开始质量变化（聚合物基体腐蚀控制）。目前用 W/O/W 法制成的微球载药量较低，此时 PLGA 的憎水性影响了水的渗透，结果形成了一个含水量低的酸性微环境，这种微环境容易导致蛋白的凝集和失活。另外，该方法所制得的含水溶性蛋白药物也难以维持长效和恒速释放。为了解决不连续释放（即两相或多相释放）以及释放过程中的蛋白的凝集和失活，增加 PLGA 基体的亲水性及加速聚合物基体的降解速率被认为是两项有力的措施。

PEG 由于端基结构确定（如两羟端基），不同分子量的 PEG 易于得到，更由于在 PEG-多肽或蛋白大分子药物中的良好表现，于是 PEG 作为亲水组分被引入到 PLGA 类聚酯中。李又欣等采用两羟端基 PEG 与异丙醇铝反应制成大分子引发剂后，分别引发 LLA 或 LA + GA 得到 ABA 三嵌段共聚物，其中 A 为 PLLA 或 PLGA，B 为 PEG。结构方面，用小角 X 射线衍射研究发现存在微相分离现象。热性能方面，PLLA 含量从 30%~70% 的共聚物均未发现  $T_m$ 。亲水性能的改变是相当明显的：PLLA 或 PLGA 在 100min 内吸水量为 6%~7%，ABA 共聚物在同样时间内为 70%~200%。ABA 三嵌段共聚物作为蛋白药物投放体系的基体，由于具备迅速膨胀以及较高的吸水能力，能为蛋白创造一种更稳定的生存环境。而且膨

胀了的孔结构使离子迅速交换成为可能，于是在微球内就形成了中性微环境，这些也能阻止敏感蛋白的凝聚和失活。另外，PEG嵌段本身也能提高蛋白的稳定性。在药物释放上，通过对红细胞色素（分子量 13000）、卵清蛋白（43000），以及破伤风类毒素（150000）在 ABA 三嵌段共聚物的微球中的释放行为研究，发现释放具连续性和分子量依赖性。认为释放机理是由膨胀和侵蚀双重控制的。由于这类材料的优异性能，还报道了多种制备方法，例如：以辛酸亚锡代替前述的异丙醇铝制得同样的 ABA 三嵌段共聚物；为了避免这些引发剂残余物的负作用，即制得纯净的材料，文献中用的是双经端基 PEG 和 LA 直接缩合聚合，不足之处是聚合时间太长。Vert 及其合作者出于同样的原因采用 Zn 或  $\text{CaH}_2$  分别制得短 A 和长 A (A 为 PLLA) 的 ABA 三嵌段共聚物 (B 为 PEG)。但作为生物材料，PEG 也存在一些不足。在 20 世纪 70 年代就有人提到 PEG 产生的过氧化物及其对药物的影响。冯新德等人的研究表明：聚醚的模型化合物的初始暗氧化过程是通过氧电荷接触转移络合物 ( $\text{O}_2\text{-CCT}$ ) 得以实现的。总之，目前尚没有关于 PEG 毒性和体内排出效率的完整研究结果。

Kissel 小组还制备了一系列含侧羟基聚合物（如聚乙烯醇、环糊精及其乙酸酯）接枝 PLGA 的共聚物。这些共聚物的共同点是：结构上是主链亲水而侧链憎水的体系；降解性能和释放多肽药物行为均类似于含 PEG 的 ABA 三嵌段共聚物。最近，Kissel 等用聚电解质和二乙基氨基乙基环糊精氯化物和环糊精的硫酸钠盐在辛酸亚锡作用下引发 LA 或 LA + GA 本体聚合，制得一系列短刷状接枝共聚物。认为聚电解质主链除了增加体系的吸水性，进而加速降解和释放药物外，还可能由于电荷的存在而增加载药量和调节多肽、蛋白药物的释放行为。

真正的多糖接枝 PLLA 是由 Ohya 小组前不久完成的，其方法是：先用 TMS（三甲基氯硅烷）保护支链淀粉的绝大多数羟基，在四氢呋喃中与叔丁醇钾反应，糖链上残存的羟基转化为醇钾，进而引发 LLA 接枝共聚。脱保护是在氯仿和甲醇混合溶剂中搅拌 48h 完成的。该方法既温和又高效，且无副反应。同前者的工作相比，该体系中多糖的羟基除了接枝部分外均得以保持，也就是保持了糖的本性。

$\alpha$ -羧基羧酸与  $\alpha$ -氨基酸的共聚物被称为聚酯酰胺，这类聚合物的主链中既含有酯键又有酰胺键，其性能与聚  $\alpha$ -羟基羧酸及聚  $\alpha$ -氨基酸均有相当的不同。这些聚合物起先是由含酯-肽的化合物通过缩聚制得的，尔后环单体吗啉二酮衍生物（ $\alpha$ -羟基羧酸与  $\alpha$ -氨基酸的环状二聚体）的开环聚合取代了缩合聚合。当这类环单体的二位取代基是甲基时，开环均聚就能得到乳酸与不同  $\alpha$ -氨基酸的交替共聚物。Hocker 对这类单体的合成，特别是旋光性的变化与保持以及开环反应做了详细的评述和改进，使反应条件更温和，环单体保持原构型。在保证单体纯度的前提下（高效液相色谱证明），研究了辛酸亚锡用量与单体转化率及聚合产物分子量的关系，发现单体和辛酸亚锡用量比为 125/1 或 250/1 时，能够得到较高分子及高转化率的聚合产物。在同样条件下，用辛酸亚锡引发本体聚合，单体 A 对应的聚合物的 GPC 结果为  $M_n$ : 29500,  $d$ : 1.24；单体 B 对应的聚合物的 GPC 结果为  $M_n$ : 44500,  $d$ : 1.63，这可能是空间位阻效应。

作为生物医用的聚碳酸酯，研究较多的是三亚甲基碳酸酯（TMC）及二甲基三亚甲基碳酸酯（DTC）的均聚物。例如，脂肪族碳酸酯和乳酸的共聚物表现出良好的生物相容性和机械性能，TMC 和 LA 以辛酸亚锡作引发剂，160 本体聚合 6h，制得的共聚物溶于普通的有机溶剂，平均分子量约 90000，体内彻底降解周期为一年。DTC 和 LA 分别是在二乙基锌及二甲氧基二丁基锡引发下制得的无规共聚物。聚合特征是：LA 先进行快聚合，然后是