

Poly(dialkyyliamino-  
etyylimetakrylaattien)  
faasikäyttäytyminen  
vedessä

Linda Ira Elisabet Salminen

Pro gradu -tutkielma

Helsingin yliopisto

Kemian laitos

Polymeerien ja kolloidien laboratorio

Toukokuu 2018

Tiedekunta – Fakultet – Faculty		Koulutusohjelma – Utbildningsprogram – Degree programme
Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta		Kemian koulutusohjelma
Tekijä – Författare – Author		
Linda Ira Elisabet Salminen		
Työn nimi – Arbetets titel – Title		
Poly(dialkyliaminoetyylimetakrylaattien) faasikäyttäytyminen vedessä		
Työn laji – Arbetets art – Level	Aika – Datum – Month and year	Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages
Pro gradu -tutkielma	Toukokuu 2018	75
Tiivistelmä – Referat – Abstract		
<p>Työssä syntetisoitiin poly(di-isopropyyliaminoetyylimetakrylaattia) ja tutkittiin sen alemman kriittisen liuoslämpötilan riippuvuutta puskurista, pH:sta ja ionivahvuudesta. Lisäksi valmistettiin dimetyyliaminoetyylimetakrylaattista ja di-isopropyyliaminoetyylimetakrylaattista koostuva lohkopolymeeri ja tutkittiin sen pH- ja lämpöherkkyyttä.</p> <p>Kaikki polymeerit syntetisoitiin reversiibelillä additio-fragmentaatio ketjunsiiro -polymeroinnilla ja karakterisoitiin NMR-spektroskopiolla ja kokoeksklusiokromatografisesti. Poly(di-isopropyyliaminoetyylimetakrylaatin) faasitransitioita tutkittiin transmittanssimittauksin, differentiaalisella pyyhkäisykalorimetrialla, valonsironnalla ja fluoresenssimittauksin. Faasitransitioita seurattiin eri pH-arvoissa, puskuriliuoksissa ja ionivahvuuksissa. Lisäksi tutkittiin bis(trifluorometyylisulfonyyli)imidi-ionien lisäyksen vaikutusta polymeerin liuoskäyttäytymiseen.</p> <p>Tärkeä havainto oli, että poly(di-isopropyyliaminoetyylimetakrylaatilla) ei havaittu faasitransitioita puhtaassa vedessä. Faasien erottumisen nähtiin riippuvan voimakkaasti liuoksen pH-arvosta, käytetystä puskurista ja/tai ionivahvuudesta. Mahdollisissa jatkotutkimuksissa olisi suositeltavaa tutkia myös moolimassan vaikutusta polymeerin käyttäytymiseen. Sitraatin käyttö puskurina johti teräviin ja helposti havaittaviin transitioihin. Fosfaattilla puskuroidulla poly(di-isopropyyliaminoetyylimetakrylaatilla) havaittiin myös transitio, mutta laajemmalla lämpötilavälillä hystereesin ollessa huomattavaa. Koska sitraatin ionivahvuus on fosfaattia suurempi, mitattiin natriumkloridia käyttäen mittaussarja, jossa ionivahvuus ylitti sitraatilla puskuroitujen näytteiden ionivahvuudet merkittävästi. Koska kyseisen mittaussarjan transitiot olivat vielä heikompia, voitiin päätellä, ettei kyse ollut yksinomaan ionivahvuudesta. Pääteltiin, että syy piilee puskurin ja polymeerin välisissä vuorovaikutuksissa; mahdollisesti puskurin kyvystä vastaanottaa protoneita faasitransition aikana ja siten edesauttaa faasierottumista.</p> <p>Bis(trifluorometyylisulfonyyli)imidilisyksen nähtiin vaikuttavan polymeerin liuoskäyttäytymiseen. Kun lisäys oli riittävä ja liuoksen pH matala, havaittiin ylemmän kriittisen liuoslämpötilan faasikäyttäytymistä. Kun anionin pitoisuus oli pieni ja/tai kun liuoksen pH oli korkeampi, polymeerilla havaittiin alempi kriittinen liuoslämpötila.</p> <p>Lohkopolymeerin niin ikään nähtiin olevan pH- ja lämpöherkkä ja mahdollisesti muodostavan misellejä pH:n ja lämmön vaikutuksesta.</p>		
Avainsanat – Nyckelord – Keywords		
PDiPrAEMA, RAFT, kriittinen liuoslämpötila		
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited		
Kumpulan kampuskirjasto, E-thesis		
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information		

## Sisällysluettelo

<b>Lyhenteet</b> .....	
<b>Kirjallisuusosa</b> .....	<b>1</b>
<b>1. Johdanto</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Lämpöherkät polymeerit vedessä</b> .....	<b>3</b>
2.1. Kriittiset liuoslämpötilat .....	3
2.2. Kopolymeerit .....	6
2.3. Vastaionin vaikutus ylempään kriittiseen liuoslämpötilaan.....	9
<b>3. Poly(dialkyyliaminoetyylimetakrylaatit)</b> .....	<b>10</b>
3.1. Yleisimmistä poly(dialkyyliaminoetyylimetakrylaateista) .....	10
3.2. Poly(dimetyyliaminoetyylimetakrylaatin) sovelluskohteita.....	13
<b>4. Reversiibeli additio-fragmentaatio ketjunsiiro -polymerointi</b> .....	<b>16</b>
<b>Kokeellinen osa</b> .....	<b>21</b>
<b>5. Synteetit</b> .....	<b>21</b>
5.1. Materiaalit .....	21
5.2. Polymeroinnit .....	21
<b>6. Analyysit</b> .....	<b>23</b>
6.1. Näytteiden valmistaminen .....	23
6.2. Laitteistot ja mittaukset .....	24
<b>7. Tulokset</b> .....	<b>25</b>
7.1. Synteetit .....	25
7.2. Transmittanssimittaukset.....	32
7.3. DSC.....	38
7.3.1. PDiPrAEMA.....	38
7.3.2. Lohkopolymeeri ja PDMAEMA.....	46
7.4. Fluoresenssi .....	50
7.5. Valonsirontamittaukset .....	59
7.6. Ylemmän kriittisen lämpötilan mittaukset.....	66
<b>8. Yhteenveto</b> .....	<b>68</b>
<b>9. Viitteet</b> .....	<b>70</b>

## Lyhenteet

AA	Akryylihapo
AIBN	Atsoisobutyronitriili
ATRP	Atominsiirtoradikaalipolymerointi
BMA	Butyylimetakrylaatti
CMCS	Karboksimetyylikitosaani
CPA	4-syano-4-fenylikarbonyylitiopentaanihap
CTA	Ketjungsiirtäjä
$DP_{\text{theor}}$	Teoreettinen polymeroitumisaste
DSC	Differentiaalinen pyyhkäisykalorimetria
EGDMA	Etyleeniglykolidimetakrylaatti
I	Sirontaintensiteetti
$I^{\bullet}$	Initioiva radikaali
$k_{\text{add}}$	Addition nopeusvakio
$k_{\beta}$	Esitasapainon nopeusvakio
$k_i$	Initiaation nopeusvakio
$k_p$	Propagaation nopeusvakio
LCST	Alempi kriittinen liuoslämpötila (engl. lower critical solution temperature)
$\text{LiNTf}_2$	Litiumbis(trifluorometyylisulfonyyli)imidi
M	Monomeeri
$M_n$	Lukukeskimääräinen moolimassa
$M_w$	Painokeskimääräinen moolimassa
NMP	Nitroksidivälitteiden polymerointi

NMR	Ydinmagneettinen resonanssi
PAA	Polyakryylihapo
PrAA	Propyyliakryylihapo
PCL	Polykaprolaktoni
PDEAEMA	Poly(dietyyliaminoetyylimetakrylaatti)
PDiPrAEMA	Poly(di-isopropyyliaminoetyylimetakrylaatti)
PDMAEMA	Poly(dimetyyliaminoetyylimetakrylaatti)
$P_m^\bullet$	Polymeerinen radikaali, jonka polymeroitumisaste on m
$P_n^\bullet$	Polymeerinen radikaali, jonka polymeroitumisaste on n
PNIPA	Poly(N-isopropyyliakryyliamidi)
POSS	Polyhedraali oligomeerinen silsesquiksaani
PSBMA	Poly(sulfobetainimetakrylaatti)
PVPBA	Poly(vinyylifenyyliboronihapto)
$R^\bullet$	Uudelleeninitioiva radikaali
$R'^\bullet$	Radikaaliaddition aikana muodostunut välituote
RAFT	Reversiibeli additio-fragmentaatio – ketjunsiiro
RDRP	Reversiibeliin deaktivaatioon perustuva radikaalipolymerointi
SEC	Kokoeksklusiokromatografia
$T_c$	Samentumispiste
$T_{max}$	Transition maksimilämpökapasiteetin lämpötila
$T_m$	Transition minimilämpökapasiteetin lämpötila
$T_{onset}$	Transition alun lämpötila
THF	Tetrahydrofuraani
TBAB	Tetrabutyyliammoniumbromidi

UCST	Ylempi kriittinen liuoslämpötila (engl. upper critical solution temperature)
UV	Ultravioletti
$\Delta H$	Transition entalpiamuutos

# Kirjallisuusosa

## 1. Johdanto

Ärsykeherkät polymeerit muuttuvat ympäristönsä vaikutuksesta. Tällaisten polymeerien liuokset reagoivat johonkin ulkopuoliseen ärsykkeeseen, kuten lämpöön, sähköön, pH:n, mekaanisiin tai optisiin ärsykkeisiin.<sup>1</sup>

Ärsykeherkkiä polymeereja voidaan kutsua myös älykkäiksi tai ympäristöherkiksi.<sup>2</sup> Lämpö- ja pienemmässä määrin pH-herkkyys ovat tarkastelun kohteina tässä kirjallisuuskatsauksessa.

Lämpöherkät polymeerit voidaan jakaa kahteen alaluokkaan; näistä enemmän on tutkittu alemman kriittisen liuoslämpötilan (LCST, engl. lower critical solution temperature) omaavia polymeereja. Tällaiset polymeerit ovat vesiliukoisia matalissa lämpötiloissa, mutta muuttuvat veteen liukenemattomiksi lämpötilaa nostettaessa. Toiseen lämpöherkkien polymeerien luokkaan kuuluvat polymeerit, joilla on ylempi kriittinen liuoslämpötila (UCST, engl. upper critical solution temperature). UCST-polymeereilla on faasitransitio liukoisesta tilasta liukenemattomaan, kun liuosta jäähdytetään.<sup>1</sup>

Toinen yleinen ärsykeherkkien polymeerien tyyppi on pH:n muutoksiin reagoivat polymeerit. pH-herkkien polymeerien liukoisuus tai konformaatio muuttuu liuoksen happamuuden funktiona.<sup>1</sup> Polymeeri luokitellaan pH-herkäksi kun se sisältää ryhmiä, jotka voivat vastaanottaa ja luovuttaa protoneita ympäristön pH:n muuttuessa.<sup>3</sup> Esimerkiksi poly(dimetyyliaminoetyylimetakrylaatti) (PDMAEMA) on heikko polyemäs, mistä johtuen pH:n muutokset vaikuttavat sen ominaisuuksiin. PDMAEMA:n toistuvat yksiköt ovat protonoituneita matalissa pH-arvoissa, mutta sen varautuneisuusaste laskee, kun se deprotonoituu pH:n noustessa.<sup>4</sup> Kiinteissä kasvaimissa on hapan mikroympäristö niiden nopean aineenvaihdunnan vuoksi. Näin ollen pH-herkkiä polymeereja voidaan hyödyntää esimerkiksi lääkeaineiden annostelussa.<sup>5</sup>

Ärsykeherkkiä polymeereja on tutkittu moniin sovelluksiin; näihin lukeutuvat muun muassa hydrogeelit, aktuaattorit ja membraanit. Kenties laajimmin tutkittu lämpöherkkä polymeeri on poly(N-isopropyyliakryyliamidi) (PNIPA), koska sen alempi kriittinen lämpötila on vedessä lähellä ruumiinlämpöä – noin 32 °C. Nykyään suuremman mielenkiinnon kohteena ovat olleet useamman ärsykevasteen omaavat polymeerit.<sup>6</sup> Lämpötilan muutoksen aiheuttama faasimuutos voi liittyä läheisesti polymeerin muihin ärsykeherkkyyksiin. Esimerkiksi edellä mainitun PDMAEMA:n faasikäyttäytyminen riippuu sekä pH:sta että lämpötilasta.<sup>7</sup> Useamman ympäristöherkkyyden läsnäolo mahdollistaa älykkään materiaalin ominaisuuksien hienovaraisen säätämisen.

Kirjallisessa osiossa kerrotaan lämpöherkkien polymeerien liuoskäyttäytymisestä ja muutamien yleisimmin tutkittujen poly(dialkyyliaminoetyylimetakrylaattien) ominaisuuksista ja sovelluskohteista. Tämän jälkeen tarkastellaan reversiibeliä additio-fragmentaatio-polymerointia (RAFT), jota käytettiin kokeellisen osion polymeroinneissa.

Tutkimusosassa käsitellään poly(di-isopropyyliaminoetyylimetakrylaatin) (PDiPrAEMA) faasitransitioita eri puskureissa ja suolapitoisuuksissa. PDiPrAEMA:n lisäksi tarkastellaan PDMAEMA-PDiPrAEMA -lohkopolymeerin faasikäyttäytymistä.

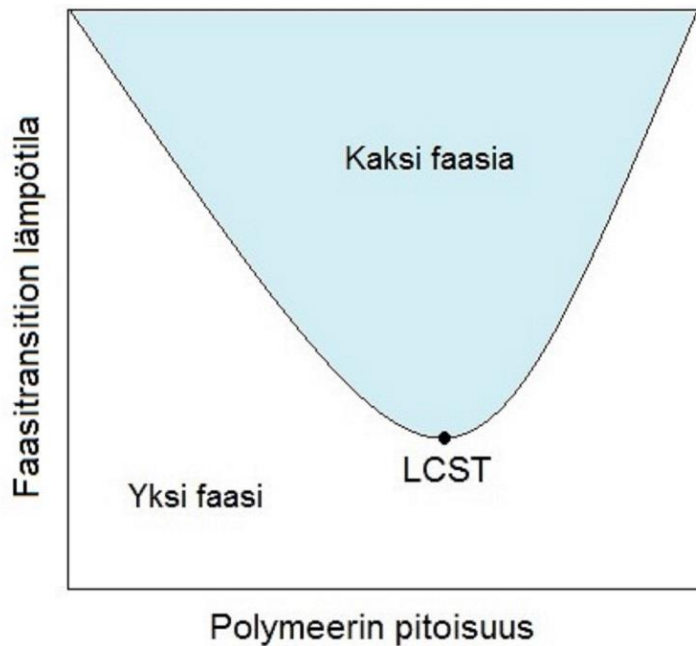


## 2. Lämpöherkät polymeerit vedessä

### 2.1. Kriittiset liuoslämpötilat

Ärsykeherkkien polymeerien konformaatiot muuttuvat jonkin ulkoisen ärsykkeen vaikutuksesta. Lämpöherkät polymeerit jaetaan kahteen alaluokkaan: LCST- ja UCST-polymeerit.<sup>7</sup> Lämpöherkkien polymeerien konformaatiot liuoksessa muuttuvat niiden kriittisten lämpötilojen alueilla. Alemman kriittisen liuoslämpötilan (LCST) polymeerit ovat polymeereja, joiden liukoisuus laskee merkittävästi niille kriittisen lämpötilan yläpuolella.<sup>8</sup> On kuitenkin huomattava, että kaikkien polymeerien liukoisuus riippuu lämpötilasta. Lämpöherkillä - ja ärsykeherkillä polymeereilla yleensä ottaen - tarkoitetaan polymeereja, joiden ominaisuudet muuttuvat merkittävästi pienen ärsykkeen vaikutuksesta.<sup>2</sup> Lämpöherkät polymeerit, joilla on ylempi kriittinen liuoslämpötila (UCST), ovat polymeereja, jotka faasierottuvat jäähdyttäessä. Pieni osa lämpöherkkiä polymeereja käsittelevistä artikkeleista koskee UCST-tyyppin polymeereja.<sup>9</sup> Polymeerit, joilla on LCST vedessä, ovat suuren kiinnostuksen kohteina niiden hydrofiilisyyden helpon säädeltävyyden vuoksi.<sup>10</sup>

Polymeeriliuosten faasikäyttäytymistä voidaan kuvata faasidiagrammilla. Tyypillisesti tällaisessa diagrammissa on esitetty faasitransition lämpötila polymeerin konsentraatiota vastaan. LCST-tyyppisesti käyttäytyvän polymeerin faasikäyttäytymistä voidaan kuvata kuvan 2.1 mukaisesti. On huomattava, että LCST ja UCST ovat faasidiagrammin maksimi- ja minimikohtia. Ne ilmenevät siis tietyssä, kriittisessä polymeerin pitoisuudessa. Esimerkiksi LCST on piste, jonka alapuolella polymeeri on liukoinen kaikissa pitoisuuksissa. Muita faasimuutoksen pisteitä kutsutaan samentumispisteiksi.<sup>9</sup>



**Kuva 2.1.** Hahmotelma LCST-käyttäytyvän polymeerin faasidiagrammista. Kuva on muokattu lähteestä 10.

Vedessä LCST-käyttäytyvien polymeerien hydrofiilisyyden muuttuu lämpötilan muuttuessa. Äkillinen muutos hydrofiilisestä tilasta hydrofobiseen johtuu polymeerin ja sitä ympäröivien vesimolekyylien välisistä vetysidoksista. Matalissa lämpötiloissa polymeeriketjut ovat sitoutuneet vesimolekyyliin vetysidoksin ja siksi liuenneessa tilassa. Tällöin polymeeri-liuotin -systemi on yhdessä faasissa. Kun lämpötila nousee, polymeerin ja veden väliset vetysidokset heikkenevät, polymeeriketjut dehydratoituvat osittain, niiden liukoisuus veteen heikkenee ja polymeeri aggregoituu. Tarkemmin ottaen LCST johtuu kahden kontribuution välisestä kilpailusta. Näistä ensimmäinen on polymeeriin sitoutuneen liuottimen entropian menetys ja toinen sitoutuneiden ja vapaiden liuotinmolekyylien välinen energiaero. Matalissa lämpötiloissa liuotinmolekyylit sitoutuvat polymeeriketjuun ja polymeeri on vyyhtimäisessä muodossa. Tällöin polymeeri on energisesti edullisessa tilassa. Korkeissa lämpötiloissa sitoutuneen tilan entropian menetys on kuitenkin energisesti suurempi ja liuotinmolekyylien vuorovaikutukset polymeeriketjun kanssa heikkenevät. Tällöin polymeerin hydrofobinen runko ja muut polymeerin poolittomat ryhmät alkavat vuorovaikuttaa voimakkaammin keskenään. Tästä seuraa sekä molekyylin

sisäistä että molekyylien välistä aggregaatiota ja lopulta polymeerin saostuminen tai jos polymeerin konsentraatio on riittävän alhainen, voi muodostua kolloidaalisesti stabiileja partikkeleja. Yksinkertaisemmin sanottuna LCST:ssa polymeeri muuttuu entalpisesti suotuisasta muodosta entrooppisesti suotuisaan. Tämä laskee systeemin vapaata energiaa (free energy).<sup>2-3, 10-11</sup>

LCST-tyyppin polymeerin saostuminen on reversiibeli prosessi. Kun lämpötila lasketaan takaisin samentumispisteen alapuolelle, polymeeri liukenee uudelleen. Koska veden diffuusio LCST:n yläpuolella muodostuneisiin aggregaatteihin on rajallista, liukeneminen on hidasta. Siitä johtuen kirkastumispiste on useasti samentumispistettä alempana. Tätä samentumis- ja kirkastumispisteiden eroa kutsutaan hystereesiksi.<sup>2</sup>

Vedessä UCST-tyyppisesti käyttäytyviä polymeereja on vähän.<sup>12</sup> Teoriassa suurin osa polymeereista omaa sekä LCST:n että UCST:n tietyssä liuottimessa. Voi kuitenkin olla, että faasitransitio ei ilmene alueella, jossa liuotin on nestemäisessä olomuodossaan.<sup>9</sup> Sovelluksia silmällä pitäen halutaan tavanomaisesti tutkia polymeereja, joiden faasitransitiot ilmenevät vedessä välillä 0-100 °C.

UCST-faasitransitio on erilainen kuin LCST-systeemeissä. Polymeerien UCST-käyttäytyminen vedessä määräytyy vahvojen supramolekulaaristen vuorovaikutusten mukaan.<sup>7</sup> Useasti UCST-faasitransitio havaitaan, kun polymeeri-polymeeri- tai liuotin-liuotin -vuorovaikutukset ovat polymeeri-liuotin -vuorovaikutuksia hallitsevampia.<sup>13</sup> UCST-polymeerit ovat yleensä kahtaisioneja tai vetysidosten luovuttajia ja vastaanottajia.<sup>12</sup> Kahtaisionisten polymeerien ja polyelektrolyyttien UCST-käyttäytyminen on vahvasti Coulombin vuorovaikutusten määräämää. Lisäksi niiden lämpöherkkyys on vahvasti riippuvaista muun muassa moolimassasta, suolojen läsnäolosta ja ionivahvuudesta.<sup>14</sup>

Viime vuosien aikana on kiinnitetty enemmän huomiota ei-ionisiin polymeereihin, joiden faasitransitiot määräytyvät vetysidosten mukaan.<sup>14</sup> Ei-ionisten polymeerien UCST-transitio ei ole yhtä herkkä ioneille tai liuoksen ionivahvuudelle.<sup>15</sup> Niiden faasitransitio riippuu polymeerin sivuryhmien muodostamista vetysidoksista. Kun lämpötila nousee,

sivuryhmien väliset vetysidokset katkeavat, minkä jälkeen muodostuu vetysidoksia veden kanssa. Muodostuneet vetysidokset tekevät polymeerista vesiliukoisen.<sup>7</sup>

## 2.2. Kopolymeerit

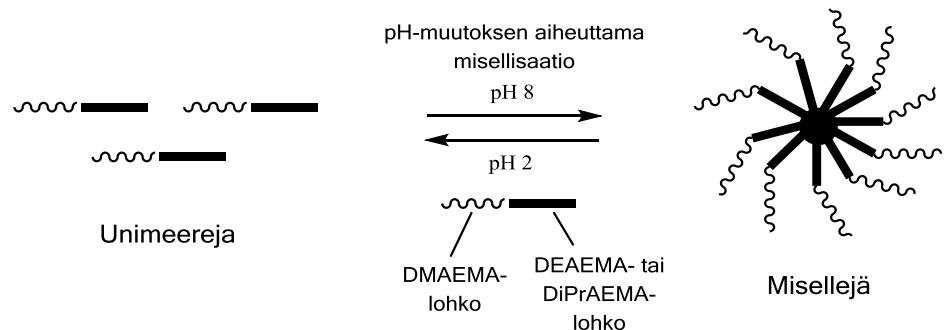
Vesiliukoisten, lämpöherkkien polymeerien faasimuutosten lämpötiloja voidaan säätää esimerkiksi lisäämällä ketjuun hydrofiilisiä tai hydrofobisia osia. Näin on tehty esimerkiksi kopolymeroimalla muiden monomeerien tai esimerkiksi ioninesteiden kanssa.<sup>16, 8</sup>

Se, että polymeeri reagoi useisiin ärsykkeisiin, on hyödyllistä sovellusten kannalta. Kun ärsykeherkkyksiä on useampia, voidaan saada aikaan hienovaraisia ja hyvin ennustettavia konformaation muutoksia. Koska monomeerit, joiden homopolymeereilla on useampia herkkyksiä ovat harvinaisia, päädytään useasti kopolymeroimaan erilaisille ärsykeille herkkiä monomeereja.<sup>17</sup> Schilli *et al.*<sup>18</sup> ovat syntetisoineet lohkopolymeerin, joka koostuu polyakryylihaposta ja poly(N-isopropyyliakryyliamidista) (PNIPA-b-PAA). Valmistettu polymeeri reagoi lämpötilan ja pH:n muutoksiin. Polyakryylihapo on polymeeri, joka reagoi sekä pH:n että ionivahvuuden muutoksiin. PNIPA taas on LCST-tyyppinen lämpötilan muutoksiin reagoiva polymeeri. Havaittiin, että kahden eri ärsykeeseen reagoivan monomeerin yhdistäminen aikaansai systeemin, jolla oli molemmat ärsykeherkkydet.<sup>18</sup>

Kopolymeerien hydrofiilisyys-hydrofobisuus -tasapaino määrää niiden LCST:n. Useasti hydrofobisten monomeerien kopolymeroiminen lisää polymeerin hydrofobisuutta ja laskee faasitransition lämpötilaa. Vastaavasti hydrofiilisen monomeerin lisääminen nostaa LCST:a.<sup>19</sup> Esimerkiksi Han *et al.*<sup>20</sup> ovat tutkineet PDMAEMA-b-PAA -lohkopolymeerien koostumuksen vaikutusta sen pH- ja lämpövasteisiin. DMAEMA kopolymeroitiin akryylihapon (AA) kanssa. Polymeerien faasitransition lämpötilaa ja aggregoitumis-liukenemis-käyttäytymistä voitiin hienosäätää polymeerin hydrofiilisyys-hydrofobisuus -tasapainoa säätelemällä. Hydrofiilisyys-hydrofobisuus -tasapainoa taas voitiin säätää usein menetelmin;

polymeerien moolimassojen, liuoksen pH:n ja kopolymeerin koostumuksen avulla. Kun PDMAEMA-ketjut olivat AA-ketjuja pidempiä, LCST:n arvo laski ja polymeeri pyrki muodostamaan misellejä. Vastaavasti PAA:n – ja siten hydrofiilisyyden – lisääminen nosti LCST:n arvoa.<sup>20</sup>

Lohkopolymeerien itsejärjestymistä (self-assembly) voidaan hyödyntää nanoskaalan misellien valmistamisessa.<sup>21</sup> Bütün *et al.*<sup>22</sup> ovat kopolymeroineet DMAEMA:a DEAEMA:n ja DiPrAEMA:n kanssa. Hienovaraiset erot monomeerien hydrofiilisyyksien välillä johtivat misellien muodostumiseen pH:ta nostettaessa. Molempien valmistettujen lohkopolymeerien (PDMAEMA-PDEAEMA ja PDMAEMA-PDiPrAEMA) lohkot ovat happamassa liuoksessa hydrofiilisiä. Kun pH-arvo on korkeampi, PDMAEMA-lohko pysyy hydrofiilisenä, mutta sekä PDEAEMA että PDiPrAEMA ovat hydrofobisia. Näin ollen havaitaan misellejä, joiden ytimen hydrofobisempi lohko muodostaa (Kuva 2.2).<sup>22</sup> Näin tapahtuu siksi, että käytetyillä monomeereilla on samanlaiset ärsykevasteet, mutta eri pH-alueilla.<sup>6</sup>

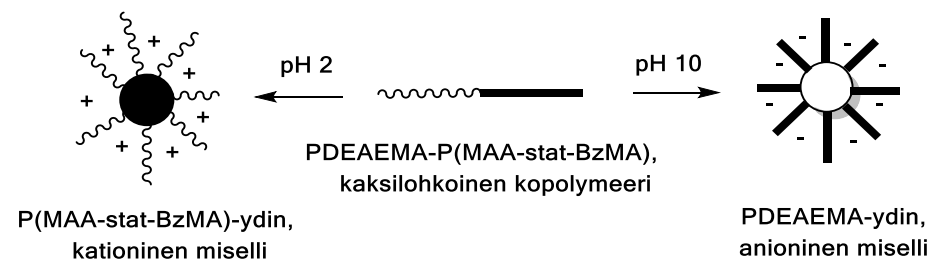


**Kuva 2.2.** pH-muutoksen aiheuttama misellien muodostuminen DMAEMA-DEAEMA- ja DMAEMA-DiPrAEMA -lohkopolymeereilla.<sup>22</sup>

Kahtaislämpöherkät (dual thermoresponsive) polymeerit ovat polymeereja, joilla on sekä LCST että UCST. Tällainen polymeeri voi olla esimerkiksi lohkopolymeeri, jonka konformaatiota ja itseasettumista (self-assembly) voidaan säätää lämpötilan avulla.<sup>23</sup> Kun lohkopolymeerin kumpikin lohko on ärsykeherkkä, ne voivat tietyissä tapauksissa muodostaa kahdenlaisia misellejä. Tällaisia polymeereja kutsutaan skitsofreenisiksi. Toisin sanoen skitsofreenisen polymeerin misellin ydin ja korona vaihtavat asemia

olosuhteiden muuttuessa. Kun UCST on LCST:a pienempi, polymeeri on täysin liukoinen UCST-LCST -välillä, mutta muodostaa misellejä tai aggregaatteja alueen ulkopuolella. Kun taas UCST on LCST:a suurempi, polymeeri on veteen liukenematon LCST-UCST -välillä ja muodostaa misellejä kyseisen alueen ulkopuolella.<sup>24</sup>

Canning *et al.*<sup>25</sup> valmistivat poly(dietyyliaminoetyylimetakrylaattia) (PDEAEMA), mihin he lisäsivät bentsyyliimetakrylaatti-stat-metakryylihappo (BzMA-stat-MAA) -kopolymeerin toiseksi lohkoksi. PDEAEMA on heikko polyemäs, joka protonoituu matalissa pH-arvoissa ja stabiloi hydrofobista P(MAA-stat-BzMA)-ydintä. Kun pH-arvoa nostetaan, MAA:n varautuneisuus kasvaa ja se muodostaa misellin uuden koronan. PDEAEMA sen sijaan deprotonoituu, muuttuu hydrofobiseksi ja asettuu partikkelin ytimeen (Kuva 2.3).<sup>25</sup> Myös Yoshimitsu *et al.* ovat raportoineet kaksilohkoisen kopolymeerin, jossa yhdistetään LCST-tyyppin polymeeri UCST-tyyppin lohkon kanssa. Valmistetun polymeerin liukoisuusalue oli 10–69 °C, minkä ulkopuolella muodostui misellejä. Matalissa lämpötiloissa LCST-tyyppin lohkot stabiloivat toisen lohkon muodostaman aggregaatin. Vastaavasti korkeissa lämpötiloissa UCST-tyyppin lohko asettui dehydratoituneen LCST-tyyppin lohkon ympärille, stabiloiden sen.<sup>12</sup>



**Kuva 2.3.** Kaavio skitsofreenisen kopolymeerin käyttäytymisestä vesiliuoksessa.<sup>25</sup>

### 2.3. Vastaionin vaikutus ylempään kriittiseen liuoslämpötilaan

Vastaioneilla voidaan muuttaa polymeerin hydrofiilisyyttä ja siten vaikuttaa sen samentumispisteisiin. PDMAEMA:n faasitransitioita vesiliuoksessa on tutkittu trivalenttien vastaionien läsnä ollessa. PDMAEMA:lla ilmenee UCST-tyypin faasitransitio, kun lisätään pieniä määriä heksasyanokobaltaatti(III):a  $[\text{Co}(\text{CN})_6]^{3-}$ . Muut multivalentit vasta-ionit, kuten  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  ovat antaneet vastaavan vaikutuksen. Havaitun UCST-faasitransition syyksi esitettiin vastaionien ja polymeerin välisiä sähköstaattisia vuorovaikutuksia, koska transitioita ei havaittu korkeissa pH-arvoissa. Kun pH on korkea ja PDMAEMA liki varaukseton, sen vuorovaikutus vastaionien kanssa katoaa. Myös silloin kun lämpötila on korkea, vastaionien ja polymeerin väliset vuorovaikutukset heikkenevät, minkä seurauksena polymeeri liukenee veteen.<sup>26</sup>

Polykationeilla – PDMAEMA mukaan lukien – on havaittu UCST hydrofobisten, monovalenttien anionien kanssa. Esimerkiksi bis(trifluorometaani)sulfonamidi- ( $\text{NTf}_2$ ) ja trifluorometaanisulfonaatti-ionien ( $\text{OTf}$ ) lisäyksen polykationeja sisältävään liuokseen on nähty aiheuttavan UCST-käyttäytymistä. Ionivahvuuden ja hydrofobisen anionin pitoisuuden oli kuitenkin oltava riittäviä, että UCST havaitaan. Hydrofobinen anioni ja lisätyn suolan pieni anioni kilpailevat polymeerin sitoutumispaikoista.<sup>27</sup> PDMAEMA:n tapauksessa on havaittu, että  $\text{NTf}_2$ -ionien lisäys johtaa LCST:n laskuun ja UCST:n ilmenemiseen liuoksen ollessa lievästi hapan. LCST laskee, koska hydrofobiset anionit muodostavat ionipareja, jotka heikentävät polymeerin liukoisuutta. Korkeissa pH-arvoissa  $\text{NTf}_2$ -lisäys nostaa LCST:a, koska anioni tekee PDMAEMA:sta emäksisemmän.<sup>28</sup>

Noh *et al.*<sup>13</sup> ovat tutkineet yksinkertaisten polymeeri-halidi -suolojen UCST-transitioita vesiliuoksissa. Koska polymeerin vahvat sähköstaattiset vuorovaikutukset voivat saada aikaan UCST-tyyppisen transition, heidän hypoteesinaan oli, että yksinkertaiset polymeerin ja pienimolekyylisen ionin suolat voisivat käyttäytyä vedessä samoin. He tulivat siihen tulokseen, että yksinkertaisilla polymeeri-ioni -suoloilla voi ilmetä UCST-transitio, kun

polymeerin ja ionin välinen vuorovaikutus on vahvempi kuin liuenneen polymeerin ja veden välinen vuorovaikutus.<sup>13</sup>

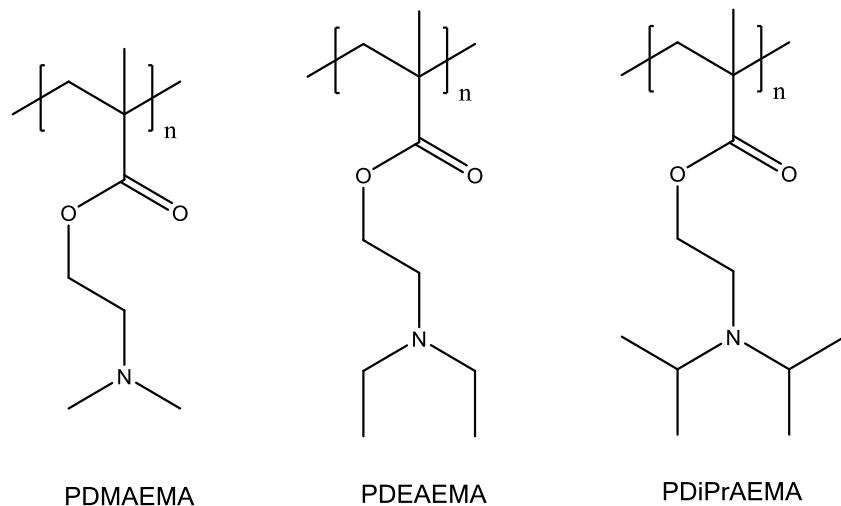
### 3. Poly(dialkyyliaminoetyylimetakrylaatit)

#### 3.1. Yleisimmistä poly(dialkyyliaminoetyylimetakrylaateista)

Poly(dialkyyliaminoetyylimetakrylaatit) ovat polymeereja, jotka koostuvat tertiaarisista amiinimetakrylaattimonomeereista. Näistä yhdisteistä tunnetuin on poly(dimetyyliaminoetyylimetakrylaatti) (PDMAEMA) (Kuva 3.1). PDMAEMA on heikko kationinen polyelektrolyytti, joka liukenee huoneenlämmössä veteen sekä neutraaleissa että happamissa olosuhteissa.<sup>22, 29</sup> Polyelektrolyytit ovat polymeereja, joilla on ionisia tai helposti ionisoitavissa olevia rakenneosia.<sup>30</sup> PDMAEMA on tunnettu ärsykeherkkä polymeeri, joka reagoi sekä pH:n että lämpötilan muutoksiin. pH:n muutoksilla voidaan vaikuttaa ketjun tertiaarisen aminoryhmän varaukseen. Matalissa pH-arvoissa tertiaariset aminoryhmät ovat protonoituneita ja varautuneet positiivisesti. Korkeissa pH-arvoissa ne deprotonoituvat ja yhdiste menettää positiiviset varauksensa. Samalla yhdisteen vesiliukoisuus heikkenee.<sup>20</sup> PDMAEMA:n kationisuutta voidaan siis säätää helposti pH:n avulla.<sup>28</sup>

PDMAEMA:n lisäksi PDEAEMA ja PDiPrAEMA ovat esiintyneet useissa tutkimuksissa (Kuva 3.1). PDEAEMA ja PDiPrAEMA ovat PDMAEMA:a hydrofobisempia.<sup>4</sup> Koska amiiniryhmän tyypeen liittyneet alkyyliryhmät ovat PDMAEMA:n metyylijä hydrofobisempia, PDEAEMA ja PDiPrAEMA eivät liukene veteen neutraalissa ja korkeassa pH:ssa. Yhdisteiden hydrofobisuusjärjestys on PDMAEMA<PDEAEMA<PDiPrAEMA. Koska myös PDEAEMA ja PDiPrAEMA ovat heikkoja kationisia polyelektrolyyttejä, ne liukenevat hyvin happamiin vesiliuoksiin. PDMAEMA:a vastaavalla tavalla niiden tertiaariset amiiniryhmät protonoituvat matalissa pH-arvoissa.<sup>22, 31</sup>





**Kuva 3.1.** Poly(dialkyliaminoetyylimetakrylaattien) rakenteita.

Poly(dimetyyliaminoetyylimetakrylaatti) (PDMAEMA), poly(dietyyliaminoetyylimetakrylaatti) (PDEAEMA) ja poly(diisopropyyliaminoetyylimetakrylaatti) (PDiPrAEMA).<sup>4</sup>

Bütün *et al.*<sup>22</sup> ovat tutkineet PDMAEMA:a, PDEAEMA:a ja PDiPrAEMA:a. Mitatuiksi  $pK_a$ -arvoiksi saatiin vastaavasti 7,0, 7,3 ja 6,0. PDiPrAEMA:n pienen  $pK_a$ -arvon syyksi esitettiin PDiPrAEMA:n amiiniryhmän suurempaa steristä estyneisyyttä.<sup>22</sup>

PDMAEMA:n, PDEAEMA:n ja PDiPrAEMA:n ketjut asettuvat tiiviimpään konformaatioon korkeissa lämpötiloissa, mikä johtaa siihen, että ne menettävät kontaktin vesimolekyylihin. Amiiniryhmällä on tähän suuri merkitys. Min *et al.*<sup>8</sup> tarkastelivat poly(2-dialkyliaminoetyylimetakrylaattien) faasitransitiota laskennallisin menetelmin. He havaitsivat, että kaikki tarkastellut poly(2-dialkyliaminoetyylimetakrylaatit) menettävät kontaktin vesimolekyylien kanssa, kun alempi kriittinen liuoslämpötila (LCST) ylitetään. He havaitsivat myös, että dialkyliaminoetyyliryhmät hylkivät vettä sitä enemmän, mitä hydrofobisempi amiiniryhmä oli kyseessä. PDEAEMA:n ja PDiPrAEMA:n konformaatioiden havaittiin olevan PDMAEMA:a tiiviimpiä myös matalissa lämpötiloissa niiden suuremman hydrofobisuuden vuoksi. PDMAEMA:n amiiniryhmällä oli vuorovaikutuksia vesimolekyylien kanssa jopa sen pallomaisessa, luhistuneessa tilassa. PDMAEMA:n faasierottumisen

pääteltiin siis johtuvan pääosin hiilivetyrunkon ja karbonyyliryhmän vuorovaikutuksista. PDEAEMA:n ja PDiPrAEMA:n tapauksessa amiiniryhmän vaikutus faasierottumisessa oli merkittävämpi. Niiden hydrofobinen ympäristö muuttuu paljon kriittisellä lämpötila-alueella dialkyyliamiiniryhmien matalan poolisuuden vuoksi. Dietyyliaminoetyyliryhmän ja veden ja di-isopropyliaminoetyyliryhmän ja veden väliset vetysidokset ovat entropisesti epäsuotuisampia korkeissa lämpötiloissa. Sen seurauksena vesimolekyylit siirtyvät pois dietyyliaminoetyyli- ja di-isopropyliaminoetyyliryhmien luota korkeissa lämpötiloissa.<sup>8</sup>

Thavanesan *et al.*<sup>31</sup> ovat tutkineet PDMAEMA:n, PDEAEMA:n ja PDiPrAEMA:n faasierottumista ja tulleet vastaaviin johtopäätöksiin. Heidän saamiensa tulosten mukaan näiden polymeerien faasitransitioiden mekanismit eroavat toisistaan. Kuten myös Min *et al.*<sup>8</sup> ovat raportoineet, PDMAEMA:n LCST-käyttäytyminen määräytyy pääosin karbonyyliryhmän ja hydrofobisen rungon vuorovaikutusten mukaan. PDMAEMA:n hydrofobisuus ei muutu paljon transition aikana. PDEAEMA:n ja PDiPrAEMA:n hydrofobisuudet sen sijaan muuttuvat merkittävästi LCST:n alueella dialkyyliaminoetyyliryhmien vuoksi. PDMAEMA:n dimetyyliaminoetyyliryhmä lisää PDMAEMA:n hydratoituneisuutta yhä LCST:n yläpuolellakin. Näistä kolmesta hydrofobisin, PDiPrAEMA, pyrkii kuitenkin jo liuenneessa tilassaan minimoimaan vesi-polymeeri-kontaktia kääntämällä di-isopropyliaminoetyyli-ryhmänsä kohti polymeerin runkoa.<sup>31</sup>

PDEAEMA:n liuoskäyttäytymisen tutkimuksista on ilmennyt, että sen käyttäytyminen on samanlaista kuin PDMAEMA:lla, mutta sen kriittiset arvot ovat matalampia. Sen samentumispiste havaitaan 1,5-2 pH-yksikköä PDMAEMA:a matalammalla. Lisäksi PDEAEMA:n LCST on PDMAEMA:a merkittävästi pienempi samassa pH-arvossa. PDEAEMA:n lämpöherkkä käytös ei ole erityisen riippuvainen moolimassasta tai haarautuneisuudesta. Se on kuitenkin vahvasti pH-riippuvainen, sillä se vaikuttaa polymeerin kokonaisvaraukseen.<sup>6</sup>

Mohammadi *et al.* ovat tutkineet PDMAEMA:n faasikäyttäytymistä. Heidän mukaansa matalassa pH:ssa ja lämpötilassa elektrostaattiset repulsiot ja

vetysidokset ovat hydrofobisia voimia merkittävämpiä ja PDMAEMA on veteen liukoinen laajalla moolimassa-alueella. Neutraaleissa ja emäksisissä liuksissa ketjun sisäiset ja ketjujen väliset hydrofobiset vuorovaikutukset vallitsevat ja moolimassan merkitys samentumispiisteeseen tulee oleelliseksi. Polymeerin konsentraation kasvattaminen lisää molekyyliyhmittymien muodostumista, kun taas moolimassan kasvattaminen johtaa suurempikokoisten aggregaattien ja kasaantumien muodostumiseen.<sup>32</sup>

### 3.2. Poly(dimetyyliaminoetyylimetakrylaatin) sovelluskohteita

Erittäin suuri osa PDMAEMA:n sovelluksista kertovista artikkeleista keskittyy lääkkeiden kuljettamiseen ja kontrolloituun annosteluun. Kontrolloidun lääkeaineiden annostelun lisäksi PDMAEMA:a on hyödynnetty muun muassa aktuaattoreiden<sup>33</sup> ja antimikrobisten membraanien valmistuksessa<sup>34</sup>, maaleissa<sup>35</sup> ja öljyn ja veden erottelussa<sup>36</sup>. PDMAEMA:n mahdollisia sovelluskohteita on paljon. Seuraavaksi esitellään näistä muutamia.

Viime vuosikymmenen aikana on tutkittu ympäristöherkkien hydrogeelien käytön mahdollisuutta lääkkeiden kuljetuksessa ja annostelussa. Tällaisilla kantajilla lääkkeiden vapauttaminen tapahtuu ympäristön olosuhteiden muuttuessa.<sup>37</sup> PDMAEMA-hydrogeelien on havaittu olevan nopeasti muutoksiin reagoivia ja voimakkaasti turpoavia. Lisäksi on raportoitu, että ibuprofeenin vapauttamista PDMAEMA-hydrogeelistä voidaan hallita pH:ta säätämällä.<sup>38</sup> Muun muassa Chen *et al.* ovat valmistaneet PDMAEMA:n pohjautuvia hydrogeelejä lääkkeiden annosteluun. He valmistivat poly(dimetyyliaminoetyylimetakrylaatti)-karboksimeetylikitosaanin -geelejä (PDMAEMA-CMCS), jotka olivat sekä lämpö-, että pH-herkkiä. Geelit turposivat matalissa lämpötiloissa tai happamissa olosuhteissa, ja kutistuivat pH:n tai lämpötilan ollessa korkea. Valmistettuja hydrogeelejä voitiin käyttää hallitussa lääkeannostelussa.<sup>37</sup> Brannigan *et al.*<sup>39</sup> ovat käyttäneet kvaternisoituja PDMAEMA-nanogeelejä silmälääkkeissä.

Amfifiiliset lohkopolymeerit asettuvat misellimäisiin muodostelmiin vesiliuoksissa. Näiden hydrofobiset osat toimivat hydrofobisten lääkeaineiden vastaanottajina ja hydrofiiliset osat parantavat liukoisuutta ja bioyhteensopivuutta. Ribonukleiinihapon (RNA) käyttö hoidoissa on herättänyt kiinnostusta viime vuosina.<sup>40</sup> Zhu *et al.* ovat valmistaneet biohajoavia kationisia misellejä DMAEMA:n ja polykaprolaktonin (PCL) lohkopolymeerista (PDMAEMA-PCL-PDMAEMA). Valmistettuja misellejä käytettiin RNA:n ja paclitaxel-lääkeaineen samanaikaiseen kuljettamiseen ihmisen syöpäsoluihin. Hydrofobinen lääke kapseloitui misellin ytimeen lohkopolymerin itsejärjestymisen (self-assembly) vuoksi. RNA taas kompleksoitui rakenteeseen PDMAEMA-lohkojen positiivisten varausten kanssa vuorovaikuttamalla.<sup>40</sup> Convertine *et al.* ovat syntetisoineet kaksilohkoisen polymeerin, jossa ensimmäinen lohko on PDMAEMA ja toinen DMAEMA:sta, propyyliakryylihaposta (PrAA) ja butyylimetakrylaatista (BMA) muodostuva kopolymeeri. Kehitetyn kuljetuskompleksin PDMAEMA-lohko kompleksoitui RNA:n kanssa ja toinen lohko muuttui solukalvoa hajottavaksi happamissa olosuhteissa.<sup>41</sup>

Cheng *et al.*<sup>33</sup> ovat valmistaneet pH- ja lämpöherkän hydrogeeli-aktuaattorin käyttäen PNIPA:a ja PDMAEMA:a. Valmistetun kaksikerroksisen hydrogeelin PNIPA-kerros on vain lämpöherkkä, kun taas PDMAEMA-kerros on herkkä sekä pH:lle että lämpötilalle. He valmistivat nelikätisen tarttujan, joka voitiin avata ja sulkea pH:a tai lämpötilaa säätämällä. Lisäksi he valmistivat piirikytken, joka voitiin kytkeä ja katkaista pH:a säätämällä.<sup>33</sup>

Öljynjalostuksessa käytettyyn veteen jää dispersoituneita öljypisaroita. Tällaisten öljypisaroiden määrän pienentämiseksi Wang *et al.* suunnittelivat ydin-kuori –tyyppisen (core-shell) magneettisen hybridinanopartikkelin. Partikkelien ytimenä oli magneettisten nanopartikkelien muodostama aggregaatti ja kuoren muodostivat PDMAEMA-ketjut. Magneettinen ydin mahdollisti sen, että ulkoisessa magneetikentässä partikkelit erottuvat helposti vesifaasista ja kuoren PDMAEMA-ketjut tekivät partikkeleista pH-herkkiä. Ärsykeherkkyys mahdollisti muodostuneen emulsion hajottamisen ja nanopartikkelien keräämisen seuraavaa käyttökertaa varten.

Valmistettuja nanopartikkeleita pystyttiin uudelleenkäyttämään jopa kuusi kertaa ilman, että niiden morfologia ja erotustehokkuus kärsivät.<sup>36</sup>

Polymeerimembraanien käyttö jäteveden puhdistuksessa on laajasti käytetty menetelmä. Menetelmän ongelmana on kuitenkin ollut mikrobikasvusto kalvon pinnalla. Näihin sovelluksiin käytettävien membraanien antibakteerisuudesta on siksi kiinnostuttu. Kvaternisoitu PDMAEMA on vahvasti antimikrobinen, mistä johtuen sen mahdollista soveltamista antibakteeristen kalvojen valmistamisessa on tutkittu.<sup>34</sup>

Antibakteerisia maalipintoja voidaan hyödyntää esimerkiksi sairaaloiden lattioissa ja seinissä mikro-organismien leviämisen estämiseksi. Cicek *et al.* ovat raportoineet erilaisten poly((4-vinyylifenyyliboronihiappo)-ko-(2-(dimetyyliamino)etyylimetakrylaatti)) -kopolymeerien (PVPBA-PDMAEMA) käytöstä antibakteerisissa vesipohjaisissa maaleissa. He havaitsivat, että vesipohjainen maali, johon oli lisätty osittain jodopentaanilla kvaternisoitua P(VPBA-ko-DMAEMA):a, osoitti merkittävää antibakteerisuutta.<sup>35</sup>

Santos *et al.* ovat tutkineet PDMAEMA:n käyttöä niin sanottujen tukirakenteiden (scaffold) kehittämisessä. Tukirakenteella tässä asiayhteydessä tarkoitetaan kolmiulotteista rakennetta, jolla tuetaan esimerkiksi kasvavaa kudosta, mutta joka hajoaa sopivalla nopeudella kasvavan kudoksen tieltä. Bioyhteensopivista ja -hajoavista materiaaleista on tehty tukirakenteita, jotka matkivat solun ulkopuolista tilaa. He valmistivat nanokuituja polykaprolaktonista (PCL) ja PDMAEMA:sta hopeapartikkelien kanssa ja tutkivat niiden mekaanisia ominaisuuksia, bioyhteensopivuutta ja antibakteerisuutta. Valmistetut kuidut toimivat hyvin bakteereja vastaan. Kudosten ja solujen kasvattamisen ehdotettiin olevan tällaisille kuiduille hyviä sovelluskohteita.<sup>42</sup>

Mitä tulee PDMAEMA:n antibakteerisiin ja pilaantumista estäviin sovelluksiin, käytetään sen kvaternisoitua muotoa enemmän sen voimakkaamman antibakteerisuuden vuoksi.<sup>35</sup>

Li *et al.* ovat tutkineet PDMAEMA:a sisältäviä sumentumista ja jäätymistä estäviä pinnoitteita. Tähän tarkoitukseen on hyödynnetty erittäin hydrofiilisiä polymeerikalvoja. Näin on tehty siksi, että tällaisen kalvon pinta voi absorboida ja levittää näkyvyyttä heikentävät vesipisarot, luoden

tasaisen vesikerroksen. Amfifiiliset kalvot ovat herättäneet viime vuosina paljon kiinnostusta niiden monipuolisten ominaisuuksien vuoksi. Amfifiiliset kalvot estävät haurastumisen lisäksi jäätymistä. Li *et al.* valmistivat pinnoitteen käyttäen PDMAEMA:a, jolla on LCST ja poly(sulfobetainimetakrylaattia) (PSBMA), jolla on UCST. Heidän hypoteesinaan oli, että kalvon pinnalle muodostuisi pintaa liukastava vesikerros, kun se altistuu vedelle tai vesihöyrylle. Samalla höyrystymisen ja jäätyksen esto-ominaisuudet parantuisivat. He valmistivat pinnoitteita POSS-PDMAEMA-b-PSBMA -lohkopolymeereista etyleeniglykolidimetakrylaatin (EGDMA) kanssa. Kuten odotettua, valmistetut pinnoitteet toimivat erinomaisesti höyrystymistä vastaan. Lisäksi pinnoitus esti jäätymistä pintaa liukastavan vesikerroksen ansiosta.<sup>43</sup>

#### 4. Reversiibeli additio-fragmentaatio ketjunsiiro -polymerointi

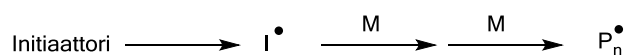
Radikaalipolymerointi on tyypillisimpiä menetelmiä korkean moolimassan polymeerien tuottamisessa. RAFT-prosessi on reversiibeliin deaktivaatioon perustuva radikaalipolymerointi (RDRP). Se luokitellaan useasti (pseudo)eläviin ja kontrolloituihin polymerointeihin. Eläviksi polymeroinneiksi kutsutaan kuitenkin menetelmiä, joissa ei tapahdu lainkaan irreversiibeliä ketjunsiiroa ja terminaatiota. Koska radikaalipolymeroinneissa tapahtuu terminaatiota, niitä ei voida luokitella eläviksi. Kontrolloidut radikaalipolymerointimenetelmät, kuten atominsiirtoradikaalipolymerointi (ATRP), nitroksidivälitteinen radikaalipolymerointi (NMP) ja reversiibeli additio-fragmentaatio ketjunsiiro -polymerointi (RAFT) voidaan periaatteessa luokitella kontrolloituihin polymerointeihin. Suositeltavampi nimitys tällaisille aktiivisten ja ”horroksessa” olevien ketjujen välistä tasapainoa hyödyntäville menetelmille on kuitenkin reversiibeli deaktivaatio-radikaalipolymerointi (RDRP). Eläviksi radikaalipolymeroinniksi voidaan kuitenkin kutsua hypoteettista tilannetta, jossa terminaatiota ei ole.<sup>44</sup>

RAFT-prosessi kehitettiin vuonna 1998<sup>45</sup> ja sitä on sittemmin tutkittu runsaasti. RAFT on monipuolinen synteessimenetelmä, sillä sitä voidaan

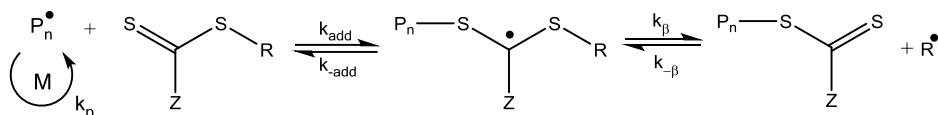
käyttää useiden monomeerien kanssa monenlaisissa reaktio-olosuhteissa. RAFT-prosessilla on monia etuja. Näihin lukeutuvat muun muassa moolimassan hallittavuus, pieni moolimassajakauma ja mahdollisuus valmistaa monimutkaisiakin arkkitehtuureja, kuten lohko-, harja-, ja tähtipolymeereja.<sup>45-46</sup>

Tiokarbonyylitioyhdisteiden avulla tehtävän RAFT-polymeroinnin mekanismin pääpiirre on additio-fragmentaatio -tasapaino. Reaktion aloitus ja kahden radikaalin välisen reaktion aiheuttama terminaatio tapahtuvat samoin kuin tavanomaisessa radikaalipolymeroinnissa. Reaktion alussa initiaattori reagoi monomeerin kanssa luoden ketjua kasvattavan radikaalin  $P^*_n$ . Ketjua kasvattava radikaali ( $P^*_n$ ) taas reagoi tiokarbonyylitio-yhdisteen kanssa muodostaen lopulta polymeerisen tiokarbonyylitio-yhdisteen sekä uuden radikaalin ( $R^*$ ). Syntynyt radikaali reagoi edelleen monomeerin kanssa ja luo uuden ketjua kasvattavan radikaalin ( $P^*_m$ ). Kasvavien radikaalien ( $P^*_n$  ja  $P^*_m$ ) ja polymeeristen tiokarbonyylitioyhdisteiden välinen tasapaino mahdollistaa kaikkien ketjujen yhtäsuuren kasvun ja siten kapean moolimassajakauman. Reaktio pysähtyy, kun kaksi polymeerista radikaalia reagoi joko yhdistymällä tai disproportunoitumalla (Kuva 4.1).<sup>46</sup>

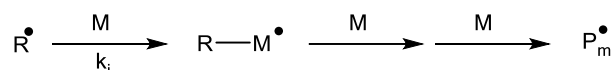
### Initiaatio



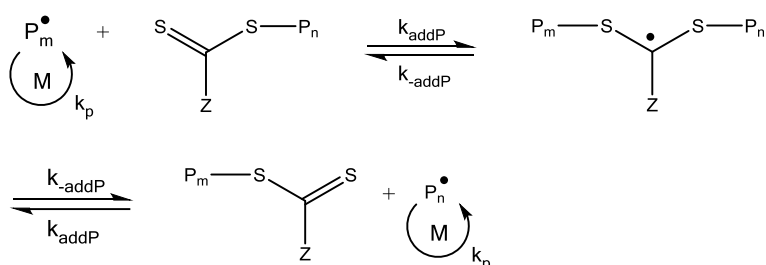
### Reversiibeli ketjunsiiro/ketjun kasvun eteneminen



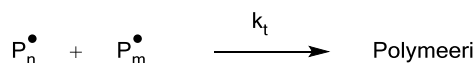
### Uudelleen initioituminen



### Ketjujen välinen tasapaino/ketjun kasvun eteneminen



### Terminaatio

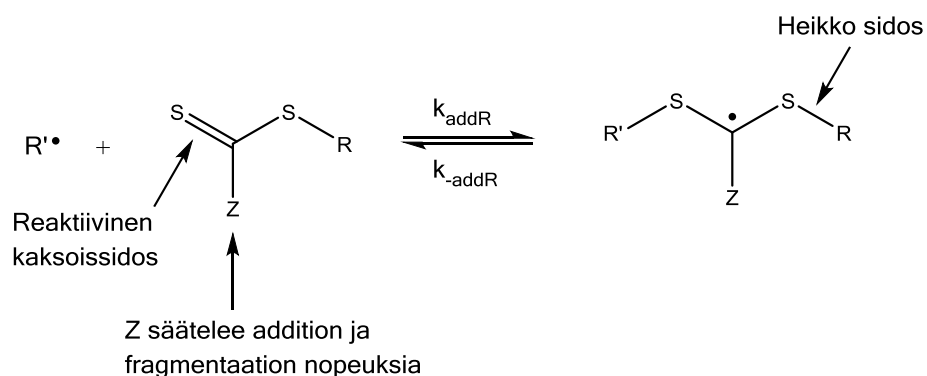


**Kuva 4.1.** RAFT-polymeroinnin mekanismi.<sup>44</sup>

RAFT-prosessissa käytetyn tiokarbonyylitioyhdisteen, jota kutsutaan myös RAFT-agentiksi tai ketjunsiiirtäjäksi, valinta on tärkeää. RAFT-agentin valinta riippuu muun muassa käytettävästä monomeerista, lähtevän ryhmän ominaisuuksista ja Z-ryhmästä, joka voi valinnan mukaan joko aktivoida tai deaktivoida RAFT-agentin tiokarbonyyli-kaksoissidosta.<sup>44</sup> Ketjunsiiirtäjät voidaan jakaa neljään alaluokkaan C=S-funktionaalisuuden viereisen ryhmän mukaan: ditiioesterit, tritiokarbonaatit, ksantaatit ja ditiokarbamaatit.<sup>47</sup> RAFT-agenttia valittaessa tulee ottaa huomioon ainakin neljä tasapainovakioita; päätasapainon tasapainovakio ( $k_{addP}/k_{-addP}$ ), esitasapainoon liittyvät vakiot ( $k_{add}/k_{-add}$  ja  $k_\beta/k_{-\beta}$ ) ja tasapainovakio, joka liittyy radikaalin reaktioon alkuperäisen RAFT-agentin kanssa ( $k_{addR}/k_{-addR}$ )



(Kuva 4.2).  $k_{\text{addR}}/k_{\text{-addR}}$  on sama kuin kuvan 4.1  $k_{\text{addP}}/k_{\text{-addP}}$ , kun ketjua kasvattava radikaali on  $R^\bullet$ . Sekä alkuperäisellä että polymeerisellä RAFT-agentilla tulee olla reaktiivinen C=S -kaksoissidos, joka mahdollistaa nopean addition. Välituotteena muodostuvien radikaalien tulee lohjeta nopeasti ilman sivureaktioita. Toisin sanoen välituotteessa on oltava korkea  $k_\beta$  ja heikko S-R -sidon. Tämän lisäksi välituotteen on suosittava hajoamisessaan tuotteita ( $k_\beta \geq k_{\text{-add}}$ ) ja tuotettujen radikaalien on pystyttävä aloittamaan polymerointi uudelleen tehokkaasti ( $k_i > k_p$ ). (Kuva 4.2)<sup>44</sup>



**Kuva 4.2.** Tiokarbonyylitio RAFT-agentin rakenteelliset piirteet ja radikaaliaddition aikana muodostunut välituote  $R'^\bullet$ .<sup>44</sup>

RAFT-synteesien tuotteisiin jää tiokarbonyylitio-pääteryhmät. Kaupallisissa sovelluksissa pääteryhmästä aiheutuvat väri ja haju eivät ole toivottavia. Pääteryhmiä voidaan tällöin muokata tai jopa poistaa kokonaan.<sup>47</sup> Pääteryhmien muuttaminen on yksi mahdollinen keino ärsykeherkkien polymeerien ominaisuuksien muuttamiseksi – polymeeriin voidaan lisätä jokin funktionaalisuus. Väri ja haju eivät ole ainoat mahdolliset pääteryhmän haittapuolet. Pääteryhmä on reaktiivinen ja voi muun muassa haitata polymeerin järjestäytymistä tai esimerkiksi sammuttaa (quench) fluoresenssia.<sup>1, 47</sup>

RAFT-polymeerien  $\alpha$ -pääteryhmää voidaan kontrolloida samoin kuin muiden kontrolloitujen radikaalipolymerointien tuotteita. Valitsemalla halutun tyyppinen R-ryhmä voidaan valmistaa päätefunktionaalisia (end-functionalized) polymeereja. Myös  $\omega$ -pään tiokarbonaattia voidaan muokata polymeroinnin jälkeen halutun funktionaalisuuden luomiseksi.

Pääosin käytetyt menetelmät voidaan jakaa neljään luokkaan: lämmöllä tehtävät eliminaatiot, nukleofiileillä tehtävä aminolyysi, radikaaleilla tehtävä pääteryhmän poisto ja Diels-Alder -reaktiot. Aminolyysi jättää polymeeriin tioliryhmän, johon on helppo tuoda funktionaalisuuksia Michaelin additiolla.<sup>47</sup>

Initiaattorin, ketjungsiirtäjän ja monomeerin konsentraatioiden suhteita säätämällä voidaan vaikuttaa syntetisoidun polymeerin moolimassaan. Koska initiaattorista muodostuneiden radikaalien ja ketjungsiirtäjän lähtevien ryhmien (R-ryhmien) määrät määräävät muodostuvien polymeeriketjujen lukumäärän, polymeeriketjujen toistuvien yksiköiden määrä (DP) ja siten moolimassa voidaan päättää etukäteen. Jos initiaattorista lähtöisiä ketjuja ei oteta huomioon ja kaiken ketjungsiirtäjän oletetaan reagoineen, teoreettinen lukukeskimääräinen moolimassa ( $M_{n,teoreettinen}$ ) saadaan yhtälöllä 1, missä [M] tarkoittaa monomeerin ja [CTA] ketjungsiirtäjän konsentraatiota reaktion alussa. M(monomeeri) merkitsee monomeerin ja M(CTA) ketjungsiirtäjän moolimassaa. Vaikka yhtälöt 1 ja 2 on yksinkertaistettu niillä oletuksilla, että terminaatiota ei tapahdu ja ettei initiaattorista tulevia ketjuja ole lainkaan, niiden tarkkuus on melko hyvä.<sup>48</sup>

$$M_{n,teoreettinen} = \frac{[M]}{[CTA]} \times M(\text{monomeeri}) \times \text{konversio} + M(CTA), \quad (1)$$

$$\text{missä } DP_{teor.} = \frac{[M]}{[CTA]} \times \text{konversio} \quad (2)$$

## Kokeellinen osa

Tutkimusosiossa syntetisoitiin kontrolloidulla radikaalipolymeroinnilla poly(di-isopropyyliminoetyylimetakrylaatti) (PDiPrAEMA) ja sen faasikäyttäytymistä tutkittiin eri liuosolosuhteissa. Työssä tutkittiin pH:n, puskureiden ja ionivahvuuden vaikutusta polymeerin faasitransition lämpötiloihin.

PDiPrAEMA-homopolymeerin lisäksi syntetisoitiin PDMAEMA-PDiPrAEMA – lohkopolymeereja. Polymeerin faasitransition lämpötiloja mitattiin eri pH-arvoissa usein menetelmin.

## 5. Synteetit

### 5.1. Materiaalit

2-Diisopropyyliminoetyylimetakrylaatti (Aldrich, 97 %) valutettiin emäksisen alumiinioksidikolonnin läpi, tislattiin ja säilytettiin pakastimessa. Atsoisobutyronitrili (AIBN) (Fluka, 98 %) uudelleenkiteytettiin metanolista ja säilytettiin pakastimessa. Ketjungsiirtäjänä käytettyä 4-syano-4-fenyylkarbonyyliiopentaanihappoa (CPA) (Aldrich, 97 %) käytettiin sellaisenaan.

### 5.2. Polymeroinnit

Kaikki valmistetut polymeerit syntetisoitiin RAFT-menetelmällä. Homopolymeerien synteeseissä ketjungsiirtäjänä käytettiin CPA:a. Initiaattorina jokaisessa reaktiossa – sekä homo-, että lohkopolymeerien valmistuksessa – oli AIBN.

Polymeroinnit suoritettiin kolvissa typpi-ilmakehässä. Lähtöaineet sekoitettiin ensin keskenään, minkä jälkeen seos siirrettiin ruiskun ja neulan avulla kolviin. Reaktioseosta kuplitettiin tyypellä magneettisekoituksessa puolen tunnin ajan, minkä jälkeen kolvi siirrettiin esilämmitettyyn 90 °C

öljyhauteeseen. Tyypellä kuplittaminen lopetettiin ja kolviin jätettiin typpi-ilmakehä, kun reaktioseos oli lämmennyt öljyhauteessa parin minuutin ajan.

Polymerointi pysäytettiin halutun ajan kuluttua jäädyttämällä reaktioseos nestetyypellä. Jäädytyksen jälkeen astia sulatettiin pyörittelemällä sitä huoneenlämpöisessä vedessä. Tämän jälkeen seos altistettiin ilmalle avaamalla korkki. Seoksesta otettiin näyte konversion määrittämistä varten.

Polymeerit puhdistettiin saostamalla asetonista asetonitriliin vähintään kahdesti. Tuotteiden puhtaus varmistettiin aina protoni-ydinmagneettisella resonanssispektroskopiolla ( $^1\text{H NMR}$ ).

Lohkopolymeerit valmistettiin käyttäen RAFT-menetelmällä valmistettua homopolymeeria makroketjunsuirtäjänä. Konversion määrittämiseksi reaktioseoksesta otettiin näytteet sekä ennen reaktion aloitusta, että heti reaktion pysäytyksen jälkeen. Lohkopolymeerien synteisireaktioissa käytettiin tolueenia liuottimena. Muuten synteetit tehtiin samoin kuin homopolymeerien tapauksessa.

Ensimmäisen lohkopolymeerin ( $\text{PDiPrAEMA}_{72}\text{PDMAEMA}_{31}$ ) puhdistus suoritettiin seuraavasti: Ensin liuottimena käytetty tolueeni haihdutettiin pois. Tämän jälkeen jäljelle jäänyttä seosta laimennettiin 150 mM suolahapolla ja siirrettiin dialyysipussiin. Tuotetta puhdistettiin dialysoimalla sitä vettä vasten 5 päivän ajan. Dialyysivesi vaihdettiin kahdesti päivässä.

Myös toisen lohkopolymeerin ( $\text{PDMAEMA}_{436}\text{PDiPrAEMA}_{49}$ ) puhdistus aloitettiin haihduttamalla tolueeni pois. Tämän jälkeen jäännös liuotettiin asetoniin ja saostettiin kylmään heksaaniin. Saatu sakka erotettiin sentrifugoimalla ja liuotettiin metanoliin. Tuotetta puhdistettiin vielä dialysoimalla sitä 9 päivän ajan vettä vasten. Vesi vaihdettiin kahdesti päivässä.

## 6. Analyysit

Syntetisoidut polymeerit karakterisoitiin  $^1\text{H}$ NMR- spektroskopiolla ja kokoekskluusiokromatografialla (SEC). Faasikäyttäytymistä tutkittiin transmittanssimittauksin, mikrokalorimetrisesti, fluoresenssimittauksin ja valonsironnalla.

### 6.1. Näytteiden valmistaminen

Näytteet valmistettiin käyttäen emoliuosta, jossa polymeerin konsentraatio oli 10 mg/mL. 250 mg polymeeria liuotettiin 150 mM suolahappoon ja laimennettiin 25 mL tilavuuteen mittapullossa 150 mM suolahapolla. Emoliuokset valmistettiin aina vähintään päivää ennen näytteiden valmistamista. Mitatuissa näytteissä polymeerin konsentraatio oli 2 mg/mL. Poikkeuksina olivat UCST-mittaukset, joissa polymeerin konsentraatio oli yleensä 1 mg/mL. Transmittanssimittauksia varten valmistettiin aina 3000  $\mu\text{L}$  kokoiset näytteet, joista 2800  $\mu\text{L}$  osuus mitattiin. Näytteet valmistettiin niin, että ensin haluttu suola- tai puskuriliuos, NaOH ja vesi sekoitettiin keskenään niin, että lisäysten summaksi tuli 2400  $\mu\text{L}$ . Lopuksi 600  $\mu\text{L}$  emoliuosta lisättiin voimakkaassa sekoituksessa.

Fluoresenssimittauksissa pyreeni lisättiin näytteeseen veteen liuotettuna. Tämä pyreenin vesiliuos valmistettiin laittamalla pyreeniä erlenmeyer-pullon pohjalle, mikä sitten täytettiin vedellä. Pyreenin annettiin liueta veteen vuorokauden ajan ennen näytteiden valmistamista.

Fluoresenssinäytteet valmistettiin muuten edellä esitetyllä tavalla, mutta 1000  $\mu\text{L}$  käytetystä vedestä korvattiin pyreenin vesiliuoksella.

## 6.2. Laitteistot ja mittaukset

<sup>1</sup>HNMR – spektrit mitattiin Bruker Avance III 500-spektrometrilla.

Liuottimena käytettiin deuteroitua asetonia.

Syntetisoitujen polymeerien moolimassat mitattiin

kokoekskluusiokromatografialla (SEC). Käytetty laitteisto koostui Waters 515 HPLC-pumpusta, kolmesta Waters Styragel -kapillaarikolonnista, Viscotek 270 Dual Detector -valonsironta- ja viskositeettidetektorista, Waters 2487 UV-detektorista ja Waters 2410 -taitekerroindetektorista (RI). Kalibraatio suoritettiin käyttäen poly(metyylimetakrylaatti)-standardeja ja liikkuvana faasina oli tetrahydrofuraani (THF), johon oli lisätty 0,1 % tetrabutyyliammoniumbromidia (TBAB) ja 1 % toluenia.

Turbiditeettimittaukset suoritettiin JASCO J-815 CD-spektrometrillä 600 nm aallonpituudella. Mittauksissa käytettyjen kyvettien läpimitta oli 10 mm ja näytteistä poistettiin liuenneet kaasut vakuumpumpulla ennen jokaista mittausta. Näytteiden transmittanssia mitattiin välillä 5-90 °C.

Näytepidikkeen lämpötilaa muutettiin nopeudella 1 °C/min ja näytteen lämpötilaa seurattiin. Näytteiden annettiin asettua aloituslämpötilassa 10 minuutin ajan ennen lämmityksen aloittamista. Jäähdytykset sitä vastoin aloitettiin välittömästi lämmityksen jälkeen. Näytteiden transmittanssia verrattiin puhtaan liuottimen transmittanssiin 20 °C lämpötilassa.

DSC-mittaukset suoritettiin Malvern MicroCal PEAQ-DSC -

mikrokalorimetrillä. Näytettä lämmitettiin nopeudella 1 °C/min 5 °C-100 °C. Stabilisaatioaika ennen mittauksen aloitusta oli 30 minuuttia. Jäähdytys takaisin 5 °C lämpötilaan tehtiin samalla nopeudella. Näytteenvalmistus suoritettiin samalla tavalla kuin transmittanssimittauksissa. Mittauksista saaduista termogrammeista määritettiin maksimilämpökapasiteetin lämpötila ( $T_{max}$ ), faasitransitioon liittyvä entalpian muutos ja transition alkukohta ( $T_{onset}$ ).

Valonsirontamittaukset suoritettiin Malvern Zetasizer Nano – laitteella.

Näytteen lämpötilan annettiin tasaantua 15 minuutin ajan ennen mittauksen aloitusta. Tämän jälkeen näytteen sirontaa mitattiin noin

kahden lämpöasteen välein aina 90 °C saakka. Lämpötilan annettiin tasaantua jokaisessa mittapisteessä 5 minuutin ajan.

Fluoresenssimittaukset suoritettiin käyttäen Horiba Jobin Yvon Fluoromax-4 spektrofluorometriä. Mittaukset tehtiin lämpötilavälillä 15–80 °C.

Lämpötilan annettiin tasaantua 30 minuuttia ennen mittauksen aloitusta ja 10 minuutin ajan jokaisessa mittauspisteessä. Eksitaatioaallonpituus oli 325 nm ja emissiota seurattiin välillä 350–600 nm.

UV-Vis -spektrit mitattiin käyttäen Shimadzun UV-1601PC spektrofotometriä. Mittaukset tehtiin 20 °C lämpötilassa.

## 7. Tulokset

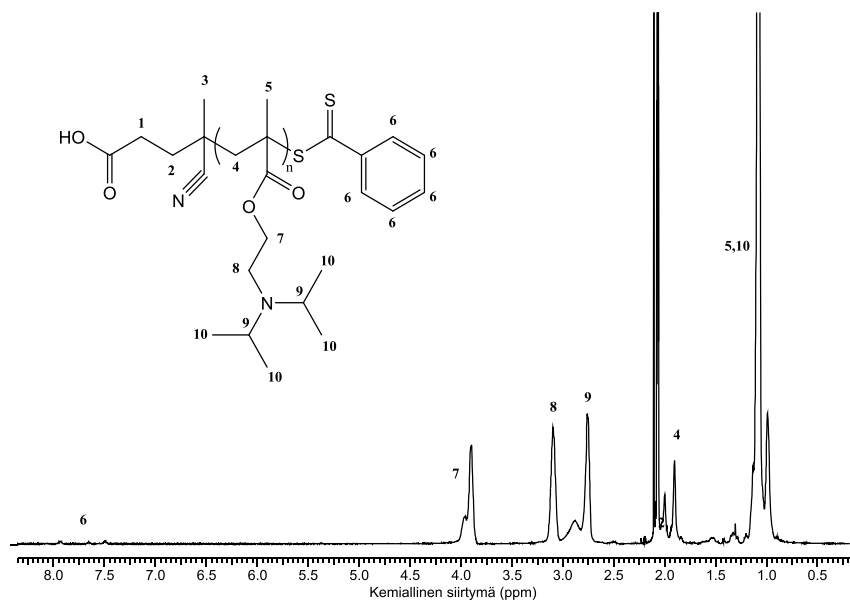
### 7.1. Synteetit

Useita eriä PDiPrAEMA:a valmistettiin, mutta moolimassan vaikutusta polymeerin faasitransitiokäytökseen ei ajanpuutteen vuoksi tutkittu.

PDiPrAEMA:n konversiot laskettiin reaktioseoksesta otettujen näytteiden <sup>1</sup>HNMR-spektreistä vertailemalla piikkien protonien määrillä normalisoituja integraaleja. Toistuvan yksikön protonien määrällä normalisoitu integraali ( $H_p$ ) jaettiin yhteenlasketuilla toistuvan yksikön ja monomeerin protonien määrällä normalisoiduilla integraaleilla ( $H_m$ ):

$$\textit{Konversio} = \frac{H_p}{H_m + H_p} * 100\%$$

Puhdistetun polymeerin toistuvien yksiköiden määrä ja lukukeskimääräinen moolimassa voidaan laskea <sup>1</sup>HNMR-spektristä vertaamalla piikkien protoneilla normalisoituja integraaleja. Esimerkiksi erään PDiPrAEMA-erän protonispektri on esitetty kuvassa 7.1.



**Kuva 7.1.** PDiPrAEMA<sub>72:n</sub> <sup>1</sup>HNMR-spektri. Liuottimena asetoni.

Piikki	Integraali
6	1,000
7	28,920

PDiPrAEMA:n keskimääräinen ketjun pituus (DP) ja siten lukukeskimääräinen moolimassa voidaan laskea piikkien integraalien avulla. Piikki 6 vastaa pääteryhmän fenyyliä ja piikki 7 toistuvan yksikön esteriryhmän viereisiä protoneja. Näin ollen piikki 6 tulee viidestä protonista ja piikki 7 kahdesta. Voidaan siis laskea:

$$DP = \frac{n(\text{toistuva yksikkö})}{n(\text{pääteryhmä})} = \frac{\frac{1}{2}(\text{piikin 7 integraali})}{\frac{1}{5}(\text{piikin 6 integraali})} = 2,5 * \frac{28,920}{1,000} = 72,3$$

Keskimääräisessä polymeeriketjussa on näin ollen 72 DiPrAEMA-yksikköä. Kaikkien syntetisoitujen polymeerien keskimääräiset ketjujen pituudet laskettiin vastaavalla tavalla ja on tästä eteenpäin merkitty nimissä alaindekseillä. Ketjujen pituuksien avulla voitiin edelleen laskea lukukeskimääräiset moolimassat. PDiPrAEMA<sub>72</sub> tapauksessa moolimassaksi saadaan:



$$M_n = DP * M(\text{monomeeri}) + M(\text{ketjunsiiirtäjä}) = 72,3 * 213,32 \frac{g}{mol} + 279,38 \frac{g}{mol} = 15702,416 \frac{g}{mol}$$

Vastaavalla tavalla lasketut lukukeskimääräiset moolimassat on koottu alle taulukkoon 7.1. PDiPrAEMA<sub>316</sub>-erän faasitransitioita tutkittiin.

**Taulukko 7.1.** Syntetisoitujen PDiPrAEMA-erien reaktioissa käytetyt ainemääräsuhteet ja NMR-spektreistä lasketut yksiköiden määrät, konversiot ja teoreettiset lukukeskimääräiset moolimassat.

Lukukeskimääräiset moolimassat on määritetty sekä NMR:n että SEC:n avulla. Polydispersiteetit (PDI) on mitattu kokoeksklusiokromatografisesti.

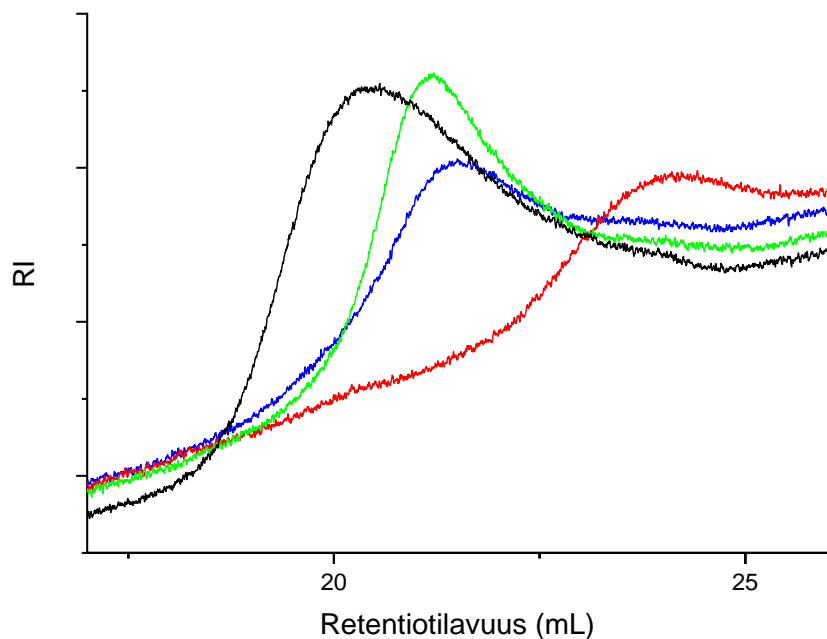
	[DiPrAEMA]: [CPA]:[AIBN]	Konver- sio (%)	M <sub>n</sub> (teoret -tinen) (g/mol) <sup>a</sup>	M <sub>n</sub> (NMR) (g/mol)	M <sub>n</sub> (SEC) (g/mol)	PDI
PDiPrAEMA <sub>72</sub>	100:1:0,2	36,3	7980	15700	5500	1,31
PDiPrAEMA <sub>247</sub>	200:1:0,1	69,5	32360	53090	16120	1,59
PDiPrAEMA <sub>316</sub>	200:1:0,1	80,0	34190	67710	14340	1,69
PDiPrAEMA <sub>403</sub>	400:1:0,1	31,5	26490	86450	22060	1,89

$$^a[\text{Monomeeri}]/[\text{CTA}] * \text{konversio} * M(\text{monomeeri}) + M(\text{CTA})^{48}$$

Taulukossa 7.1 esitettyjen polymeerien polydispersiteetit ovat korkeita, mikä selittynee osittain pitkällä reaktioajalla. Reaktioaika kyseisissä reaktioissa oli 17–18 tuntia. Pitkä reaktioaika saattaa lisätä sivureaktioiden, kuten kombinaation, terminaation ja ketjunsiiirron todennäköisyyttä. Sivureaktiot taas johtavat polydispersiteetin kasvuun.<sup>49</sup> PDiPrAEMA<sub>316</sub>:n ja PDiPrAEMA<sub>403</sub>:n synteeseissä magneettisekoitus ei toiminut kovin tehokkaasti. Tämä saattoi johtaa epätasaiseen lämpötilaan ja reaktion kontrollin heikkenemiseen. Joissain tapauksissa polymeerin saostumisen on raportoitu johtavan reaktion kontrollin huononemiseen.<sup>46</sup> PDiPrAEMA<sub>403</sub> oli reaktion pysäytysvaiheessa paksu ja tahnamainen seos, mikä voi olla osaselitys sen polydispersiteetin suuruudelle.

Kaikki NMR-spektrometrialla määritetyt moolimassat olivat teoreettisia moolimassoja suurempia. Polymeerin pääteryhmän signaali oli tyypillisesti hyvin heikko, mikä vaikeutti tulosten tulkintaa. Pienimmän polymeerin (PDiPrAEMA<sub>72</sub>) tapauksessa ketjut olivat kuitenkin niin lyhyitä, että pääteryhmän signaali oli helposti havaittavissa. Tällöin moolimassa olikin lähimpänä teoreettista moolimassaa.

Kaikkien polymeerien SEC-mittauksista saadut moolimassat ovat pienempiä kuin NMR-mittauksista pääteryhmäanalyysillä saadut ja teoreettiset moolimassat. SEC-mittausten kalibroinnissa käytetyn PMMA:n hydrodynaaminen tilavuus eroaa todennäköisesti tutkituista polymeereista, minkä vuoksi tulokset ovat vain suuntaa antavia. PDiPrAEMA<sub>72</sub>:n ja PDiPrAEMA<sub>403</sub>:n moolimassat olivat kuitenkin melko lähellä teoreettisia arvoja. Kuvassa 7.2 on esitetty kaikkien PDiPrAEMA-homopolymeerien SEC-mittausten tulokset. Kuten odotettavissa, nähdään että retentiotilavuus kasvaa polymeerin pientyessä. PDiPrAEMA<sub>247</sub>:n ja PDiPrAEMA<sub>316</sub>:n teoreettiset moolimassat ovat lähellä toisiaan, kuten myös niiden retentiotilavuudet.



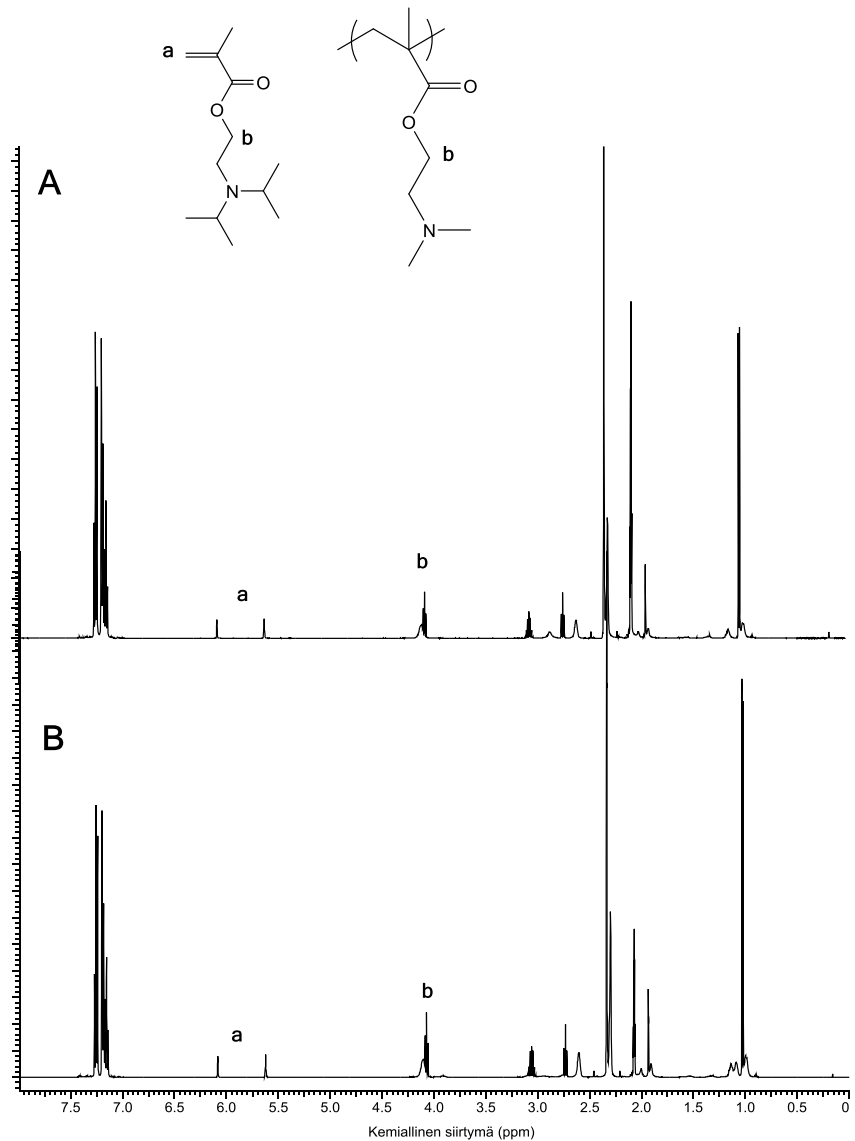
**Kuva 7.2.** PDiPrAEMA-homopolymeerien SEC-kuvaajat. PDiPrAEMA<sub>72</sub> (punainen), PDiPrAEMA<sub>316</sub> (sininen), PDiPrAEMA<sub>247</sub> (vihreä) ja PDiPrAEMA<sub>403</sub> (musta).

Lohkopolymeereja valmistettiin kaksi erää. Ensimmäinen erä valmistettiin käyttäen PDiPrAEMA:a makro-ketjungsiirtäjänä. Toinen lohkopolymeeri syntetisoitiin käyttäen PDMAEMA:a makro-ketjungsiirtäjänä. Tarkoituksena oli valmistaa lohkopolymeeri, jossa olisi enemmän PDMAEMA:a kuin PDiPrAEMA:a. Hypoteesina oli, että tällöin muodostuisi misellimäinen rakenne, missä PDiPrAEMA-lohkot ryhmittäytyisivät muodostaen ”ytimen”, jonka ympärille PDMAEMA-lohkot asettuisivat. Koska PDMAEMA:n ja PDiPrAEMA:n faasitransitiot esiintyvät erilaisilla pH-alueilla<sup>31</sup>, lohkopolymeerin käyttäytymisen ajateltiin olevan huomion arvoista.

Lohkopolymeerien konversiot on laskettu <sup>1</sup>HNMR-spektrien avulla. Konversiot laskettiin vertaamalla ns. nollanäytteestä ja reaktion jälkeen mitatusta konversionäytteestä mitattuja <sup>1</sup>HNMR-spektrejä. Toisena syntetisoidusta lohkopolymeerista (PDMAEMA-PDiPrAEMA) mitatut nolla- ja konversionäytteiden NMR-spektrit on esitetty kuvassa 7.3. Kuvaan merkittyjen piikkien integraalit on koottu taulukkoon 7.2.

**Taulukko 7.2.** PDMAEMA-PDiPrAEMA:n nollanäytteen ja konversionäytteen integraalit.

	Piikki a	Piikki b
Nollanäyte	1,00	2,85
Konversionäyte	1,00	5,19



**Kuva 7.3.** Lohkopolymeerista mitattu A) nollanäyte ja B) konversioinäyte. Piikki a vastaa DiPrAEMA:n kaksoissidoksen vetyjä ja piikki b sekä DiPrAEMA:ssa että PDMAEMA:ssa esiintyviä esteriryhmän viereisiä vetyjä.

Konversio laskettiin seuraavasti käyttäen protonien määrällä normalisoituja piikkien integraaleja:

$$\text{Konversio} = 1 - \left( \left( \frac{a_{\text{konversioinäyte}}}{b_{\text{konversioinäyte}}} \right) : \left( \frac{a_{\text{nollanäyte}}}{b_{\text{nollanäyte}}} \right) \right) =$$

$$1 - \left( \left( \frac{1,00/2}{5,19/2} \right) : \left( \frac{1,00/2}{2,85/2} \right) \right) = 0,4509$$

Toisena valmistetun lohkopolymerin (PDMAEMA-PDiPrAEMA) konversioksi saatiin siis noin 45 %.

PDMAEMA:n ja lohkopolymerien konversiot, moolimassat ja polydispersiteetit on esitetty taulukossa 7.3. Ensimmäisen lohkopolymerin – PDiPrAEMA<sub>72</sub>PDMAEMA<sub>31</sub> – konversio oli erittäin matala ja PDMAEMA:n määrä jäi pieneksi. Lohkopolymerien ketjujen suhteelliset pituudet on määritetty <sup>1</sup>HNMR-spektrien avulla. Mittauksissa käytettiin PDMAEMA<sub>436</sub>PDiPrAEMA<sub>49</sub>:a.

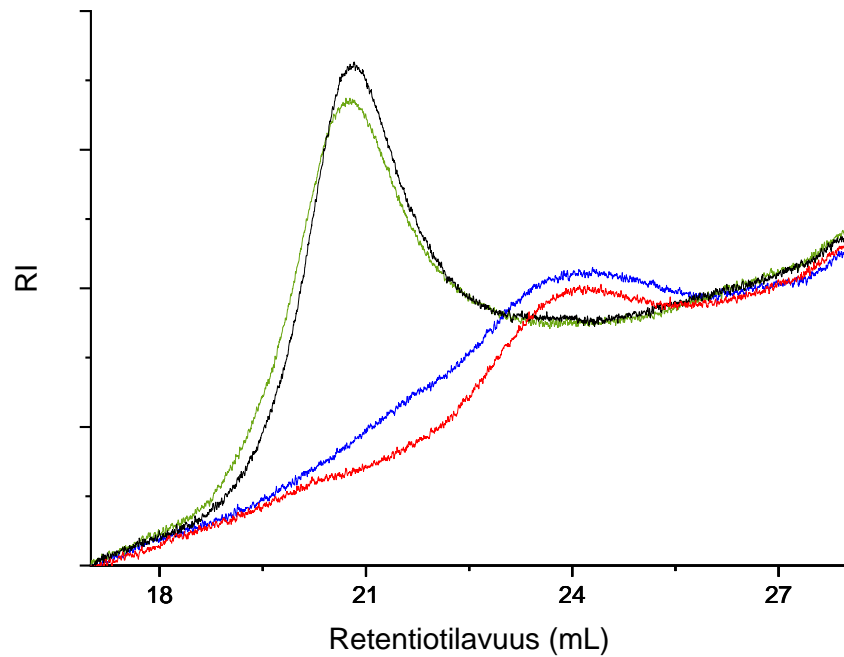
**Taulukko 7.3.** PDMAEMA:n ja lohkopolymerien reaktioissa käytetyt ainemääräsuhteet ja NMR-spektreistä lasketut lukukeskimääräiset moolimassat, konversiot ja yksiköiden lukumäärät. Lisäksi kokoekskluusiokromatografialla määritetyt polydispersiteetit ja lukukeskimääräiset moolimassat on esitetty.

	[M]:[CTA]:[I]	Konversio (%)	M <sub>n</sub> (NMR) (g/mol)	M <sub>n</sub> <sup>a</sup> (SEC) (g/mol)	PDI <sup>a</sup>
PDMAEMA <sub>436</sub>	300:1:0,1	81,7	68 850	18050	1,51
PDiPrAEMA <sub>72</sub> PDMAEMA <sub>31</sub>	225:1:0,2	11,2	20 600	6480	1,73
PDMAEMA <sub>436</sub> PDiPrAEMA <sub>49</sub>	220:1:0,2	45,1	79 370	22020	1,62

<sup>a</sup>Mitattu kokoekskluusiokromatografisesti.

Taulukosta 7.3 nähdään sama kuin homopolymerien tapauksessa; NMR-spektroskopian avulla määritetyt moolimassat ovat paljon suurempia kuin SEC:n avulla määritetyt. Kuvassa 7.4 on esitetty lohkopolymerien ja niiden valmistuksessa käytettyjen homopolymerien SEC-kuvaajat. Kuvasta nähdään, että lohkopolymerien retentiotilavuudet vastaavat niiden synteesissä käytettyjen makroketjunsiiirtäjien retentioita. Tämä viittaa siihen, että polymeroinneissa muodostuneet ketjut ovat niin lyhyitä makroketjunsiiirtäjiin verrattuna, etteivät ne vaikuta polymerien

retentiotilavuuksiin merkittävästi.

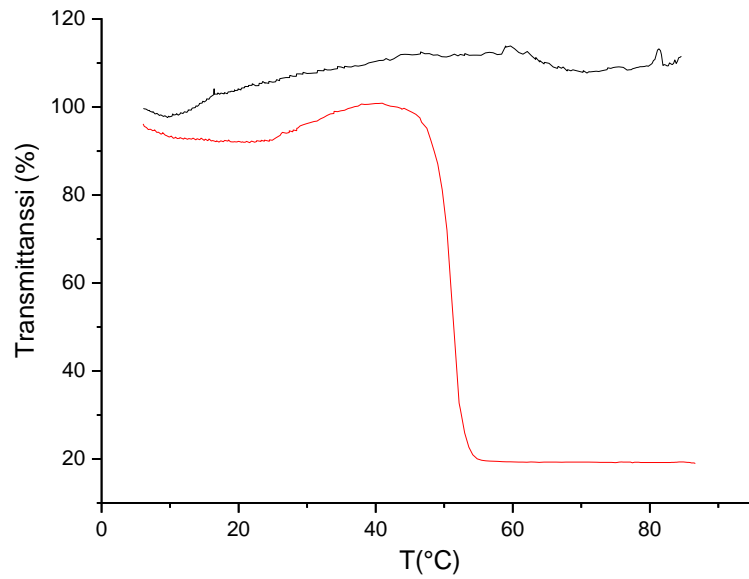


**Kuva 7.4.** PDiPrAEMA<sub>72</sub>:n (punainen), PDMAEMA<sub>436</sub>:n (musta), PDiPrAEMA<sub>72</sub>-PDMAEMA<sub>31</sub>:n (sininen) ja PDMAEMA<sub>436</sub>-PDiPrAEMA<sub>49</sub>:n (vihreä) SEC-kuvaajat.

## 7.2. Transmittanssimittaukset

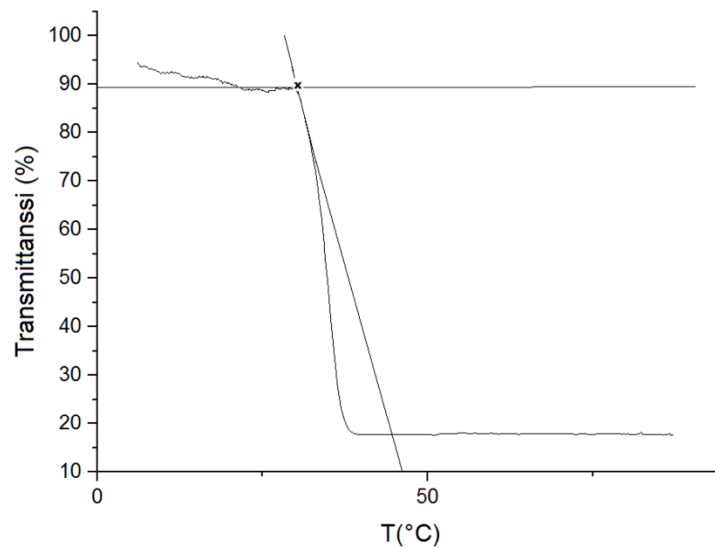
Lämpöherkkien polymeerien faasimuutoksia voidaan seurata mittaamalla polymeeriliuoksen transmittanssia lämpötilan funktiona. Kun lämpötila nousee yli samentumispuheen, muodostuu polymeerifaasi, joka siroaa valoa voimakkaasti ja laskee liuoksen transmittanssia. Vastaavasti jäähdytyksen aikana faasit sekoittuvat uudelleen ja transmittanssi nousee.<sup>10</sup>

Transmittanssimittauksia tehtiin viisi mittaussarjaa. Mittaussarjalla tarkoitetaan tässä mittauksia, jotka on tehty tietyllä puskuri- tai suolakonsentraatiolla pH:n funktiona. Ensimmäinen mittaussarja oli 20 mM sitraatilla puskuroituna, toinen 20 mM fosfaatilla puskuroituna ja kolmas 250 mM NaCl -liuoksessa. Näiden lisäksi tehtiin mittaussarjat 500 mM NaCl -konsentraatiolla ja 20 mM sulfaattiliuoksessa. Kahden viimeisen mittaussarjan mittauksissa ei kuitenkaan havaittu transitoita. Huomattavaa on myös, että faasitransitiota ei havaittu puhtaassa vedessä (Kuva 7.5).



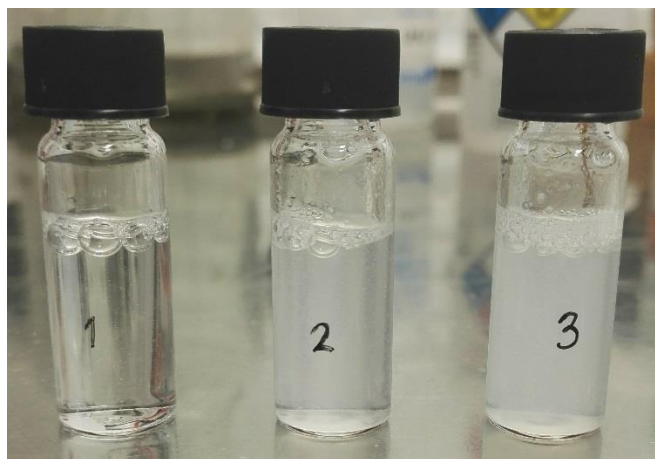
**Kuva 7.5.** PDiPrAEMA:n transmittanssi lämpötilan funktiona puhtaassa vedessä pH-arvossa 5,47 on merkitty mustalla ja 20 mM sitraatilla puskuroituna pH-arvossa 5,57 punaisella.

Turbidimetrisissä mittauksissa samentumispiste on määritetty usein eri tavoin. Tässä työssä suoritetuissa mittauksissa samentumispisteeksi määritettiin kuvan 7.6 mukainen kahden tangentin risteys.



**Kuva 7.6.** Samentumispisteen määritelmä.

Kaikissa mittausarjoissa mittaukset tehtiin mahdollisimman laajalla pH-välillä. Kun pH-arvo oli alhainen, samentumispiste ilmeni yli 90 °C lämpötilassa. Toisaalta korkeissa pH-arvoissa näytteet olivat sameita jo huoneenlämmössä. Kuvassa 7.7 on esitetty puskuroimattomia PDiPrAEMA-näytteitä eri pH-arvoissa.

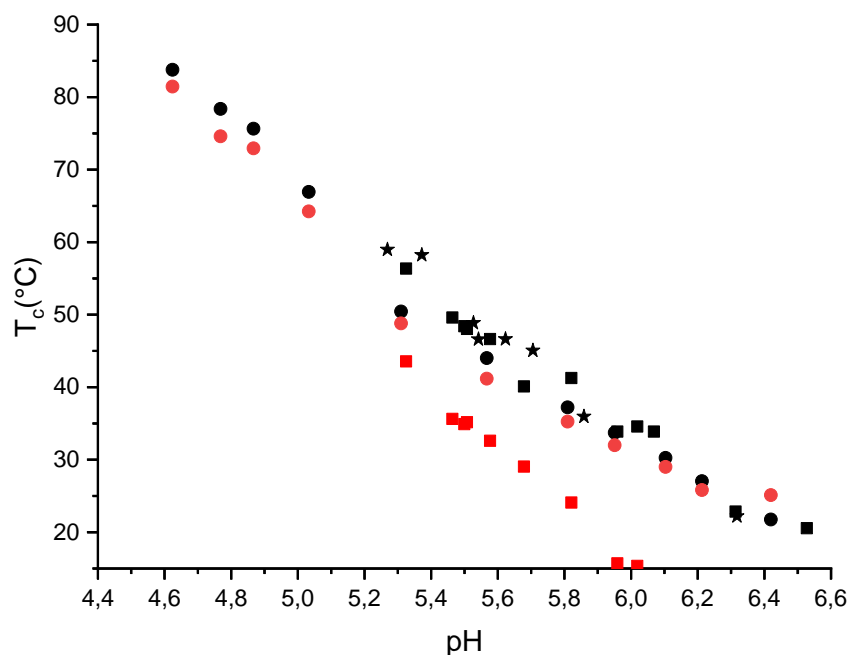


**Kuva 7.7.** Puskuroimattomia PDiPrAEMA-näytteitä eri pH-arvoissa.

1) pH=5,60, 2) pH=6,08, 3) pH=6,19

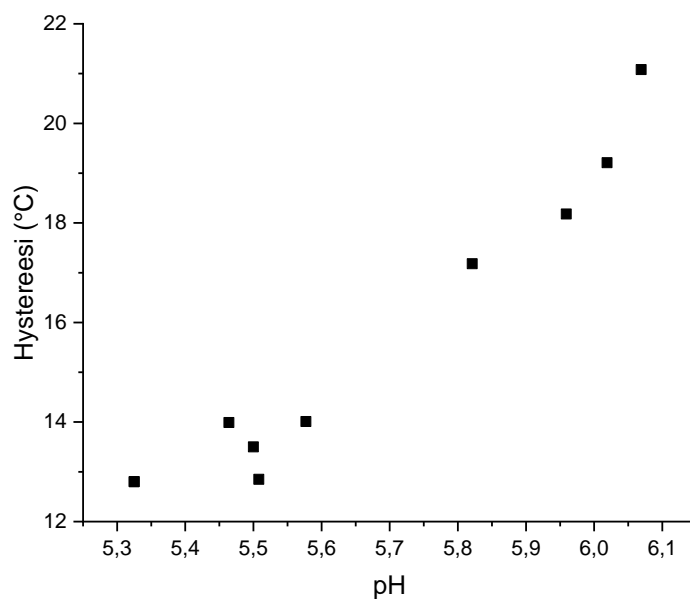
Transmittanssimittauksista määritetyt samentumis- ja kirkastumispisteet on esitetty pH:n funktiona kuvassa 7.8.





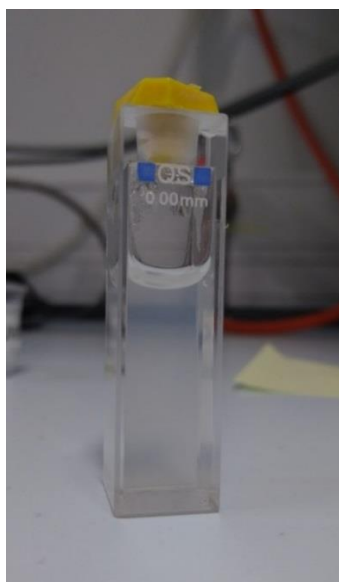
**Kuva 7.8.** PDiPrAEMA<sub>316</sub>:n samentumispiste pH:n funktiona 20mM sitraattipuskurissa lämmitettäessä (●) ja jäädyttäessä (◐), fosfaattipuskurissa lämmittäessä (■) ja jäädyttäessä (◑) ja 250 mM NaCl-liuoksessa lämmittäessä (★). Polymeerin konsentraatio oli 2 mg/mL.

Kuvasta 7.8 nähdään, että sitraatilla puskuroituna polymeerin samentumispiste havaitaan liki samassa pisteessä lämmityksen ja jäähdetyksen aikana. Toisin sanoen sitraatilla puskuroiduissa näytteissä ei nähty merkittävää hystereesiä. Fosfaatilla puskuroidussa liuoksessa sen sijaan hystereesi on merkittävää. Lisäksi nähdään, että sen hystereesi kasvaa hieman pH:n noustessa (Kuva 7.9). Se, että hystereesi kasvaa pH:n noustessa viittaa siihen, että polymeerin protonaatiolla on vaikutusta sen jäähdetyksen aikaiseen liukenemiseen. Kun pH on matala ja polymeeri protonoitunut, sen liukeneminen on nopeampaa ja hystereesi sen seurauksena pientä. Sitraatilla puskuroidussa mittausarjassa ei vastaavaa ilmiötä kuitenkaan havaittu; hystereesi pysyi pienenä koko pH-alueella.



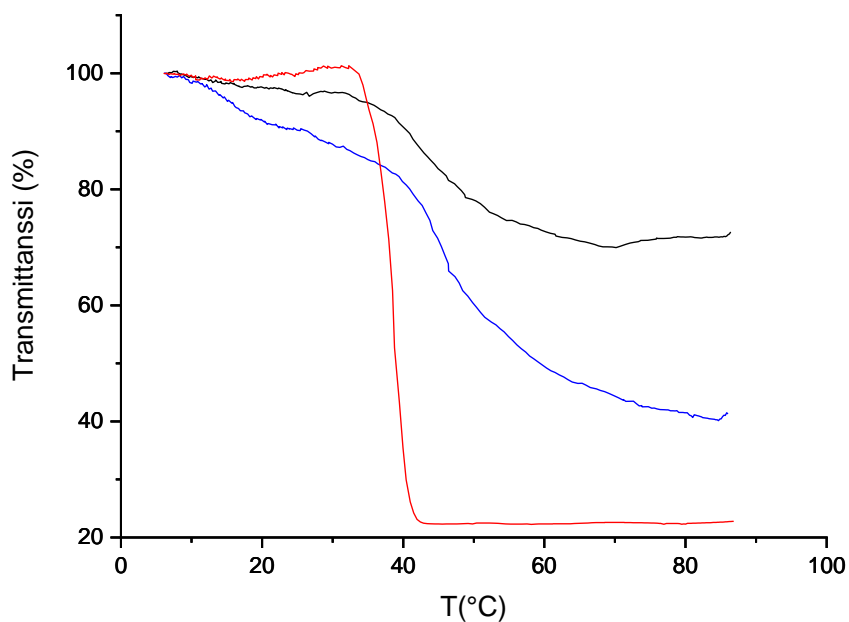
**Kuva 7.9.** 20 mM fosfaatilla puskuroidun PDiPrAEMA-liuoksen hystereesi (samentumis- ja kirkastumispisteiden erotus) pH:n funktiona.

NaCl-mittaussarjan mittausten jäähdytyksistä ei saatu määritettyä kirkastumispisteitä. Syy tähän on pääosin hystereesi, sillä suuri osa näytteistä oli sameita yhä jäähdytyksen jälkeen. Kuvassa 7.10 on esitetty 250 mM NaCl-näyte, joka oli samea yhä jäähdytyksen jälkeen.



**Kuva 7.10.** 250mM NaCl-näyte kylmänä jäähdytyksen jälkeen. pH 6,32. Lämmittäessä näytteen samentumispiste oli 23,0 °C.

On huomion arvoista, että mittauksista saadut käyrät poikkesivat eri mittaussarjoissa merkittävästi toisistaan. Sitraatilla puskuroiduilla näytteillä nähtiin suuria ja teräviä transitoita. Fosfaatilla puskuroiduissa näytteissä havaittu muutos oli pienempi. Syy liittyy luultavasti liuoksen ionivahvuuteen, sillä sitraatilla puskuroitujen näytteiden ionivahvuus oli vastaavia fosfaattipuskuroituja näytteitä suurempi. Polymeerin faasitransitioita mitattiin siksi seuraavaksi natriumkloridiliuoksissa, joiden ionivahvuus ylitti sitraatilla puskuroidun sarjan merkittävästi. Kuitenkin tyypillisesti havaitut transitiot olivat joko samaa kokoluokkaa fosfaatilla puskuroitujen näytteiden kanssa tai niitä pienempiä. Kuvassa 7.11 on esitetty esimerkit jokaisen sarjan mittauskäyristä likimain samoissa pH-arvoissa. Tästä voitiin päätellä, että ionivahvuus ei ole pääsyyinä havaittujen transitioiden laatueroavaisuuksiin.



**Kuva 7.11.** Vertailu eri mittaussarjoista saaduista tuloksista. Punainen: 20 mM sitraatti, pH 5,95. Sininen: 20 mM fosfaatti, pH 5,96. Musta: 250 mM NaCl, pH 5,86.

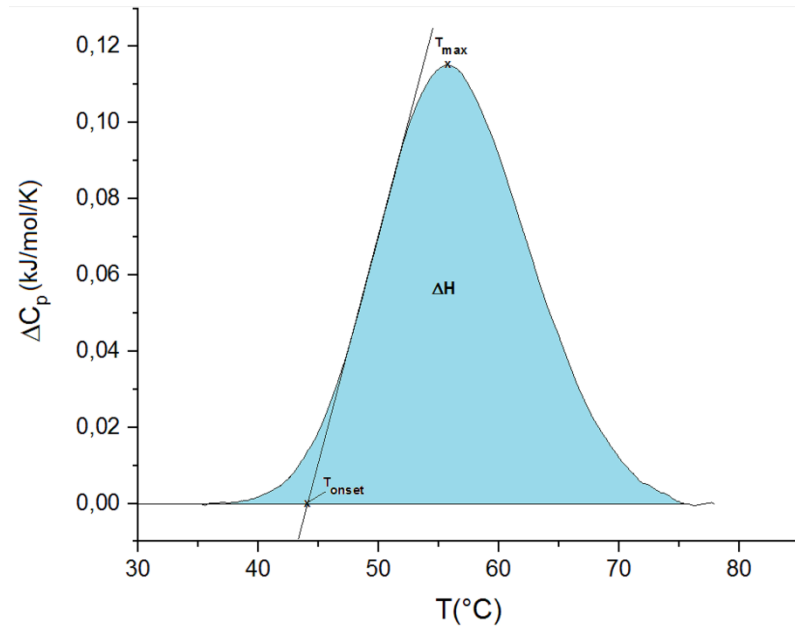
Sen lisäksi, että sitraatilla puskuroiduilla näytteillä havaittiin terävämmät ja kapeammat faasitransitiot, transitiot olivat määritettävissä laajemmalla pH-välillä. Sitraatilla puskuroiduista näytteistä määritettiin faasitransition lämpötiloja pH-välillä 4,6–6,4. Fosfaatilla puskuroiduissa näytteissä transitoita havaittiin vain, kun liuoksen pH oli 5,3–6,5. Molemmat olivat 6,5 ylittävässä pH:ssa sameita jo huoneenlämmössä. Tämä liittyyneen puskurin ja polymeerin erilaisiin vuorovaikutuksiin ja ehkä osin siihen, että mittaussarjan matalan pään pH-arvot ovat kaukana fosfaatin pKa-arvoista (2,15, 7,20 ja 12,35<sup>50</sup>). Fosfaatin puskurikapasiteetti on tällöin huonompi kuin sitraatin, jonka pKa:t ovat 3,13, 4,76 ja 6,40.<sup>50</sup>

### 7.3. DSC

#### 7.3.1. PDiPrAEMA

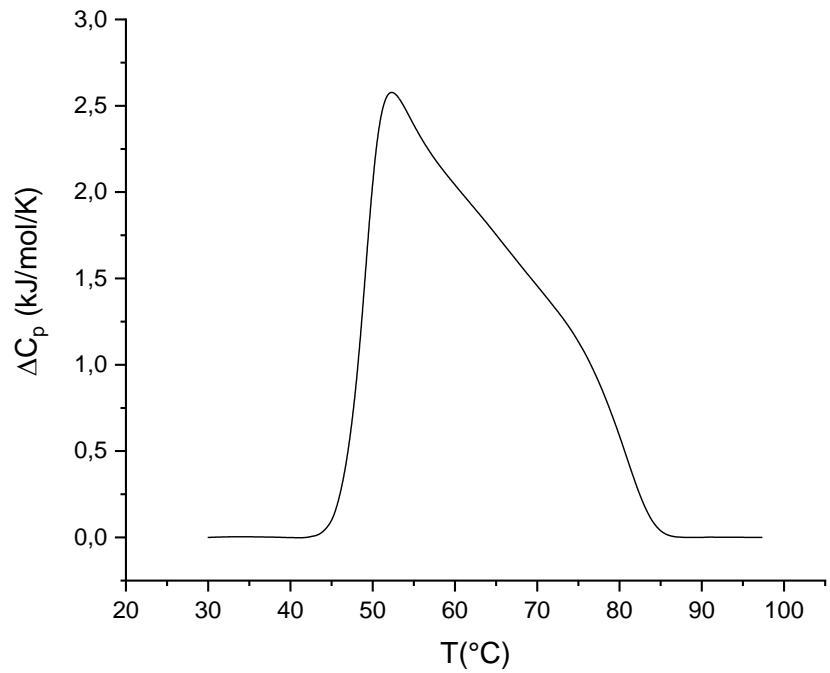
Polymeerin ja vesimolekyylien välisten vetysidosten katkeamisen vuoksi muutos vyyhtimäisestä konformaatiosta globulaariseen on endoterminen prosessi. Näin ollen sitä voidaan tarkastella kalorimetrin menetelmän.<sup>10</sup>

Polymeeriliuosten ja käytetyn liuottimen lämpökapasiteettien eroja mitattiin lämpötilan funktiona mikrokolorimetrillä. Mittauksista määritettiin näytteen faasitransitioon liittyvä entalpian muutos ( $\Delta H$ ) ja transition maksimilämpökapasiteettia vastaava lämpötila ( $T_{max}$ ). Lisäksi määritettiin kohta, jossa piikki alkaa ( $T_{onset}$ ). Kuten transmittanssimittauksissa,  $T_{onset}$  on määritetty termogrammista kahden tangentin risteyskohtana. Tässä tapauksessa on käytetty tangenttia kohdasta, jonka jälkeen lämpökapasiteetti alkaa nousta ja kohdasta, jossa piikki on jyrkimmillään. Käyrän jyrkin kohta valittiin käyrän toisen derivaatan perusteella. Kuva 7.12 on eräästä mittauksesta saatu, sovitettu termogrammi, johon on merkitty selvitettyt määreet.

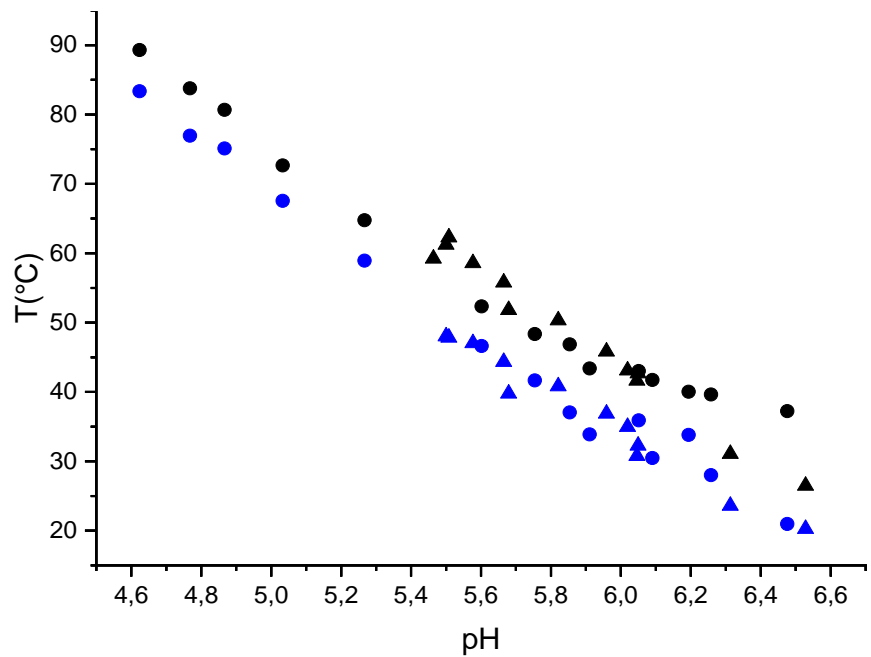


**Kuva 7.12.** Mikrokolorimetrisesta mittauksesta saatu termogrammi, johon on merkitty selvitettävät määreet. 20 mM fosfaatilla puskuroitu PDiPrAEMA, pH 5,67.

DSC-mittauksia tehtiin transmittanssimittauksista ne kolme mittaussarjaa, joissa havaittiin faasitransitio. 250 mM NaCl-mittaussarjasta ei kuitenkaan havaittu transitioita. Eri puskureissa mitattujen näytteiden termogrammien profiilit olivat erilaisia. Sitraatilla puskuroitujen näytteiden termogrammit olivat yleensä saman tyyppisiä kuin PDMAEMA:lla<sup>51</sup>; alussa nähdään terävä nousu minkä jälkeen käyrä laskee häntien (Kuva 7.13). Fosfaatilla puskuroitujen näytteiden tulokset olivat symmetrisempiä, kuten kuvan 7.12 termogrammi. Sitraatilla ja fosfaatilla puskuroitujen näytteiden transitioiden maksimilämpökapasiteettien lämpötilat ( $T_{\text{max}}$ ) ja  $T_{\text{onset}}$  on esitetty pH:n funktiona kuvassa 7.14.

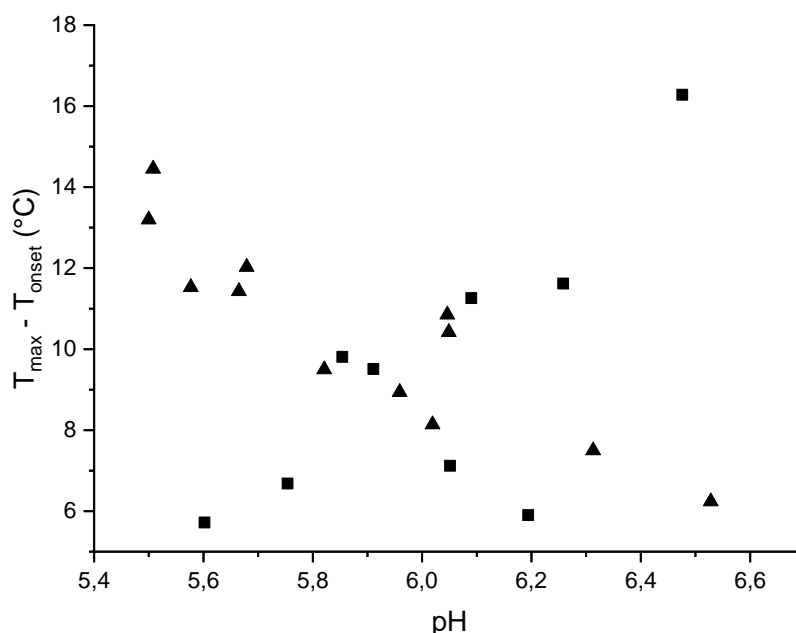


**Kuva 7.13.** Termogrammi 20 mM sitraatilla puskuroidun PDiPrAEMA-näytteen lämmityksestä, pH 5,60.



**Kuva 7.14.** PDiPrAEMA:n  $T_{max}$  pH:n funktiona 20 mM sitraatilla puskuroituna (●) ja 20 mM fosfaatilla puskuroituna (▲). PDiPrAEMA:n  $T_{onset}$  sitraatilla (●) ja fosfaatilla (▲) puskuroiduissa liuksissa pH:n funktiona.

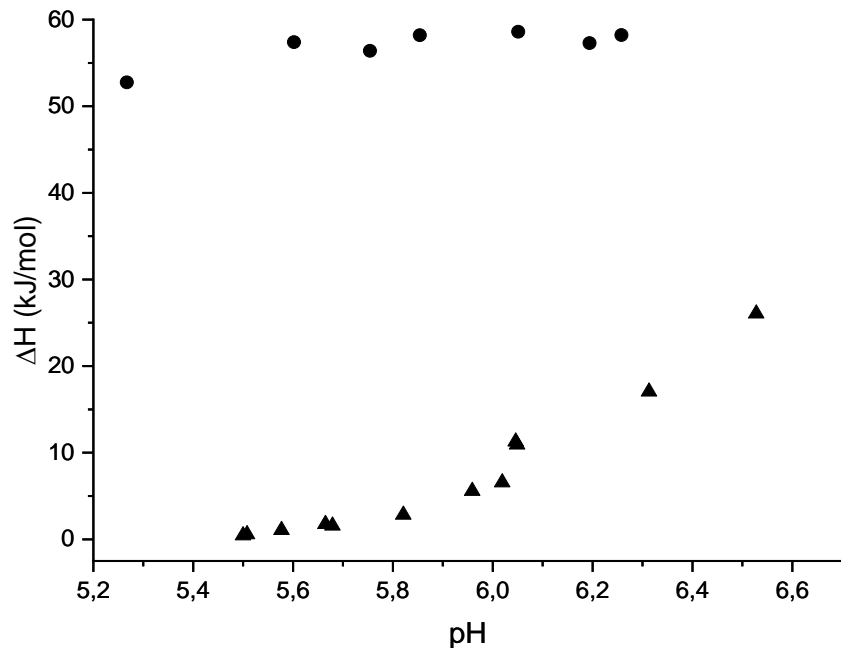
Kuvasta 7.14 nähdään, että  $T_{\max}$  pH:n funktiona käyttäytyy samalla tavalla kuin samentumispiste transmittanssimittauksissa. Lisäksi, samoin kuin transmittanssimittauksissa, havaitaan että fosfaattipuskurissa piikit ovat huomattavasti leveämpiä kuin sitraatissa. Transiio siis tapahtuu laajemmalla lämpötilavälillä. PDiPrAEMA:n faasitransitioiden leveydet pH:n funktiona käyttäytyvät eri tavoin sitraatilla ja fosfaatilla puskuroiduissa liuoksissa (Kuva 7.15). Sitraatilla puskuroitujen liuosten transitiot levenevät hieman pH:n kasvaessa, mutta fosfaatilla puskuroitujen liuosten transitiot kaventuvat pH:n noustessa. Tässä transition leveydellä tarkoitetaan transition alkukohdan ( $T_{\text{onset}}$ ) ja faasitransition huipun ( $T_{\max}$ ) lämpötilojen erotusta.



**Kuva 7.15.** 20 mM sitraatilla (■) ja 20 mM fosfaatilla (▲) puskuroidun PDiPrAEMA:n faasitransition alku- ja huippukohtien erotus ( $T_{\max} - T_{\text{onset}}$ ) pH:n funktiona.

Entalpiian muutos pH:n funktiona käyttäytyy PDiPrAEMA:n tapauksessa päinvastoin kuin PDMAEMA:lla. PDMAEMA:n entalpiian muutoksen tiedetään laskevan pH:n noustessa.<sup>28, 52</sup> PDiPrAEMA:n faasimuutoksen entalpiian muutoksen havaittiin kasvavan pH:n kasvaessa sekä sitraatilla että fosfaatilla puskuroiduissa näytteissä (Kuva 7.16). Sitraatilla puskuroiduissa näytteissä entalpiian nousu ei kuitenkaan ole yhtä suuri.

Polymeerin hydrofobisuus kasvaa pH:n noustessa, joten polymeeria ympäröivän järjestäytyneen vesikerroksen vesi-vesi -vetysidosten määrä kasvaa pH:n mukana. Näitä vetysidoksia katkeaa faasitransition aikana ja se havaitaan entalpien muutoksena. PDiPrAEMA:n faasitransition entalpien muutos siis kasvaa pH:n noustessa.



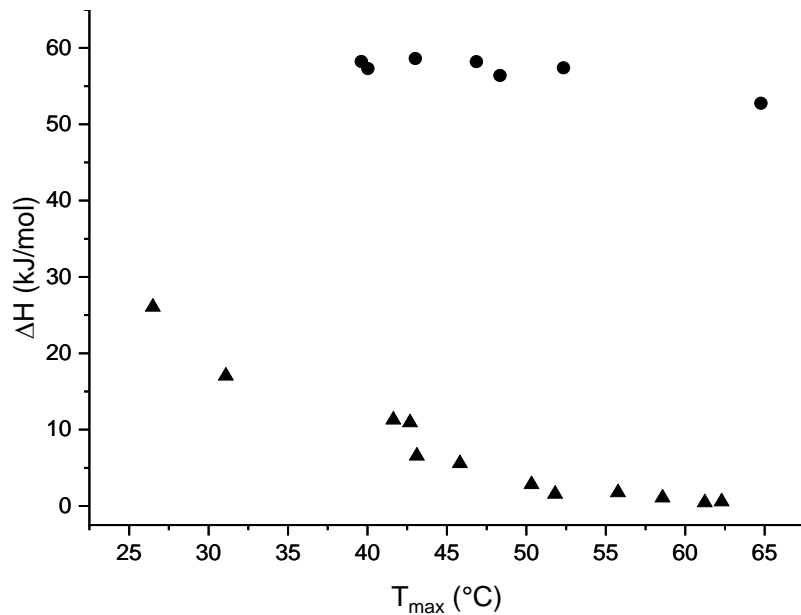
**Kuva 7.16.** Entalpien muutos pH:n funktiona 20 mM fosfaatilla (▲) ja sitraatilla (●) puskuroiduissa liuksissa.

Kuvassa 7.17 on esitetty PDiPrAEMA:n faasitransitioiden entalpiamuutokset  $T_{max}$ :n funktiona. Toisin kuin PDMAEMA:n tapauksessa, faasimuutoksen entalpia laskee muutoslämpötilan kasvaessa. Tämä käyttäytyminen on LCST-polymeereille tyypillistä ja PDMAEMA on poikkeus.<sup>19, 53-54</sup>

Faasitransition entalpien osa-aiheuttaja on polymeerin hydrofobisia osia ympäröivien järjestäytyneiden vesi-vesi -vetysidosten katkeaminen. LCST:n alapuolella pooliset ryhmät muodostavat vetysidoksia ympäröivien vesimolekyylien kanssa. Poolittomat ryhmät sitä vastoin kapseloituvat ympäröivien vesimolekyylien muodostamaan hydrataatiokuoreen. Näiden järjestäytyneiden vesimolekyylien väliset vetysidokset katkeavat kun LCST ylitetään. LCST määräytyy pitkälti polymeerin hydrofiilisyyshydrofobisuus -



tasapainon mukaan. Useasti hydrofiilisten komponenttien lisääminen nostaa LCST:n arvoa. LCST:n ollessa korkea polymeeri on todennäköisesti melko hydrofiilinen ja hydrataatiokerroksen vesi-vesi -sidoksia havaitaan suhteessa vähemmän.<sup>19</sup> Näin ollen faasitransition lämpötilan kasvaessa entalpiamuutos pienenee.



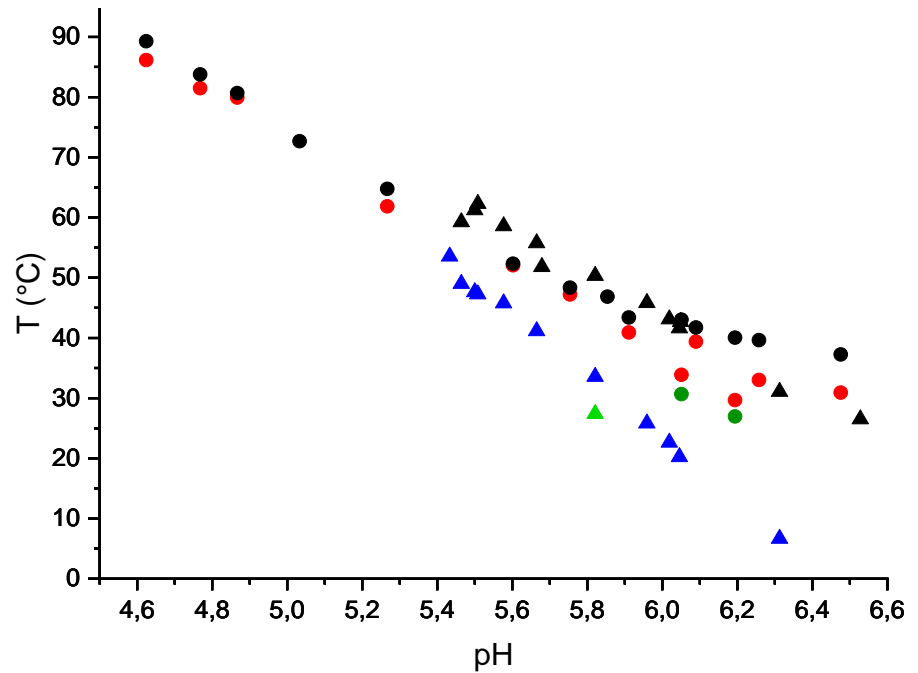
**Kuva 7.17.** Entalpien muutos  $T_{\max}$ :n funktiona 20mM fosfaatilla (▲) ja sitraatilla (●) puskuroiduissa liuoksissa.

Sitraatilla puskuroitujen näytteiden faasitransitioiden entalpiamuutokset olivat huomattavasti suurempia kuin vastaavien fosfaatilla puskuroitujen näytteiden entalpiamuutokset. Sitraatilla puskuroidun polymeerin faasimuutokseen liittyvä endoterminen prosessi on siis huomattavasti voimakkaampi. Puskureiden protonaation entalpiat voivat olla havaittujen eroavaisuuksien taustalla. Fosfaatin protonaation ( $\text{H}_2\text{PO}_4^- = \text{H}^+ + \text{HPO}_4^{2-}$ , pKa 7,20) entalpia on -5,1 kJ/mol.<sup>55</sup> Sitraatin ensimmäisen protonaation ( $\text{L}^{3-} + \text{H}^+ = \text{H}_2\text{L}^{2-}$ , missä  $\text{L} = \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ; pKa 6,40) entalpia on 3,3 kJ/mol. Sitraatin toisen protonaation entalpia ( $\text{HL}^{2-} + \text{H}^+ = \text{H}_2\text{L}$ ; pKa 4,76) on -2,0 kJ/mol.<sup>56</sup> Se, että sitraatin ensimmäisen protonaation entalpiamuutos on positiivinen, selittää hieman sitraatilla puskuroitujen näytteiden suurta endotermistä entalpiamuutosta. Toisen protonaation entalpiamuutos on negatiivinen,

mutta yhä vähemmän negatiivinen kuin fosfaatin protonaation entalpia. Sitraatilla puskuroitujen PDiPrAEMA-näytteiden faasitransitioiden entalpioiden muutokset olivat kuitenkin moninkertaisia – jopa monikymmenkertaisia – fosfaatilla puskuroituihin näytteisiin verrattuna. Puskureiden protonaatioiden entalpiamuutokset eivät kuitenkaan eroa toisistaan niin paljon, että se yksin selittäisi faasitransitioiden entalpioiden muutosten väliset eroavaisuudet.

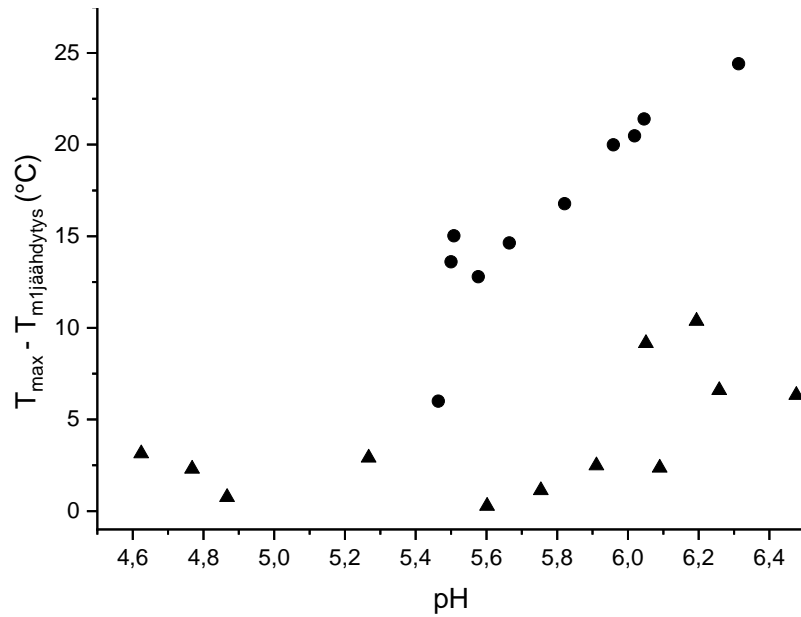
Polymeeriketjun dehydrataatio ajaa faasitransitiota eteenpäin<sup>19</sup> ja voi olla, että puskuri edesauttaa prosessia. Se taas saattaa liittyä polymeerin emäksisten yksikköjen faasitransition aikaiseen deprotonaatioon.<sup>53</sup> Puskuri voi tällöin vastaanottaa protonin ja edesauttaa faasitransitiota.<sup>57</sup> Jos kyse on tällaisesta prosessista, puskurikapasiteetilla on merkitystä ja se voisi osin selittää sitraattipuskurin tehokkuuden fosfaattiin verrattuna. Vaihtoehtoisesti erojen taustana voi olla esimerkiksi puskureiden anionien sitoutuminen polymeeriin tai sitä ympäröivään hydrataatiokerrokseen.

Jäähdytyksistä määritettiin vain piikin maksimi eli kohta, jossa lämpökapasiteetti oli pienimmillään ( $T_m$ ). Saadut tulokset on koottu kuvaan 7.18. Osassa jäähdytyksistä havaittiin kaksi piikkiä. Tämä viittaa siihen, että jäähdytyksen aikainen aggregaattien liukeneminen tapahtuu kahdessa osassa. Vastaava tilanne on havaittu esimerkiksi PDMAEMA:a tutkittaessa. Tämän taustalla saattaa olla polymeeriketjun varautuneisuus. Liukenemisen alkuvaiheissa polymeeriketjut ovat protonoituneita, mikä edesauttaa polymeerin turpoamista ja siten liukenemista.<sup>52</sup> PDiPrAEMA:n tapauksessa kahden vaiheen liukeneminen kuitenkin ilmenee suhteellisen korkeissa pH-arvoissa. Tämä saattaa johtua siitä, että PDiPrAEMA:n protonaatioaste on matalampi ja liukenemista nopeuttavat repulsiot vähäisempiä.



**Kuva 7.18.** PDiPrAEMA:n  $T_{\max}$  (●) ja jäähdytysten  $T_{m1}$  (●) ja  $T_{m2}$  (●) 20 mM sitraatilla puskuroidussa liuoksessa; PDiPrAEMA:n  $T_{\max}$  (▲) ja jäähdytysten  $T_{m1}$  (▲) ja  $T_{m2}$  (▲) 20 mM fosfaatilla puskuroidussa liuoksessa.

Kun jäähdytyksistä saatuja termisen tapahtuman maksimeja verrataan lämmityksiin, nähdään sama kuin transmittanssimittauksissa; sitraatilla puskuroitujen näytteiden hystereesi oli pientä. Toisin kuin transmittanssimittauksissa, havaittiin että myös sitraatilla puskuroidun PDiPrAEMA-liuoksen hystereesi kasvaa hieman pH:n noustessa. Nousu tosin on hyvin pientä, eikä läheskään niin merkittävää kuin fosfaatilla puskuroiduissa liuoksissa (Kuva 7.19). Fosfaatilla puskuroitujen näytteiden hystereesi oli kokoluokaltaan samaa kuin transmittanssimittauksissa. Lisäksi fosfaatilla puskuroiduissa liuoksissa havaittiin sama hystereesin kasvu pH:n funktiona kuin transmittanssimittauksissa. Tämä tukee ehdotusta siitä, että polymerin protonaatio nopeuttaa polymerin liukenemistä.



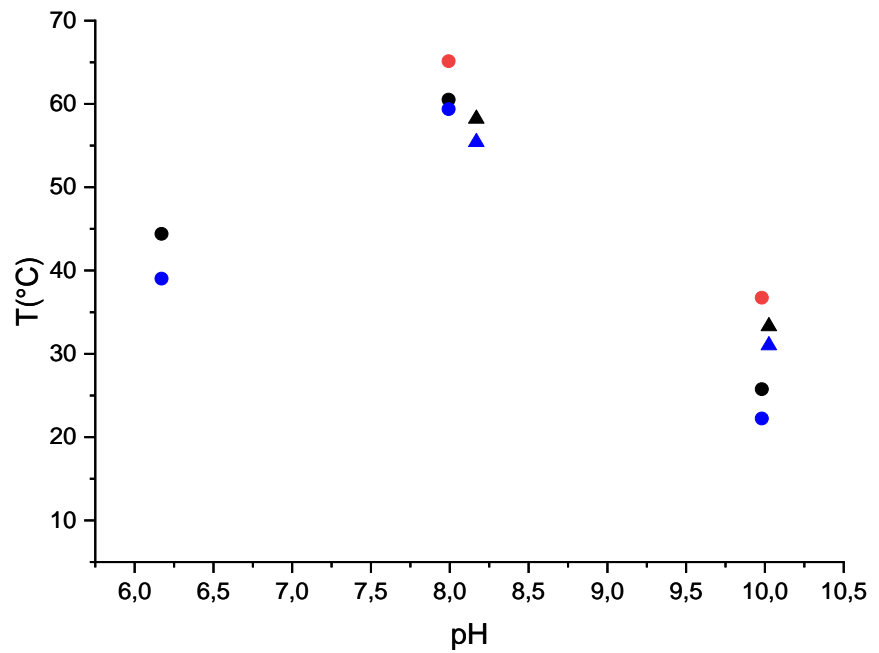
**Kuva 7.19.** 20 mM fosfaatilla (●) ja 20 mM sitraatilla (▲) puskuroitujen PDiPrAEMA-liuosten hystereesi pH:n funktiona.

### 7.3.2. Lohkopolymeeri ja PDMAEMA

PDiPrAEMA:n lisäksi mitattiin syntetisoitu PDMAEMA<sub>436</sub>PDiPrAEMA<sub>49</sub>-lohkopolymeeri kolmessa pH-arvossa (6,8 ja 10) ja PDMAEMA kahdessa pH-arvossa (8 ja 10). Kuten PDiPrAEMA:n tapauksessa, saaduista termogrammeista määritettiin  $T_{\max}$ ,  $T_{\text{onset}}$  ja faasimuutoksen entalpiamuutos. Kaikki näytteet olivat puskuroituja. Näytteet pH-arvossa 6 ja 8 olivat fosfaatilla puskuroituja ja pH:n 10 näytteet oli puskuroitu boraatilla.

Saadut  $T_{\max}$  ja  $T_{\text{onset}}$ :t on esitetty kuvassa 7.20 pH:n funktiona.

Lohkopolymeerin tapauksessa havaittiin pH-arvoissa 8 ja 10 kaksi huippua. Koska PDiPrAEMA:lla ei havaita faasitransitiota näin korkeissa pH-arvoissa, on luultavaa, että piikit ovat PDMAEMA-homopolymerin ja ns. hydrofobisella pääteryhmällä, PDiPrAEMA:lla, varustettu lohkopolymerin PDMAEMA-lohko. Homopolymeeri on lohkopolymeria hydrofiilisempi, joten sen faasitransitio on korkeammalla kuin lohkopolymerin.

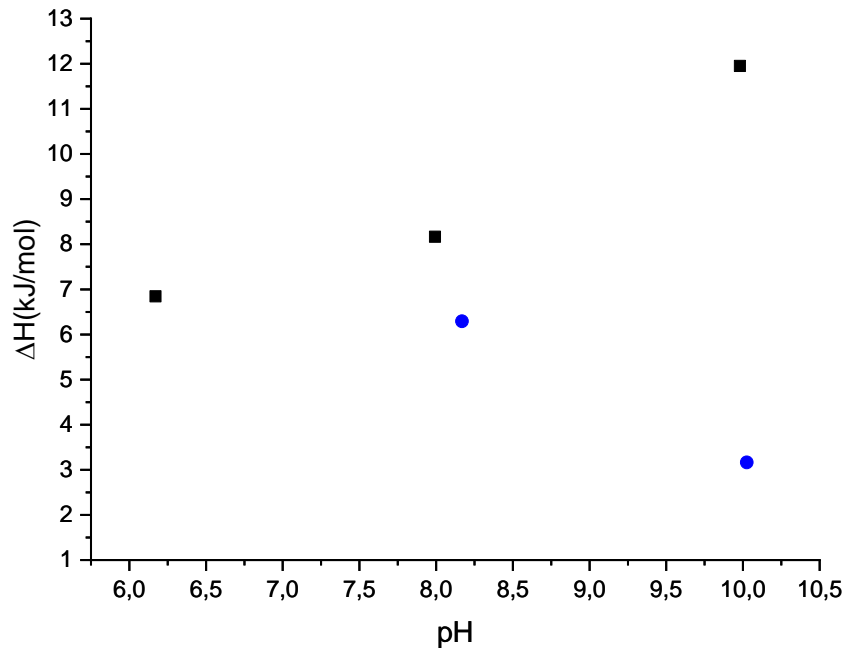


**Kuva 7.20.** PDMAEMA:n  $T_{max}$  (▲) ja  $T_{onset}$  (▲) ja PDMAEMA-PDiPrAEMA:n  $T_{max}$ :t (●)(●) ja  $T_{onset}$  (●).

Määritellyistä transitioiden lämpötiloista havaitaan, että lohkopolymerin faasitransitioiden lämpötilojen käyttäytyminen pH:n funktiona muistuttaa suuresti PDMAEMA:a pH-arvoissa 8 ja 10. Lohkopolymerilla havaittiin transiitio pH-arvossa 6, kun näyte oli puskuroitu fosfaatilla.

Puskuroimattomassa pH:n 6 näytteessä transitiota ei ollut havaittavissa.

Homo- ja lohkopolymerin eroavaisuudet ovat paremmin havaittavissa, kun tarkastellaan transitioiden entalpioita. Kuvassa 7.21 on esitetty mitattujen näytteiden faasitransitioiden entalpioiden muutokset pH:n funktiona.



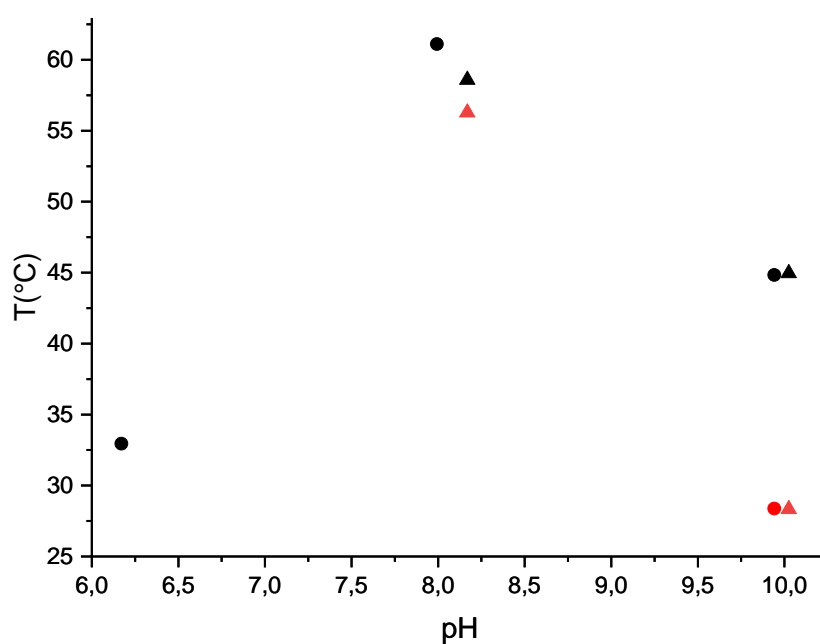
**Kuva 7.21.** PDMAEMA<sub>436</sub>PDiPrAEMA<sub>49</sub>-lohkopolymeerin (■) ja PDMAEMA-homopolymeerin (●) faasitransitioiden entalpien muutokset toistuvien yksiköiden konsentraatioihin normalisoituna pH:n funktiona. Lohkopolymeerin pH:n 6 näyte on normalisoitu PDiPrAEMA:n konsentraatioon ja sitä korkeammat PDMAEMA:n.

Entalpioiden muutoksista havaitaan, että lohkopolymeerin käyttäytyminen muistuttaa PDiPrAEMA:a. Kuten PDiPrAEMA:n tapauksessa, nähdään, että faasimuutoksen entalpia kasvaa pH:n funktiona. Tilanne on päinvastainen PDMAEMA:n kanssa. PDMAEMA:n amiiniryhmien protonaatioasteella on suuri vaikutus faasitransitioon. Mitä protonoituneempi polymeeri on – eli mitä matalampi pH on – sitä enemmän ja voimakkaammin polymeeriin on vetysitoutunut vesimolekyyliä. Faasitransitio on siis endotermisempi ja esiintyy korkeammissa lämpötiloissa pH:n ollessa matala.<sup>32</sup>

Lohkopolymeerin molemmat lohkot ovat sekä pH-, että lämpöherkkiä, minkä perusteella sen pH-entalpiamuutos -käytöksen odottaisi muistuttavan enemmän PDMAEMA:a – etenkin koska sen DMAEMA-osuus on DiPrAEMA:a suurempi.

Kuten PDiPrAEMA-mittauksissa, myös osassa PDMAEMA:n ja lohkopolymeerin jäähdytyksiä havaittiin kaksi termistä tapahtumaa. Kuvaan 7.22 on merkitty kaikki havaitut termisen tapahtuman minimi.

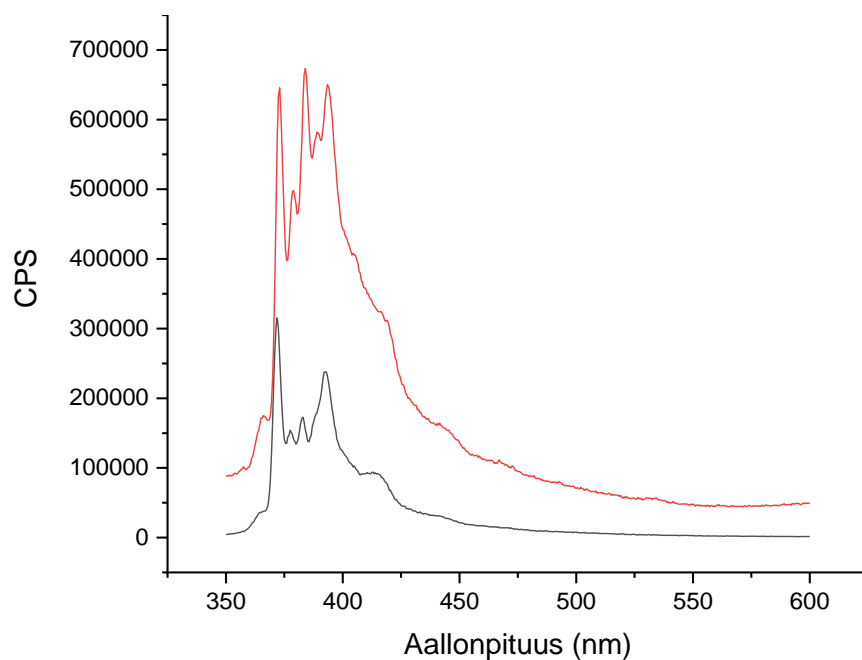
Transmittanssimittauksissa lohkopolymeerilla ei havaittu transitiota pH:ssa 6. pH:ssa 8 sekä homo- että lohkopolymerin jäädytykset vastaavat transmittanssimittauksista saatuja tuloksia. pH:ssa 10 nähdään, että lohkopolymerin molemmat piikit ilmenevät korkeammassa lämpötiloissa kuin nähtiin transmittanssimittauksissa. Transmittanssimittauksissa lohkopolymerin kirkastuspiste oli noin 20 °C pH:n ollessa 10. PDMAEMA-homopolymerin toinen  $T_m$  oli lähellä sitä vastaavan näytteen transmittanssimittauksesta saatua 28 °C faasitransitionin lämpötilaa.



**Kuva 7.22.** PDMAEMA:n (▲)(▲) ja lohkopolymerin (●)(●) jäädytysten termisten tapahtumien maksimien lämpötilat.

#### 7.4. Fluoresenssi

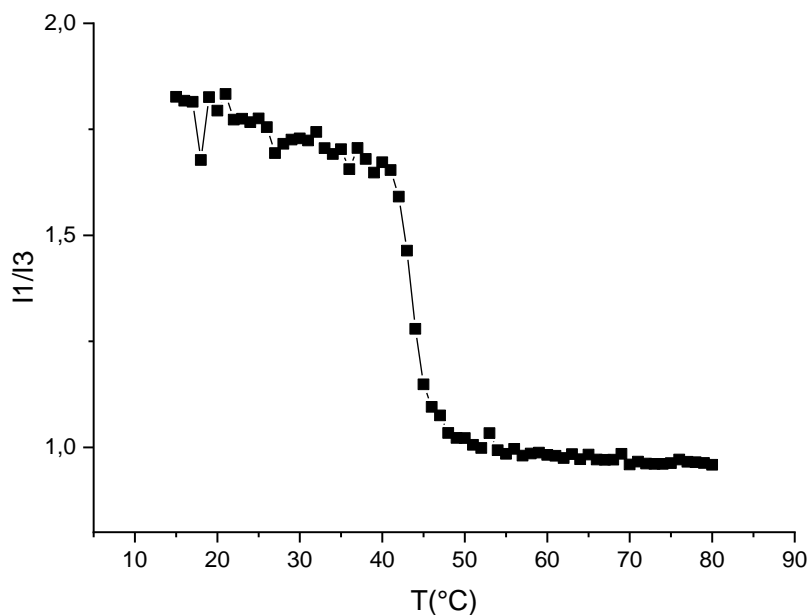
Fluoresenssimittauksissa mitattiin samat kolme mittaussarjaa kuin DSC-mittauksissa. Mittauksissa käytettiin pyreeniä merkkiaineena. Tämä johtuu siitä, että hydrofobisten merkkiaineiden, kuten pyreenin fluoresenssiominaisuuksien tiedetään muuttuvan samentumispisteen yläpuolella. Esimerkiksi PNIPA, joka on LCST-tyypin polymeeri, voi samentumispisteensä yläpuolella asettua hydrofobisten pienmolekyylien ympärille. Tämä muuttaa pyreenin ympäristön poolisuutta ja siten sen emissiospektriä.<sup>31</sup> Pyreenin emissiospektrin piikkien I1 ja I3 suhde riippuu sitä ympäröivän liuoksen poolisuudesta. Mitä poolisemmassa ympäristössä pyreeni on, sitä pienempi on piikkien I1 ja I3 suhde.<sup>58</sup> Esimerkkinä kuvassa 7.23 näytetään PDiPrAEMA:n emissiospektrit 15 ja 80 °C lämpötiloissa.



**Kuva 7.23.** Emissiospektrit 15 °C ja 80 °C lämpötiloissa. PDiPrAEMA 20 mM sitraattiliuoksessa, pH 5,73. 15 °C lämpötilassa mitattu emissio on merkitty mustalla viivalla ja 80 °C punaisella.



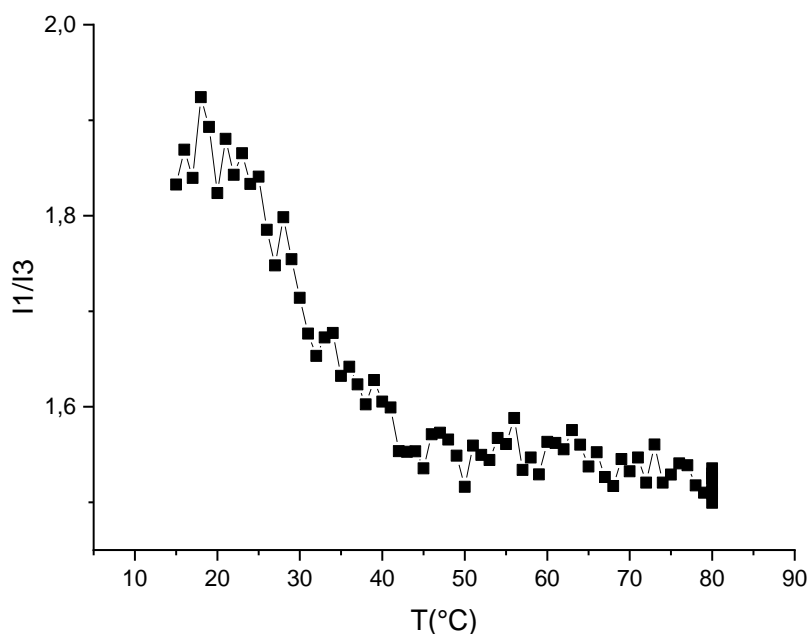
Kuvasta 7.23 nähdään, että  $I1/I3$  laskee merkittävästi korkeassa lämpötilassa. Tämän lisäksi nähdään, että emission intensiteetti kasvaa merkittävästi. Kaikista mitatuista emissiospektreistä laskettiin ensimmäisen ja kolmannen piikin suhde ( $I1/I3$ ), joka piirrettiin lämpötilan funktiona. Kuvassa 7.24 on näytetty esimerkkinä yhden mittauksen  $I1/I3$  lämpötilan funktiona.



**Kuva 7.24.** PDiPrAEMA:n  $I1/I3$  lämpötilan funktiona 20 mM sitraatilla puskuroituna, pH 5,73.

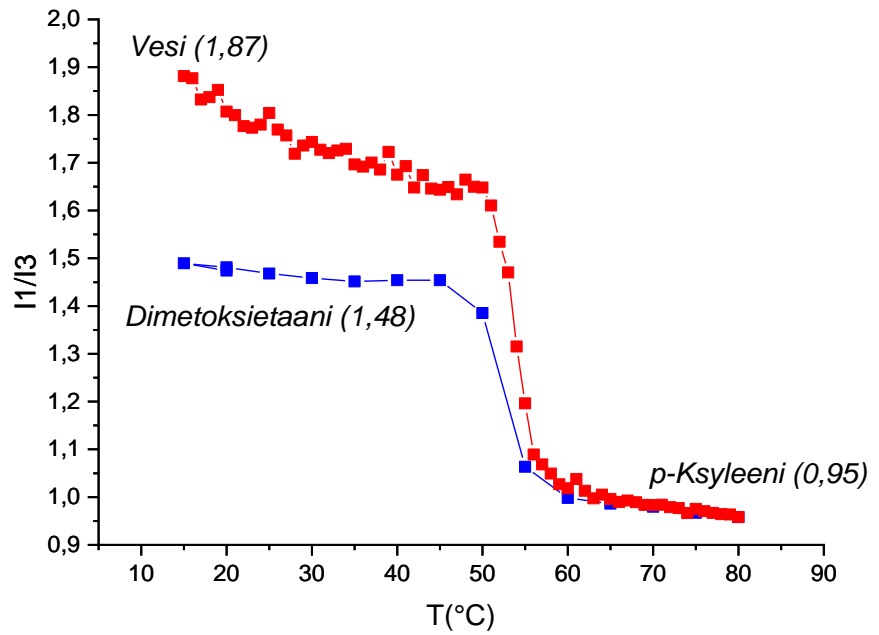
Kuvasta 7.24 nähdään, että alussa  $I1/I3$  on lähelle vedelle tyypillistä arvoa 1,8<sup>59</sup>. Noin 40 °C lämpötilassa arvo laskee merkittävästi ja on 80 °C lämpötilassa enää 0,96, mikä taas on lähellä p-ksyleenille ominaista  $I1/I3$ -arvoa (0,95<sup>59</sup>). Tämä viittaa siihen, että pyreenin ympäristön poolisuus on laskenut merkittävästi faasitransition aikana. Kun lämpötila nousee, PDiPrAEMA:n vetysidokset veden kanssa katkeavat ja polymeeri saostuu. Kuten edellä mainittiin, joidenkin LCST-polymeerien on havaittu sitoutuvan hydrofobisiin pienmolekyyleihin niiden samentumispisteiden yläpuolella. Kun lämpötila nousee, polymeeri sitoo hydrofobisen pyreenin itseensä, minkä seurauksena pyreenin ympäristön poolisuus ja siten  $I1/I3$  muuttuu.<sup>31</sup>

Sekä sitraatilla, että fosfaatilla puskuroiduilla näytteillä havaitut transiitot vastasivat transmittanssimittauksista saatuja tuloksia. Poikkeuksena oli kuitenkin mitattu 250 mM NaCl-sarja, jonka näytteistä vain parissa havaittiin pieni transiitio. Suurimmassa osassa mittauksia ei poolitonta ympäristöä lämmityksen aikana kuitenkaan muodostunut. Toisaalta voi olla, että luhistuneen polymeeriaggregaatin poolisuus on lähellä veden poolisuutta. Kuvassa 7.25 on esitetty yhden NaCl-sarjan mittauksen I1/I3 lämpötilan funktiona, missä on havaittavissa pieni transiitio. Tämä viittaa siihen, ettei vetysidoksia katkea faasitransition aikana. Samasta syystä NaCl-liuoksessa mitatuilla PDiPrAEMA-näytteillä ei havaittu faasitransitioita mikrokolorimetrialla.



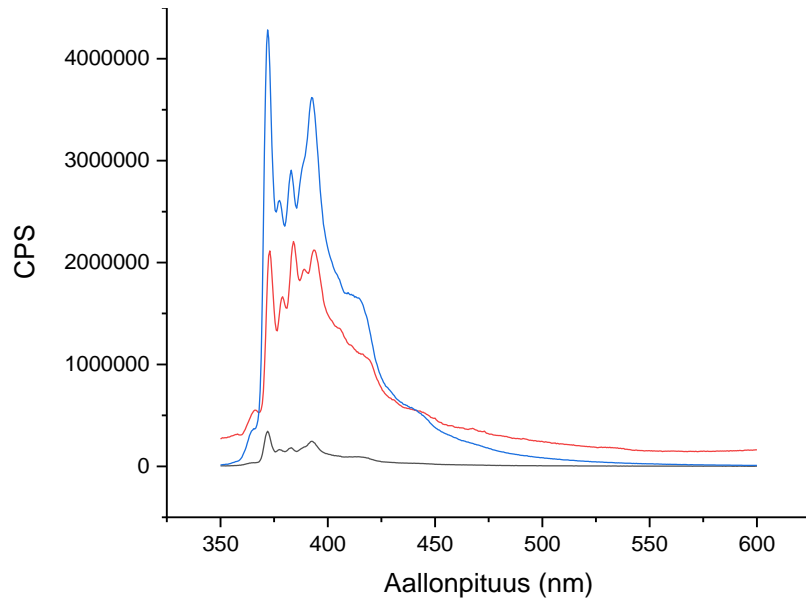
**Kuva 7.25.** PDiPrAEMA:n I1/I3 lämpötilan funktiona 250 mM NaCl-liuoksessa. pH 6,28.

Eräs seikka mikä havaittiin mittauksissa, missä seurattiin myös jäähdystystä, oli että I1/I3 ei palautunut alkuperäiselle tasolle (Kuva 7.26).



**Kuva 7.26.** PDiPrAEMA:n I1/I3 lämpötilan funktiona 20 mM sitraattipuskurissa ja pH-arvossa 5,45. Lämmitys on merkitty punaisella ja jäädytys sinisellä. Alkuhin ja loppuun merkityt liuottimet ovat liuottimia, joiden I1/I3 -arvot muistuttavat näyteliuosta kyseisessä mittauspisteessä.

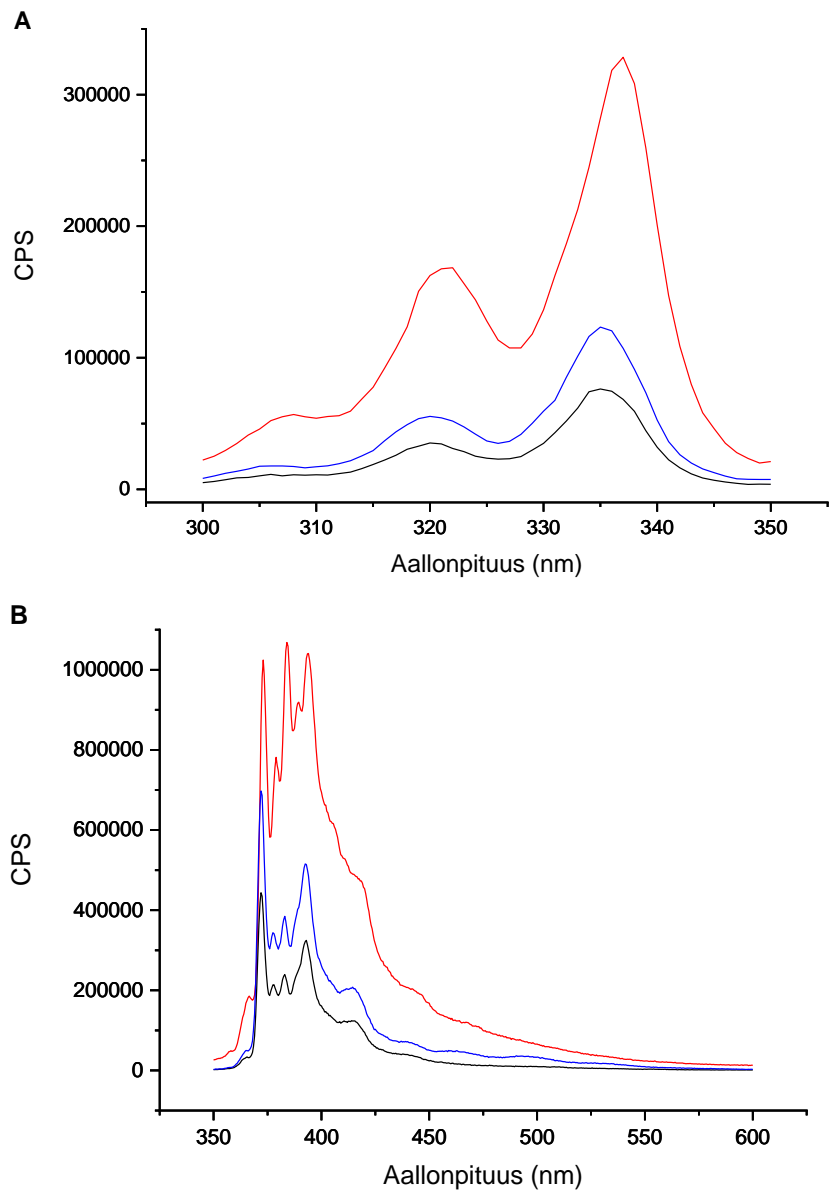
I1/I3:n palautumattomuuden lisäksi havaittiin, että emission intensiteetti oli jäädytyksen jälkeen paljon suurempi kuin ennen lämmitystä samassa lämpötilassa. Tästä on näytetty esimerkki kuvassa 7.27.



**Kuva 7.27.** PDiPrAEMA:n emissiospektrejä 20 mM sitraattipuskurissa pH-arvossa 5,45. Mustalla piirretty viiva on emissiospektri 15 °C lämpötilassa, punaisella piirretty 80 °C lämpötilassa ja sinisellä piirretty 20 °C lämpötilassa jäähdytyksen jälkeen.

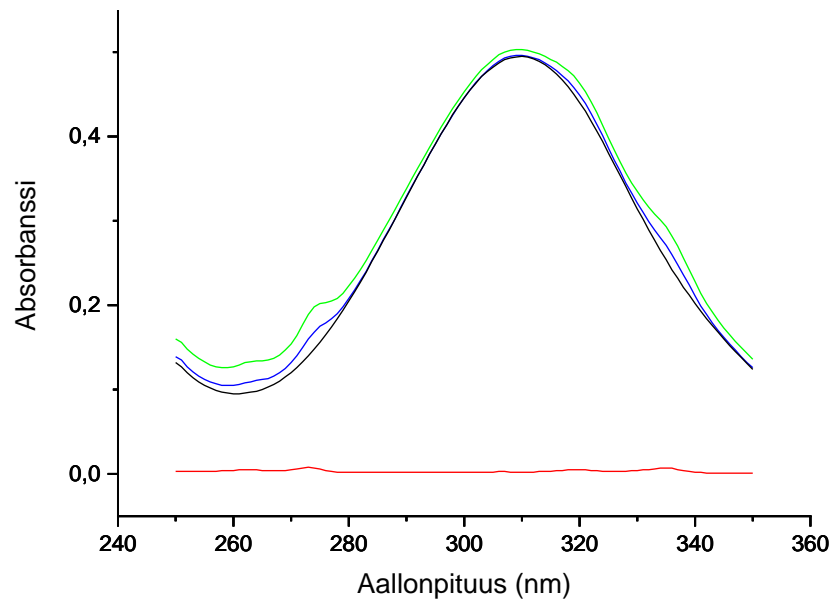
Emission intensiteetin palautumattomuuden syyksi epäiltiin joko faasitransition kinetiikkaa tai pyreenin mahdollista liukenemistä korkeissa lämpötiloissa. Tämän selvittämiseksi suoritettiin UV-Vis -mittauksia fluorenssispektrien mittausten yhteydessä. Tarkoituksena oli mitata liukeneeko pyreeniä lisää näytteeseen lämmityksen aikana. Tämä havaittaisiin UV-Vis -spektristä absorbanssin kasvuna.

Suoritettiin mittaus, jossa näyte mitattiin ensin 20 °C lämpötilassa UV-Vis -spektrofotometrillä. Puolen tunnin stabilisaation jälkeen 20 °C lämpötilassa mitattiin emissio- ja eksitaatiospektrit. Sitten näyte lämmitettiin 80 °C ja annettiin stabiloitua tunnin ajan. Tunnin kuluttua mitattiin jälleen emissio- ja eksitaatiospektrit. Seuraavaksi näyte jäähdytettiin nopeasti takaisin 20 °C ja annettiin tasaantua kahden tunnin ajan. Tämän jälkeen mitattiin jälleen emissio- ja eksitaatiospektrit. Lopuksi mitattiin uusi UV-Vis -spektri. Mitatut emissio- ja eksitaatiospektrit on esitetty kuvassa 7.28.



**Kuva 7.28.** A) Mitatut eksitaatiospektrit ja B) Mitatut emissiospektrit. 20 °C mittaus ennen lämmitystä on piirretty mustalla, 80 °C lämpötilassa tehdyt mittaukset on merkitty punaisella ja 20 °C mittaukset jäähtymisen jälkeen sinisellä.

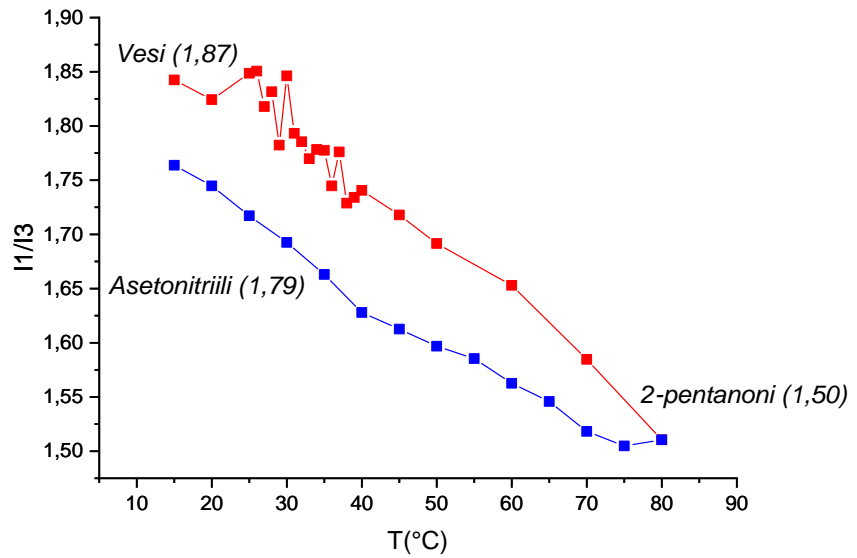
Kuvasta 7.28 nähdään, että emission ja eksitaation intensiteetit ovat laskeneet jäähtymisen jälkeen. Näytteen annettiin tasaantua kauan ennen mittausta, joten syyn pääteltiin olevan ainakin osittain kineettinen. Mitatut UV-spektrit on koottu kuvaan 7.29.



**Kuva 7.29.** UV-Vis – spektrit. Punainen: Pyreenin vesiliuos ilman polymeeria, Musta: Polymeerinäyte ilman pyreeniä, Sininen: näyte ennen lämmitystä, Vihreä: Näyte lämmityksen ja jäähtymisen jälkeen.

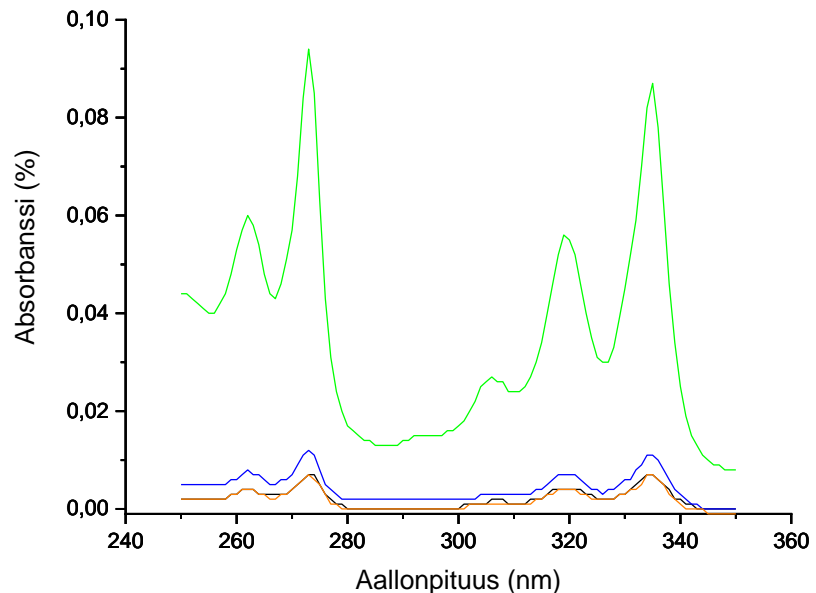
Näyteliuoksen lisäksi mitattiin pelkkä pyreenin vesiliuos ja polymeeriliuos ilman pyreeniä. Näyteliuoksen UV-spektristä havaittiin suurimmaksi osaksi polymeerin pääteryhmiä. Spektrien perusteella näytti kuitenkin mahdollisesti siltä, että lämmityksen ja jäähtymisen jälkeen pyreenin piikit olisivat huomattavampia. Koska polymeerin pääteryhmien absorptio oli voimakasta, ei tästä mittauksesta saatu haluttua tietoa. Seuraava mittaus tehtiin siis ilman polymeeria.

Pelkälle pyreenin vesiliuokselle tehtiin vastaavan tyyppinen mittaus. Valmistettiin kaksi samanlaista pyreeniä sisältävää näytettä vedessä. Kummastakin näytteestä mitattiin UV-Vis -spektri 20 ° lämpötilassa. Tämän jälkeen toinen näytteistä jätettiin vetokaappiin odottamaan ja toisesta mitattiin fluoresenssispektrometrilla lämpötilaohjelma, jossa oli mukana lämmitys ja jäähtymys. Kun koko mittausohjelma oli käyty läpi, mitattiin uudet UV-Vis – spektrit kummastakin näytteestä 20 °C lämpötilassa. Fluoresenssispektrometrilla mitatun näytteen I1/I3 lämpötilan funktiona on esitetty kuvassa 7.30.



**Kuva 7.30.** Pyreenin vesiliuoksen I1/I3 lämpötilan funktiona. Lämmitys on piirretty punaisella ja jäähditys sinisellä. Esitetyt liuottimet ja niille tyypilliset I1/I3 – arvot ovat lähteestä 59.

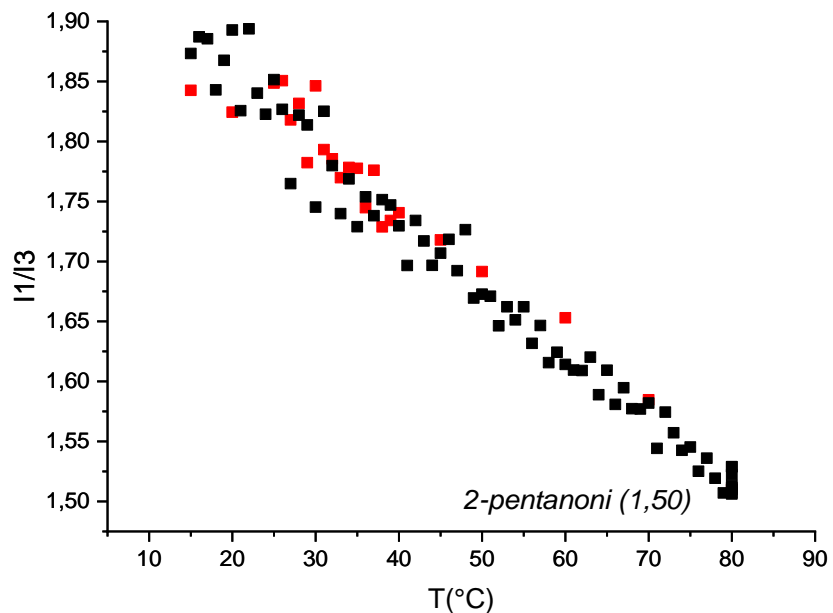
Kuten aiemmin PDiPrAEMA-näytteiden mittauksissa oli havaittu, I1/I3 ei palautunut alkuperäiselle tasolle. Mitatut UV-Vis -spektrit on koottu kuvaan 7.31.



**Kuva 7.31.** Pyreenin vesiliuoksen UV-Vis –spektrit. Musta: Huoneenlämmössä pidetty näyte – ennen. Sininen: Huoneenlämmössä pidetty näyte – jälkeen. Oranssi: Lämmitetty näyte – ennen. Vihreä: Lämmitetty näyte – jälkeen.

UV-Vis – spektreistä nähtiin, että pyreenin absorbanssi oli kasvanut merkittävästi lämmitys-jäähdytys – kierroksen jälkeen. Tästä pääteltiin, että liuoksessa mahdollisesti olleiden pyreenikiteiden liukoisuus kasvoi lämmityksen aikana.

Kuten aiemmin mainittiin, mitatuista 250 mM NaCl-liuoksessa olleista PDiPrAEMA-näytteistä ei havaittu faasitransitioita fluoresenssispektroskopiolla. Kuvassa 7.32 verrataan 250 mM NaCl-liuoksessa ollutta PDiPrAEMA-näytettä pelkkään pyreenin vesiliuokseen. Saadut I1/I3 -arvot olivat hyvin samankaltaiset. NaCl-sarjan näytteissä ei siis ilmeisesti muodostunut poolitonta ympäristöä lämmityksen aikana.



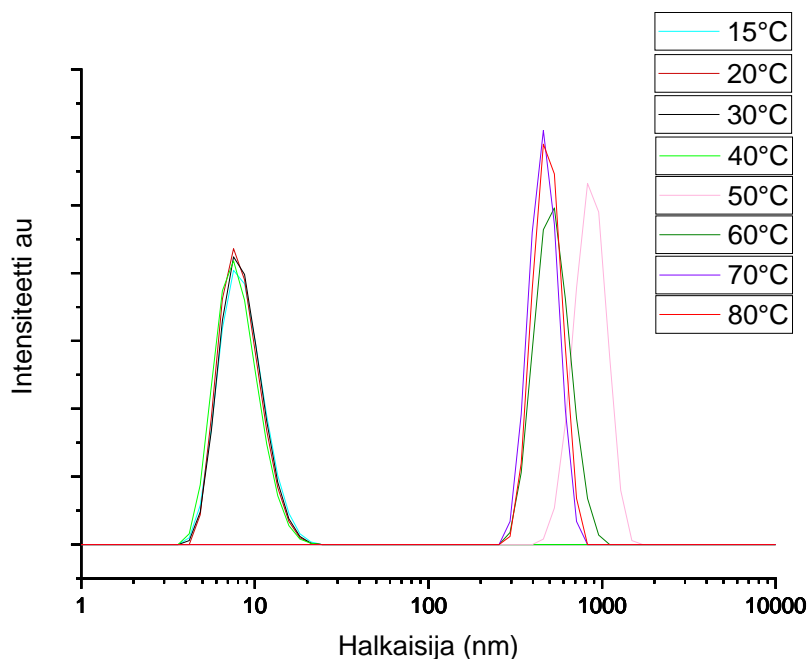
**Kuva 7.32.** PDiPrAEMA:n I1/I3 lämpötilan funktiona 250 mM NaCl-liuoksessa pH-arvossa 5,62 (■) ja pyreenin vesiliuoksen I1/I3 lämpötilan funktiona (■). Kuvan merkintä tarkoittaa, että 80 °C:ssa I1/I3 on lähellä 2-pentanonille tyypillistä arvoa.<sup>59</sup>



## 7.5. Valonsirontamittaukset

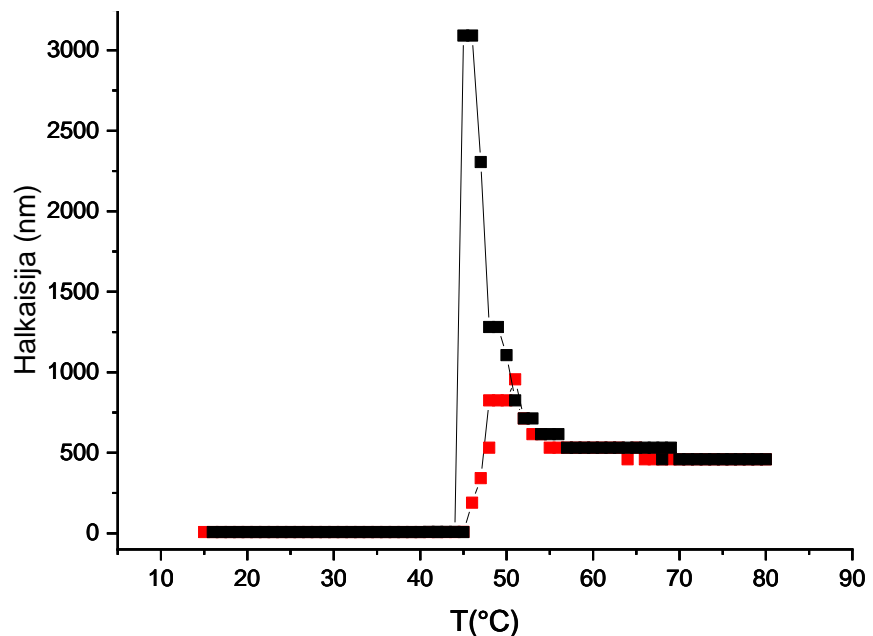
Dynaaminen valonsironta on turbidimetriaa herkempi menetelmä, joka mahdollistaa faasitransition alkukohdan tarkan määrittämisen. Sen avulla molekyyliyhmittymien muodostuminen voidaan havaita jo ennen kuin liuos samenee näkyvästi.<sup>10</sup>

Valonsironnalla mitattiin muutamia lohkopolymeeri- ja PDiPrAEMA-näytteitä. PDiPrAEMA-näytteitä mitattiin 20 mM fosfaatti- ja sitraattipuskureissa. PDMAEMA mitattiin pH-arvoissa 8 ja 10 ja PDMAEMA-PDiPrAEMA -lohkopolymeeri pH-arvoissa 6, 8 ja 10 – kaikki puskuroituina. Näytteiden sirontaa mitattiin välillä 15–80 °C kahden asteen välein. PDiPrAEMA sitraatilla puskuroituna antoi kuvan 7.33 mukaisia kokojakaumia. Selkeyden vuoksi jakaumat on esitetty vain 10 °C välein. Intensiteettikeskimääräiset kokojakaumat painottuvat koon kuudennella potenssilla, eikä suuria partikkeleita siis todellisuudessa ole paljon.



**Kuva 7.33.** PDiPrAEMA:n intensiteettikeskimääräisiä kokojakaumia 20 mM sitraatilla puskuroidussa liuoksessa, pH 5,61.

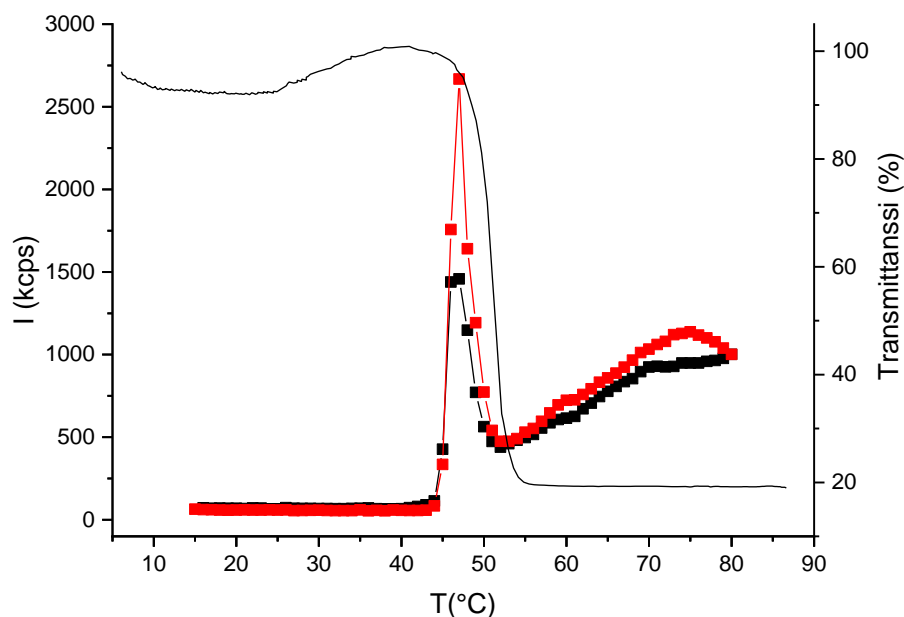
Mitatuista kokojakaumista selvitettiin maksimit, jotka piirrettiin lämpötilan funktiona. Esimerkiksi kuvan 7.33 intensiteettikeskimäärien jakaumien maksimit on esitetty lämpötilan funktiona kuvassa 7.34. Kuvasta nähdään, että partikkelien koko alkaa kasvaa noin 45 °C lämpötilassa, käy läpi maksiminsa 50 °C jälkeen ja asettuu vakiotasolle. Tämä johtuu todennäköisesti ketjun sisäisten ja ketjujen välisten vuorovaikutusten kilpailusta. Ketjut luhistuvat siihen asti, että ketjun sisäiset ja ketjujen väliset repulsiot estävät luhistumisen jatkumisen ja stabiloivat muodostuneet aggregaatit. Tämän jälkeen tapahtuu yhä ketjujen välistä luhistumista, minkä seurauksena aggregaatti pienenee.<sup>60</sup> Jäähdytyksen aikana aggregaatti turpoaa jälleen ennen liukenemistaan.



**Kuva 7.34.** PDiPrAEMA:n intensiteettikeskimäärien kokojakaumien maksimit 20 mM sitraatilla puskuroidussa liuoksessa pH-arvossa 5,61. Kuvassa on esitetty liuoksen lämmitys (■) ja jäähdytys (■).

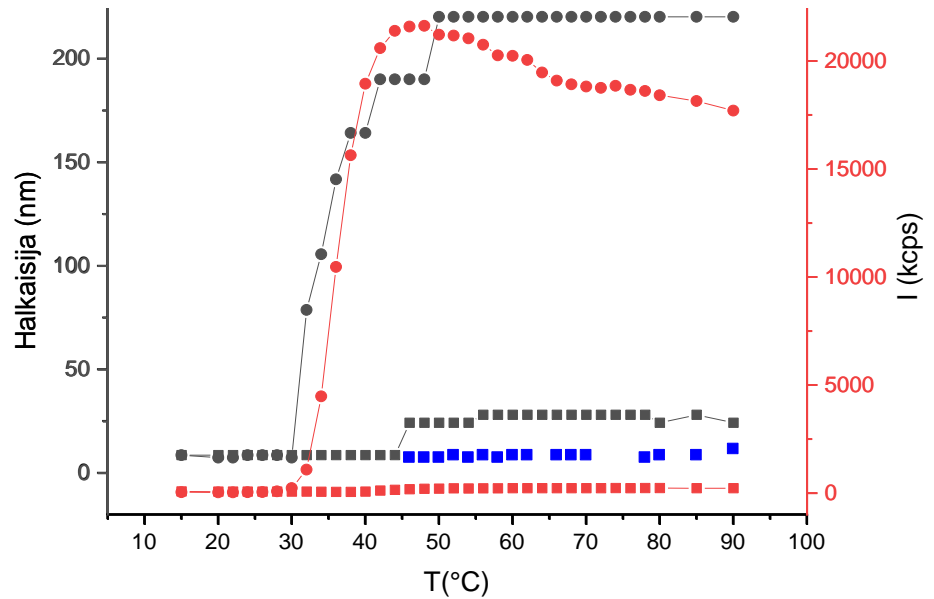
Sirontaintensiteetin (I) avulla saadaan tietoa signaalin voimakkuudesta. Tyypillisesti mitä korkeampi sirontaintensiteetti on, sitä konsentroidumpi näyte on tai sitä suurempia partikkeleita on läsnä. Kuvassa 7.35 on esitetty saman näytteen sirontaintensiteetti lämpötilan funktiona. Havaitaan sama kuin aiemmin; 45 °C paikkeilla muodostuu suurikokoinen aggregaatti, joka kutistuu nopeasti. Jäähdytyksessä havaitaan sama liukenemista edeltävä

aggregaatin turpoaminen. Kun sirontaintensiteettiä verrataan transmittanssiin, nähdään, että sirontaintensiteetti alkaa kasvaa jo ennen kuin transmittanssi laskee. Transitio havaitaan siis jo ennen näkyvien aggregaattien muodostumista, kuten edellä mainittiin. Myös kinetiikalla voi olla osuutta tähän, koska transmittanssimittaukset olivat huomattavasti valonsirontamittauksia nopeampia.



**Kuva 7.35.** 20 mM sitraattiliuoksella puskuroidun PDiPrAEMA:n lämmityksen (■) ja jäähtymisen (■) sirontaintensiteetit lämpötilan funktiona pH:ssa 5,61. Lisäksi mustalla viivalla on esitetty liki vastaavassa pH-arvossa (5,57) sitraatilla puskuroidun PDiPrAEMA-näytteen transmittanssi lämpötilan funktiona.

Kuvassa 7.36 on esitetty PDiPrAEMA-homopolymeerin ja PDMAEMA-PDiPrAEMA -lohkopolymeerin lämmityksistä määritetyt partikkelien keskimääräiset koot ja sirontaintensiteetit lämpötilan funktiona pH:ssa 6.



**Kuva 7.36.** PDiPrAEMA:n sirontaintensiiteetti (●) ja partikkelien intensiteettikeskimääräiset koot (●) 20 mM fosfaatilla puskuroidussa liuoksessa pH:ssa 6,05. PDMAEMA-PDiPrAEMA -lohkopolymerin sirontaintensiiteetit (■) ja partikkelien keskimääräiset koot pH-arvossa 6,17. Mittauspisteet, joiden intensiteettikeskimääräisissä kokojakaumissa havaittiin kaksi maksimia on esitetty kahdella pisteellä; (■)(■).

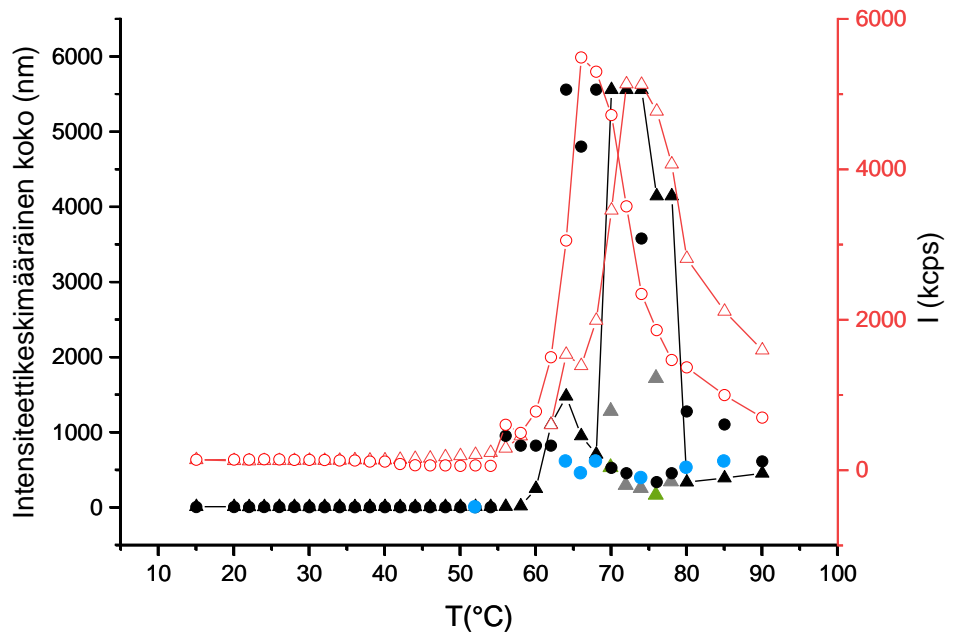
PDiPrAEMA-homopolymeeria ja PDMAEMA-PDiPrAEMA -lohkopolymeeria verrattaessa havaitaan merkittävä kokoero muodostuvien aggregaattien välillä. Lohkopolymerin aggregaattien pieni koko johtuu siitä, että varautunut PDMAEMA pysyy liukoisena ja muodostaa stabiloivan kuoren aggregaatin ympärille.

Kuva 7.36 viittaa siihen, että lohkopolymeeri muodostaa misellejä.

Matalissa lämpötiloissa ketju on avoin, mutta kun PDiPrAEMA:n LCST ylitetään, se luhistuu. PDiPrAEMA-lohkon luhistuttua PDMAEMA-lohko pysyy yhä avoimessa konformaatioissa. Lisäksi nähdään, että hydrofiilisen komponentin lisääminen nosti polymerin faasitransition lämpötilaa. Tämä on tavanomainen ilmiö, joka on havaittu esimerkiksi PNIPA:a tutkittaessa.<sup>19, 54</sup> PDiPrAEMA-homopolymerin aggregoituminen alkaa noin 30 °C:ssa, kun taas lohkopolymerilla tämä tapahtuu vasta 40 °C jälkeen.

Mitä tulee PDiPrAEMA-homopolymeerin faasitransitioiden eroihin eri puskureissa, havaitaan sama kuin transmittanssi- ja DSC-mittauksissa; sitraattipuskuroitujen näytteiden transitiot ovat paljon kapeampia. Lisäksi nähdään, että sitraattipuskurissa muodostuu suurikokoisempia aggregaatteja, jotka kutistuvat nopeasti. Fosfaattipuskuroidussa näytteessä muodostuvan aggregaatin koon nähtiin pysyvän liki vakiona lämmityksen loppuun saakka.

Kuvassa 7.37 on esitetty PDMAEMA:n ja PDMAEMA-PDiPrAEMA -lohkopolymeerin keskimääräiset koot ja sirontaintensiteetit lämpötilan funktiona pH:ssa 8.

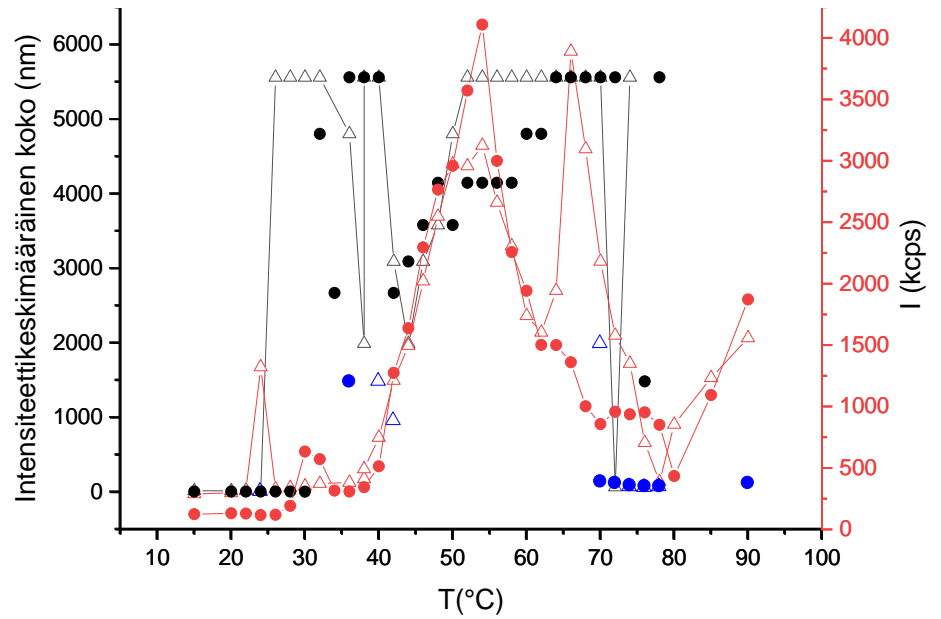


**Kuva 7.37.** PDMAEMA-homopolymeerin intensiteettikeskimääräiset koot (●)(●) ja sirontaintensiteetti (○) lämpötilan funktiona pH:ssa 8,17 ja PDMAEMA-PDiPrAEMA -lohkopolymeerin intensiteettikeskimääräiset koot (▲)(▲)(▲) ja sirontaintensiteetti (△) lämpötilan funktiona pH:ssa 7,99.

Bütün *et al.*<sup>22</sup> ovat tutkineet PDMAEMA-PDiPrAEMA -lohkopolymerin pH-muutoksesta johtuvaa misellien muodostumista. Koska PDiPrAEMA on neutraaleissa ja emäksisissä liuoksissa veteen liukenematon, korkeissa pH-arvoissa PDMAEMA-PDiPrAEMA todennäköisesti muodostaa misellimäisiä rakenteita, joissa hydrofobisempi PDiPrAEMA asettuu misellin ytimeen. PDMAEMA pysyy yhä solvatoituneena ja muodostaa misellin kuoren.<sup>22</sup> Tätä tukee se tieto, että 15 °C lämpötilassa lohkopolymerin keskimääräinen halkaisija oli pH:ssa 6 noin 9 nm, kun taas pH:ssa 8 se oli jo melkein 16 nm. PDMAEMA-PDiPrAEMA -lohkopolymerilla havaittiin siis todennäköisesti pH-muutoksesta johtuvaa misellisaatiota. pH:n ollessa 10 partikkelien keskimääräinen koko 15 °C lämpötilassa oli noin 18 nm. Tämä voi merkitä sitä, että PDiPrAEMA-ketju on dehydratoitunut vielä hieman enemmän kuin pH:ssa 8.

Kuvan 7.37 lohkopolymerin pH oli 7,99. Tällöin PDiPrAEMA on todennäköisesti osittain dehydratoitunut jo huoneenlämmössä ja muodostanut misellin PDMAEMA:n kanssa. Kun näytettä lämmitetään, PDiPrAEMA luhistuu enemmän, minkä jälkeen sama tapahtuu PDMAEMA:lle.

Kuvassa 7.38 esitetään PDMAEMA:n ja PDMAEMA-PDiPrAEMA -lohkopolymerin intensiteettikeskimääräiset koot ja sirontaintensiteetit lämpötilan funktiona pH:ssa 10. PDMAEMA:n sirontaintensiteeteistä nähdään, että PDMAEMA:lla on pieni esitransitio ennen suuremman aggregaatin muodostumista. Lohkopolymerin sirontaintensiteetillä sen sijaan on kolme huippua. Näistä keskimäinen täsmää vastaavan pH-arvon PDMAEMA-homopolymerin suurimman aggregaatin muodostumislämpötilaan. pH 10 on niin korkea, että PDiPrAEMA on todennäköisesti suurimmaksi osaksi dehydratoitunut jo mittauksen alkuvaiheessa. Kun liuosta lämmitetään, muodostuu jo matalissa lämpötiloissa aggregaatteja. Lohkopolymerin aggregoituminen tapahtuu ilmeisesti useammassa vaiheessa.



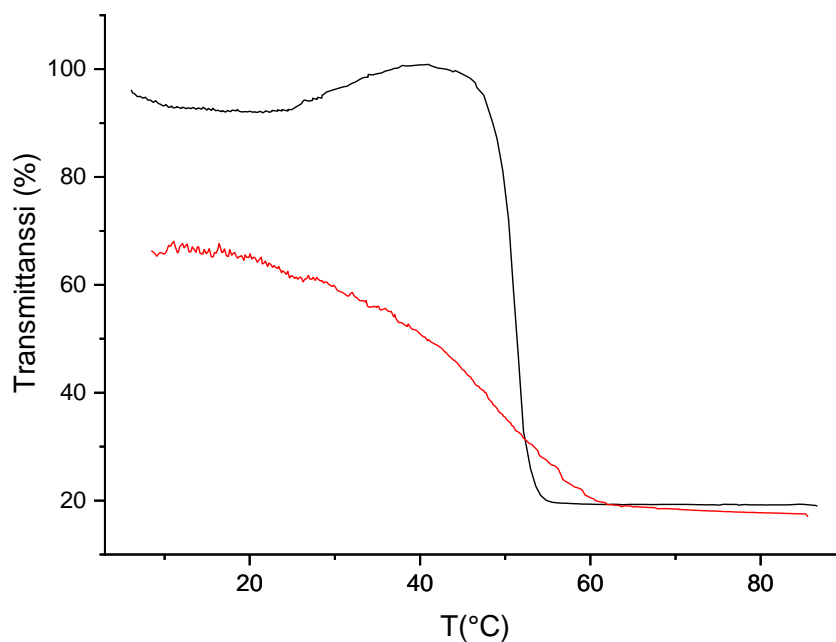
**Kuva 7.38.** PDMAEMA:n sirontaintensiteetit (●) ja intensiteettikeskimääräiset koot (●)(●) lämpötilan funktiona pH:ssa 10,03 ja PDMAEMA-PDiPrAEMA:n sirontaintensiteetit (△) ja intensiteettikeskimääräiset koot (△)(△) lämpötilan funktiona pH:ssa 9,94.

Kuvan 7.38 keskimääräisiä partikkelien kokoja vertailtaessa nähdään, että PDMAEMA-homopolymeerin aggregoituminen tapahtuu hieman lohkopolymeeria korkeammassa lämpötilassa. Ilmeisesti hydrofobisen komponentin lisääminen polymeeriin laskee systeemin faasitransition lämpötilaa, kuten on havaittu esimerkiksi PNIPA:n tapauksessa.<sup>19, 54</sup> On myös huomion arvoista, että PDMAEMA:n ja lohkopolymeerin kokojakaumia ei pystytty mittaamaan yli 80 °C lämpötiloissa. Ilmeisesti syynä oli muodostuneiden aggregaattien liian suuri koko.

## 7.6. Ylemmän kriittisen lämpötilan mittaukset

NTf<sub>2</sub>-ionien lisäyksellä on aikaansaatu UCST-tyyppin faasimuutoksia LCST-tyyppin polykationeille.<sup>16</sup> PDiPrAEMA on polykationi, joten hypoteesina oli, että sillekin pystyttäisiin NTf<sub>2</sub>-lisäyksellä aiheuttamaan UCST-tyyppin faasierottumista. Tämän selvittämiseksi tehtiin samantapaisia näytteitä kuin transmittanssimittauksissa, mutta mukaan lisättiin LiNTf<sub>2</sub>. Erona transmittanssimittauksiin oli se, että ajan säästämiseksi seurattiin vain näytteen jäähdytystä.

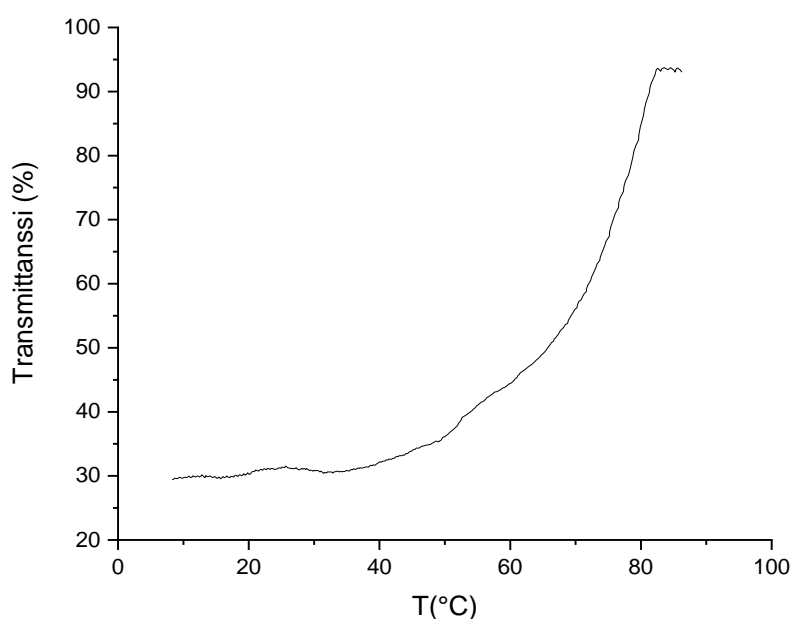
UCST-transitio havaittiin vain suurissa LiNTf<sub>2</sub>-pitoisuuksissa, korkeassa ionivahvuudessa ja happamissa liuoksissa. Kun pH-arvo oli korkeampi ja/tai LiNTf<sub>2</sub>-pitoisuus pienempi, nähtiin vain heikompi LCST-tyyppinen faasimuutos. Kuvassa 7.39 on esitetty toisiaan vastaavissa pH-arvoissa, ja puskureissa mitatut näytteet, joista toisessa on mukana 1,2 mM LiNTf<sub>2</sub>.



**Kuva 7.39.** Musta: PDiPrAEMA 20 mM sitraatilla puskuroituna pH-arvossa 5,57. Punainen: PDiPrAEMA 20 mM sitraatilla puskuroituna, pH-arvossa 5,64, 1,2 mM LiNTf<sub>2</sub> kanssa. Kummassakin näytteessä PDiPrAEMA-pitoisuus oli 2 mg/mL.

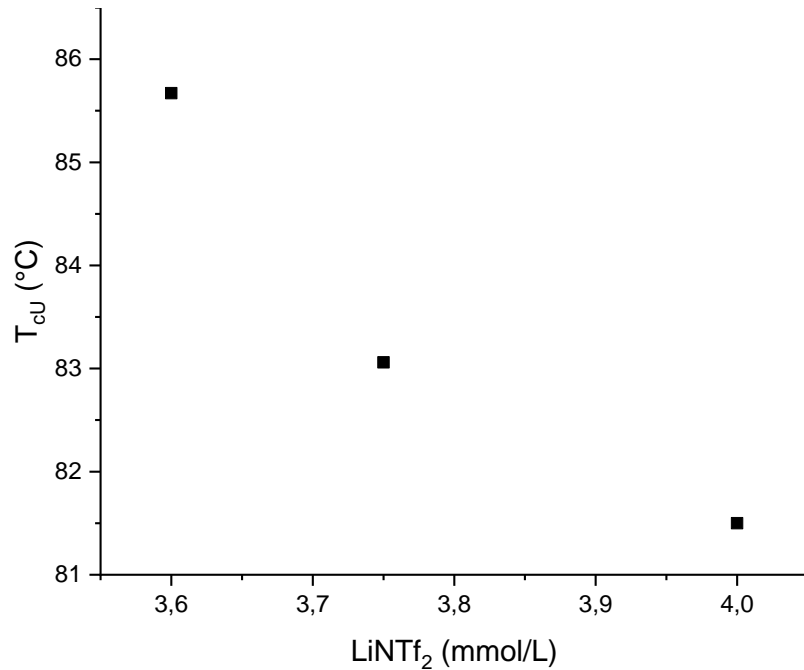


Kuvassa 7.40 on esimerkkinä mittaus, jossa havaittiin UCST-tyyppinen transiatio, eli polymeeri oli veteen liuenneena korkeissa lämpötiloissa ja faasierottui jäädyttäessä. Mittaukset tehtiin suuressa ionivahvuudessa, sillä näin voidaan varjostaa (screen) molekyylin sisäisiä ja molekyylien välisiä elektrostaattisia vuorovaikutuksia ja tehdä polymeeriketjuista taipuisampia.<sup>27</sup> Mittaukset tehtiin matalassa pH:ssa, eli polymeerin ollessa varautunut, että anionin ja polymeerin väliset vuorovaikutukset olisivat tarpeeksi voimakkaita.<sup>26</sup>



**Kuva 7.40.** PDiPrAEMA 250 mM NaCl-liuoksessa, 4 mM LiNTf<sub>2</sub> ja pH 2,42. PDiPrAEMA-pitoisuus 1 mg/mL. Käyrä on näytteen jäädytyksestä.

UCST-tyypin transiatioita mitattiin samassa pH-arvossa eri LiNTf<sub>2</sub>-pitoisuuksilla, mutta vain kolmesta jäädytyksestä saatiin määritettyä samentumispisteet ( $T_{CU}$ ). Saadut samentumispisteet on koottu kuvaan 7.41. Kuvan perusteella vaikuttaisi, että samentumispiste laskee LiNTf<sub>2</sub>-pitoisuuden kasvaessa. Mittauksia tulisi kuitenkin tehdä enemmän johtopäätösten tekemiseksi. PDMAEMA:n tutkimuksista sitä vastoin on saatu selville, että sen UCST-tyyppisen faasitransition samentumispiste kasvaa LiNTf<sub>2</sub>-konsentraation kasvaessa matalassa pH:ssa.<sup>28</sup> Eräiden polykationien ja kationisten kopolymeerien tutkimuksissa on tultu samoihin tuloksiin.<sup>16, 27</sup>



**Kuva 7.41.** PDiPrAEMA-liuoksen samentumispisteet pH:ssa 2,4 ja LiNTf<sub>2</sub>-pitoisuuden funktiona. Esitettyjen pisteiden LiNTf<sub>2</sub>-määrät vastaavat 76–86 % PDiPrAEMA:n toistuvista yksiköistä. PDiPrAEMA-pitoisuus näytteissä 1 mg/mL. Samentumispisteet on määritetty jäähdytyksistä.

## 8. Yhteenveto

Tässä työssä syntetisoitiin onnistuneesti poly(di-isopropyyliaminoetyylimetakrylaatin) homo- ja lohkopolymeereja. Lisäksi tutkittiin pH:n, puskureiden ja ionivahvuuden vaikutusta PDiPrAEMA:n faasitransition lämpötiloihin. PDiPrAEMA:n faasikäyttäytyminen näytti riippuvan voimakkaasti liuoksen pH-arvosta, käytetystä puskurista ja/tai suolapitoisuudesta. Merkittävät erot faasimuutosten entalpioiden muutoksissa viittaavat todennäköisesti puskureiden erilaisiin vuorovaikutuksiin polymeerin kanssa.

PDiPrAEMA:lla ei havaittu faasitransitiota vedessä ja nähtiin, että puskurilla oli suuri vaikutus polymeerin transitoihin. Sitraatilla puskuroitujen näytteiden transitiot olivat merkittävästi suurempia ja kapeampia kuin vastaavien fosfaatilla puskuroitujen näytteiden. Mitatun NaCl-sarjan perusteella tultiin siihen tulokseen, että synnä ei ollut yksinomaan ionivahvuus. Näin pääteltiin siitä, että suurimman ionivahvuuden

mittaussarjan – NaCl-sarjan – transitiot olivat leveimpiä.

Transmittanssimittauksissa NaCl-näytteiden transitiot olivat heikkoja, mutta havaittavissa. Mikrokolorimetrisissa mittauksissa ja fluoresenssimittauksissa faasitransitioita ei silti havaittu. Sitraatilla ja fosfaatilla puskuroitujen näytteiden lisäksi mitattiin sulfaatti-ioneja sisältäviä näytteitä, mutta tällöin ei faasitransitioita nähty. Sama päti suurimman ionivahvuuden (500 mM) NaCl-mittaussarjaan.

Jatkossa PDiPrAEMA:n faasikäyttäytymisen riippuvuutta moolimassasta tulisi tutkia, koska PDMAEMA:n faasitransition lämpötilan tiedetään riippuvan moolimassasta.<sup>32</sup> Jatkotutkimuksissa tulisi myös selvittää puskureiden ja PDiPrAEMA:n väliset vuorovaikutukset ja mahdollisesti kokeilla eri puskureiden käyttöä.

UCST-mittauksia ei ehditty tehdä monia, eikä niistä siis laajoja johtopäätöksiä pystytä tekemään. Nähtiin kuitenkin, että  $\text{NTf}_2$ -ionien avulla PDiPrAEMA saadaan käyttäytymään UCST-polymeerin tavoin ja että  $\text{NTf}_2$ -pitoisuudella oli suuri vaikutus polymeerin käyttäytymiseen. Kun  $\text{NTf}_2$ -pitoisuus oli pieni, polymeerin faasikäyttäytyminen oli edelleen LCST-tyyppistä, mutta vaimeampaa. Jatkossa tulisi mitata näytteitä useammilla  $\text{NTf}_2$ -konsentraatioilla ja seurata vaikuttaako lisäys näytteen pH-arvoon, kuten PDMAEMA:n<sup>28</sup> tapauksessa.

PDMAEMA-PDiPrAEMA -lohkopolymeerin nähtiin muodostavan misellejä pH:n ja lämpötilan muutoksen seurauksena. Tällaista polymeeria voitaisiin hyödyntää esimerkiksi lääkkeiden annostelussa. Amfifiilisen lohkopolymeerin hydrofobisempi osa toimisi hydrofobisen lääkeaineen vastaanottajana ja hydrofiilisempi lohko parantaa liukoisuutta. Olosuhteita muuttamalla polymeerin konformaatiota voidaan muuttaa ja lääkeaine vapauttaa.

PDiPrAEMA:n faasikäyttäytymisen parempi tuntemus voi auttaa sen sovellusten kehittämisessä. Koska PDMAEMA:n tavoin myös PDiPrAEMA on pH- ja lämpöherkkä, sen mahdolliset sovelluskohteet ovat laajat.

## 9. Viitteet

1. Moad, G., RAFT polymerization to form stimuli-responsive polymers. *Polym. Chem.* **2016**, *8*, 177-219.
2. Aseyev, V.; Tenhu, H.; Winnik F., Non-ionic thermoresponsive polymers in water. *Advances in Polymer Science* **2011**, *242*, 29-89.
3. Schattling, P.; Jochum, F.; Theato, P., Multi-stimuli responsive polymers - the all-in-one talents. *Polym. Chem.* **2014**, *5*, 25-36.
4. Willott, J.; Humphreys, B.; Murdoch, T.; Edmondson S.; Webber, G.; Wanless, E., Hydrophobic effects within the dynamic pH-response of polybasic tertiary amine methacrylate brushes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2015**, *17*, 3880-3890.
5. Yu, X.; Yang, X. ; Horte, S. ; Kizhakkedathu, J. ; Brooks, D., A pH and thermosensitive choline phosphate-based delivery platform targeted to the acidic tumor microenvironment. *Biomaterials* **2014**, *35*, 278-286.
6. Schmalz, A.; Hanisch, M.; Schmalz, H.; Müller, A. H. E., Double stimuli-responsive behavior of linear and star-shaped poly( N,N-diethylaminoethyl methacrylate) in aqueous solution. *Polymer* **2010**, *51*, 1213-1217.
7. Niskanen, J.; Tenhu, H., How to manipulate the upper critical solution temperature (UCST)? *Polym. Chem.* **2017**, *8*, 220-232.
8. Min, S.H.; Kwak, S.K.; Kim, B., Atomistic insight into the role of amine groups in thermoresponsive poly(2-dialkylaminoethyl methacrylate)s. *Polymer* **2017**, *124*, 219-225.
9. Seuring, J.; Agarwal, S., Polymers with Upper Critical Solution Temperature in Aqueous Solution. *Macromol. Rapid Commun.* **2012**, *33*, 1898-1920.
10. Zhang, Q.; Weber, C.; Schubert, U. S.; Hoogenboom, R., Thermoresponsive polymers with lower critical solution temperature: from fundamental aspects and measuring techniques to recommended turbidimetry conditions. *Mater. Horiz.* **2017**, *4*, 109-116.
11. Bharadwaj, S.; Kumar, S.; Komura, S.; Deshpande, A. P., Spherically Symmetric Solvent is Sufficient to Explain the LCST Mechanism in Polymer Solutions. *Macromolecular Theory and Simulations* **2017**, *26*.
12. Yoshimitsu, H., Korchagina, E.; Kanazawa, A.; Kanaoka, S.; Winnik, F.M.; Aoshima, S., Shape-switching self-assembly of new diblock copolymers with UCST-type and LCST-type segments in water. *Polym. Chem.* **2016**, *7*, 2062-2068.

13. Noh, M.; Kang, S.; Mok, Y.; Choi, S.; Park, J.; Kingma, J.; Seo, J.; Lee, Y., Upper critical solution temperature (UCST) phase transition of halide salts of branched polyethylenimine and methylated branched polyethylenimine in aqueous solutions. *Chem. Commun.* **2015**, *52*, 509-512.
14. Käfer, F.; Lerch, A.; Agarwal, S., Tunable, concentration - independent, sharp, hysteresis - free UCST phase transition from poly(N - acryloyl glycinamide - acrylonitrile) system. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* **2017**, *55*, 274-279.
15. Mäkinen, L.; Varadharajan, D.; Tenhu, H.; Hietala, S., Triple Hydrophilic UCST-LCST Block Copolymers. *Macromolecules* **2016**, *49*, 986-993.
16. Karjalainen, E.; Aseyev, V.; Tenhu, H., Upper or lower critical solution temperature, or both? Studies on cationic copolymers of N-isopropylacrylamide. *Polym. Chem.* **2015**, *6*, 3074-3082.
17. Song, Z.; Wang, K.; Gao, C.; Wang, S.; Zhang, W., A New Thermo-, pH-, and CO<sub>2</sub>-Responsive Homopolymer of Poly[N-[2-(diethylamino)ethyl]acrylamide]: Is the Diethylamino Group Underestimated? *Macromolecules* **2016**, *49*, 162-171.
18. Schilli, C. M.; Zhang, M.; Rizzardo, E.; Thang, S. H.; Chong, Y. K.; Edwards, K.; Karlsson, G.; Müller, A. H. E., A New Double-Responsive Block Copolymer Synthesized via RAFT Polymerization: Poly(N-isopropylacrylamide)-block-poly(acrylic acid). *Macromolecules* **2004**, *37*, 7861-7866.
19. Maeda, Y.; Higuchi, T.; Ikeda, I., FTIR spectroscopic and calorimetric studies of the phase transitions of N-isopropylacrylamide copolymers in water. *Langmuir* **2001**, *17*, 7535-7539.
20. Han, X.; Zhang, X.; Zhu, H.; Yin, Q.; Liu, H.; Hu, Y., Effect of composition of PDMAEMA-b-PAA block copolymers on their pH- and temperature-responsive behaviors. *Langmuir* **2013**, *29*, 1024.
21. Agut, W.; Brûlet, A.; Schatz, C.; Taton, D.; Lecommandoux, S., pH and temperature responsive polymeric micelles and polymersomes by self-assembly of poly2-(dimethylamino)ethyl methacrylate-b-poly(glutamic acid) double hydrophilic block copolymers. *Langmuir* **2010**, *26*, 10546.
22. Bütün, V.; Armes, S. P.; Billingham, N. C., Synthesis and aqueous solution properties of near-monodisperse tertiary amine methacrylate homopolymers and diblock copolymers. *Polymer* **2001**, *42*, 5993-6008.
23. Li, M.; He, X.; Ling, Y.; Tang, H., Dual thermoresponsive homopolyptide with LCST-type linkages and UCST-type pendants: Synthesis, characterization, and thermoresponsive properties. *Polymer* **2017**, *132*, 264-272.

24. Hildebrand, V.; Heydenreich, M.; Laschewsky, A.; Möller, H. M.; Müller-Buschbaum, P.; Papadakis, C. M.; Schanzenbach, D.; Wischerhoff, E., "Schizophrenic" self-assembly of dual thermoresponsive block copolymers bearing a zwitterionic and a non-ionic hydrophilic block. *Polymer* **2017**, *122*, 347-357.
25. Canning, S. L.; Neal, T.J.; Armes, S.P., PH-Responsive Schizophrenic Diblock Copolymers Prepared by Polymerization-Induced Self-Assembly. *Macromolecules* **2017**, *50*, 6108-6116.
26. Plamper, F. A.; Schmalz, A.; Ballauff, M.; Müller, A.H.E., Tuning the thermoresponsiveness of weak polyelectrolytes by pH and light: lower and upper critical-solution temperature of poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate). *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14538.
27. Karjalainen, E.; Aseyev, V.; Tenhu, H., Counterion-Induced UCST for Polycations. *Macromolecules* **2014**, *47*, 7581-7587.
28. Karjalainen, E.; Aseyev, V.; Tenhu, H., Influence of hydrophobic anion on solution properties of PDMAEMA. *Macromolecules* **2014**, *47*, 2103-2111.
29. Min, S.; Kwak, S.; Kim, B., Atomistic simulation for coil-to-globule transition of poly(2-dimethylaminoethyl methacrylate). *Soft Matter* **2015**, *11*, 2423-2433.
30. Rennie, R., A Dictionary of Chemistry. Oxford University Press: 2016.
31. Thavanesan, T.; Herbert, C.; Plamper, F.A., Insight in the phase separation peculiarities of poly(dialkylaminoethyl methacrylate)s. *Langmuir* **2014**, *30*, 5609.
32. Mohammadi, M.; Salami-Kalajahi, M.; Roghani-Mamaqani, H.; Golshan, M., Effect of molecular weight and polymer concentration on the triple temperature/pH/ionic strength-sensitive behavior of poly(2-(dimethylamino)ethyl methacrylate). *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials* **2017**, *66*, 455-461.
33. Cheng, Y.; Ren, K.; Yang, D.; Wei, J., Bilayer-type fluorescence hydrogels with intelligent response serve as temperature/pH driven soft actuators. *Sensors & Actuators: B. Chemical* **2018**, *255*, 3117-3126.
34. Zhu, J.; Hou, J.; Zhang, Y.; Tian, M.; He, T.; Liu, J.; Chen, V., Polymeric antimicrobial membranes enabled by nanomaterials for water treatment. *Journal of Membrane Science* **2018**, *550*, 173-197.
35. Cicek, H.; Kocak, G.; Ceylan, Ö.; Kutluca, E.A.; Dikmen, Z.; Bütün, V., Antibacterial poly{(4 - vinyl phenylboronic acid) - co - [2 - (dimethylamino)ethyl methacrylate]} copolymers and their application in water - based paints. *Journal of Applied Polymer Science* **2018**, *135*.

36. Wang, X.; Shi, Y.; Graff, R.W.; Lee, D.; Gao, H., Developing recyclable pH-responsive magnetic nanoparticles for oil-water separation. *Polymer* **2015**, *72*, 361-367.
37. Chen, Y.; Liu, W.; Zeng, G.; Liu, Y., Microporous PDMAEMA-based stimuli-responsive hydrogel and its application in drug release. *Journal of Applied Polymer Science* **2017**, *134*, 45326.
38. Taktak, F., Rapid Deswelling of PDMAEMA Hydrogel in Response to pH and Temperature Changes and Its Application in Controlled Drug Delivery. *AKU J. Sci. Eng.* **2016**, *16*, 68-75.
39. Brannigan, R. P.; Khutoryanskiy, V.V., Synthesis and evaluation of mucoadhesive acryloyl-quaternized PDMAEMA nanogels for ocular drug delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2017**, *155*, 538-543.
40. Zhu, C.; Jung, S.; Luo, S.; Meng, F.; Zhu, X.; Park, T.; Zhong, Z., Co-delivery of siRNA and paclitaxel into cancer cells by biodegradable cationic micelles based on PDMAEMA-PCL-PDMAEMA triblock copolymers. *Biomaterials* **2010**, *31*, 2408-2416.
41. Convertine, A. J.; Diab, C.; Prieve, M.; Paschal, A.; Hoffman, A.S.; Johnson, P.H.; Stayton, P.S., pH-responsive polymeric micelle carriers for siRNA drugs. *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 2904.
42. Santos, F. G.; Bonkovshi, L.C.; Garcia, F.P.; Cellet, T.; Witt, M.; Nakamura, C.; Rubira, A.; Muniz, E., Antibacterial Performance of a PCL-PDMAEMA Blend Nanofiber-Based Scaffold Enhanced with Immobilized Silver Nanoparticles. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 9304.
43. Li, C.; Li, X.; Tao, C.; Ren, L.; Zhao, Y.; Bai, S.; Yuan, X., Amphiphilic Antifogging/Anti-Icing Coatings Containing POSS-PDMAEMA-b-PSBMA. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 22959.
44. Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S.H., Living radical polymerization by the RAFT process - a third update. *Aust. J. Chem.* **2012**, *65*, 985-1076.
45. Chiefari, J.; Chong, Y.K.; Ercole, F.; Kristina, J.; Jeffery, J.; Le, T.; Mayadunne, R.; Meijis, G.; Moad, C.; Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S.H., Living free-radical polymerization by reversible addition - Fragmentation chain transfer: The RAFT process. *Macromolecules* **1998**, *31*, 5559-5562.
46. Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S.H., Living radical polymerization by the RAFT process - A first update. *Aust. J. Chem.* **2006**, *59*, 669-692.
47. Willcock, H.; O'Reilly, R., End group removal and modification of RAFT polymers. *Polym. Chem.* **2010**, *1*, 149-157.

48. Perrier, S.; Takolpuckdee, P., Macromolecular Design via Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer (RAFT)/Xanthates (MADIX) Polymerization. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2005**, *43*, 5347-5393.
49. Veloso, A.; Garcia, W.; Agirre, A.; Ballard, N.; Ruiperez, F.; Asua, J., Determining the effect of side reactions on product distributions in RAFT polymerization by MALDI-TOF MS. *Polym. Chem.* **2015**, *6*, 5437-5450.
50. CRC Handbook of Chemistry and Physics, 98th Edition (Internet Version 2018). In *Section 7: Thermodynamic quantities for the ionization reactions of buffers in water* [Online] CRC Press/Taylor&Francis.
51. Niskanen, J.; Wu, C.; Ostrowski, M.; Fuller, G.G.; Hietala, S.; Tenhu, H., Thermoresponsiveness of PDMAEMA. Electrostatic and stereochemical effects. *Macromolecules* **2013**, *46*, 2331-2340.
52. Niskanen, J.; Karesoja, M.; Rossi, T.; Tenhu, H., Temperature and pH responsive hybrid nanoclay grafted with PDMAEMA. *Polym. Chem.* **2011**, *2*, 2027-2036.
53. Karjalainen, E., Solution behavior of responsive cationic polymers. University of Helsinki, Laboratory of polymer chemistry, Department of Chemistry, Helsinki, 2015.
54. Feil, H.; Bae, Y.; Feijen, J.; Kim, S., Effect of Comonomer Hydrophilicity and Ionization on the Lower Critical Solution Temperature of N-Isopropylacrylamide Copolymers. *Macromolecules* **1993**, *26*, 2496-2500.
55. Bianconi, M. L., Calorimetric determination of thermodynamic parameters of reaction reveals different enthalpic compensations of the yeast hexokinase isozymes. *Journal of Biological Chemistry* **2003**, *278*, 18709.
56. Arena, G.; Cali, R.; Grasso, G.; Musumeci, S.; Sammartano, S., The formation of proton and alkali-metal complexes with ligands of biological interest in aqueous solution. Part I. Potentiometric and calorimetric investigation of H<sup>+</sup> and Na<sup>+</sup> complexes with citrate, tartrate and malate. *Thermochimica Acta* **1980**, *36*, 329-342.
57. Plamper, F. A.; Ruppel, M.; Schmalz, A.; Borisov, O.; Ballauff, M.; Müller, A.H.E., Tuning the thermoresponsive properties of weak poly electrolytes: Aqueous solutions of star-shaped and linear poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate). *Macromolecules* **2007**, *40*, 8361-8366.
58. Bains, G.; Patel, A.B.; Narayanaswani, V., Pyrene: A Probe to Study Protein Conformation and Conformational Changes. *Molecules* **2011**, *16*, 7909-7935.
59. Dong, D. C.; Winnik, M.A., The Py scale of solvent polarities. *Can. J. Chem.* **1984**, *62*, 2560-2565.



60. Qiu, X.; Kwan, C.; Wu, C., Laser light scattering study of the formation and structure of poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid) nanoparticles. *Macromolecules* **1997**, *30*, 6090-6094.