

AGNIESZKA EWA STĘPIEŃ

Uniwersytet Rzeszowski
 Zamiejscowy Wydział Biotechnologii
 Zakład Biotechnologii
 Werynia 502, 36-100 Kolbuszowa
 e-mail: astepien@univ.rzeszow.pl

Biologiczna degradacja polieterouretanów

Streszczenie — Artykuł stanowi krótki przegląd literaturowy dotyczący zagadnień związanych z biodegradacją polieterouretanów (PEUR). Omówiono wyniki badań enzymatycznej degradacji oraz utleniania takich polimerów, prowadzonych zarówno w układach *in vivo*, jak i *in vitro*. Dodatkowo przedstawiono ocenę wpływu środowiska kompostu wzbogaconego kulturami grzybów, a także modyfikacji struktury PEUR na stopień ich degradacji.

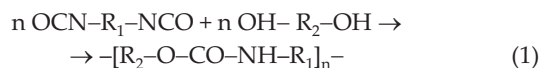
Słowa kluczowe: polieterouretany, biodegradacja, degradacja *in vivo*, degradacja *in vitro*, biostabilność, degradacja enzymatyczna.

BIODEGRADATION OF POLY(ETHER URETHANES)

Summary — A microreview of studies on the biodegradation of poly(ether urethanes) (PEUR) has been presented. The results of enzymatic degradation studies as well as PEUR oxidation conducted *in vivo* and *in vitro* have been discussed. Moreover, an evaluation of the influence of a microorganism-enriched compost environment and structural modification on PEUR degradability has also been presented.

Key words: poly(ether urethane), biodegradation, biostability, *in vivo* degradation, *in vitro* degradation, enzymatic degradation.

Polieterouretany (PEUR) to polimery liniowe lub usieciowane otrzymywane w procesie poliaddycji wielofunkcyjnych izocyjanianów i dwu- lub wielofunkcyjnych polieteroli zakończonych grupami hydroksylowymi, oraz małowartościowymi dioli lub diamini. W wyniku poliaddycji grupy pochodzące od izocyjanianów (R_1) i polieteroli (R_2) są połączone polarnym ugrupowaniem uretanowym (1).



Łańcuchy PEUR charakteryzują się budową segmentową. Segmenty sztywne składają się z reszt izocyjanianowych, przedłużaczy, grup uretanowych i ewentualnie mocznikowych, natomiast segmenty giętkie są zbudowane z grup metylenowych i eterowych pochodzących od polieterolu. Segmenty sztywne oddziaływując ze sobą głównie poprzez wiązania wodorowe tworzą domeny sztywne, natomiast segmenty giętkie tworzą domeny elastyczne. Dzięki takiej domenowej strukturze polimery uretanowe cechują się dużą elastycznością a jednocześnie dość dobrą wytrzymałością na rozciąganie, ponadto, regulowaną w szerokim przedziale wartością twardości i dobrą odpornością na ścieranie. Są to jednak polimery mało stabilne termicznie i wykazujące zróżnicowaną odporność chemiczną oraz biologiczną [1–9].

Ze względu na wielostronne zastosowanie polieterouretanowych materiałów w różnych dziedzinach techniki, gospodarki i medycyny oraz zróżnicowane warunki eksploatacji była konieczna ocena ich potencjalnej odporności na biologiczną degradację. Poznanie mechanizmu procesu biologicznej degradacji PEUR umożliwi wykorzystanie go do rozwiązania problemu zagospodarowania, na drodze recyklingu biologicznego, rosnącej liczby odpadów polimerowych zanieczyszczających środowisko naturalne. Z drugiej zaś strony pozwoli modyfikować polimery mające zastosowanie w implantologii pod kątem większej ich odporności na biodegradację przebiegającą w ludzkim organizmie.

Biodegradacja tworzyw polimerowych (biologiczna lub biotyczna) obejmuje wiele procesów o charakterze chemiczno-biologicznym związanych z destrukcją polimerów wywołaną działaniem enzymów wydzielanych przez obecne na ich powierzchni mikroorganizmy (bakterie i grzyby mikroskopowe) [10]. W wyniku tego działania następuje skracanie łańcuchów polimerowych i eliminacja jego fragmentów, a w konsekwencji zmniejszenie ciężaru cząsteczkowego polimeru. W sprzyjających warunkach proces kończy się depolimeryzacją czyli rozkładem polimeru na monomery lub jego degradacją prowadzącą do powstania innych związków małowartościowych. Biologiczna degradacja modyfikuje strukturę

chemiczną polimeru, zmienia jego właściwości fizykochemiczne oraz mechaniczne, co na ogół, w przypadku większości zastosowań nie jest korzystne. Określając podatność danego polimeru na proces biodegradacji uwzględnia się zarówno jego strukturę chemiczną, budowę nadcząsteczkową i stopień krystaliczności, jak i korozyjność danego środowiska [11–14].

Analizując biodegradację poliuretanów szczególną uwagę należy zwrócić na polieterouretany ze względu na wykorzystanie ich jako biomateriałów w inżynierii tkankowej, m.in. do wytwarzania sztucznych komór serca, protez naczyniowych, balonów wewnątrzaoortalnych, filtrów do płynów ustrojowych i innych implantów medycznych [15–16]. W przypadku takich zastosowań, oprócz określonych właściwości fizycznych i mechanicznych, wymagana jest również odporność na oddziaływanie środowiska biologicznego, w warunkach którego są eksploatowane. Zachodzące w toku degradacji *in vivo* niekorzystne zmiany fizykochemicznych właściwości polimerów są problemem zwłaszcza w odniesieniu do wprowadzonych do organizmu implantów [17–18]. Biostabilność PEUR jako materiału implantów lub wykorzystywanego w inżynierii tkankowej jest zatem cechą bardzo pożądaną. Obecność enzymów w środowisku fizjologicznym organizmu była powodem, dla którego referowane w publikacjach badania nad biodegradacją PEUR koncentrowały się na degradacji enzymatycznej [19–21]. W nowszych opracowaniach dotyczących mechanizmu biodegradacji *in vivo* dużo uwagi poświęca się również roli utleniania. Zachodzące w tych warunkach procesy utleniania są efektem oddziaływania systemu makrofagów, fagocytów na ciało obce obecne w organizmie ludzkim i prowadzą do zmian właściwości polimerów.

Shan-hui Hsu i Tsung-bin Huang opisali wyniki badań degradacji *in vitro* dwóch typów PEUR; mianowicie zsyntezowanych z 4,4'-diizocyjanianu difenylometanu (MDI) i poli(tetrahydrofuranu) (PTMO) przedłużanych butano-1,4-diolem (PEUR typu A) oraz przedłużanych but-2-eno-1,4-diolem (PEUR typu B) [22]. Określono wpływ zarówno utleniania, jak i działania enzymu papainy (uwalnianej przez makrofagi w odpowiedzi na obecność ciała obcego, np. implantu) na szybkość degradacji materiału polimerowego. Utlenianie próbek PEUR typu A lub B będące rekonstrukcją utleniania *in vivo* prowadzono w roztworze H_2O_2 w $CoCl_2$ w temp. $37\text{ }^\circ C$, w ciągu 1 tygodnia. Następnie próbki inkubowano w roztworze papainy o temp. $37\text{ }^\circ C$ przez okres 1 miesiąca. Postęp degradacji oceniano na podstawie zmian morfologii powierzchni próbek obserwowanych za pomocą refleksyjnego mikroskopu elektronowego oraz zmian grup funkcyjnych rejestrowanych metodą spektroskopii ATR-FT-IR i XPS. Wykazano, iż wcześniejsze utlenianie próbek PEUR zwiększa ich podatność na enzymatyczną hydrolizę pod wpływem papainy co wiąże się z interakcją cząsteczek enzymu z utlenioną powierzchnią polieterouretanu. Stwierdzono również, że PEUR typu B wyka-

zał większą odporność na utlenianie, a w konsekwencji mniejszą wrażliwość na degradację enzymatyczną. Utlenianie zatem, obok enzymatycznej (hydrolitycznej) degradacji stanowi ważny etap biodegradacji *in vivo* polieterouretanów.

Ze względu na złożoną specyfikę środowiska organizmu ludzkiego wyniki badań biodegradacji *in vitro* obejmującej degradację enzymatyczną oraz utlenianie PEUR zsyntezowanych w warunkach laboratoryjnych, nie w pełni odzwierciedlały efekty degradacji zachodzącej *in vivo*. Dla właściwej oceny stopnia biodegradacji jest istotne użycie do badań próbek handlowych PEUR wykorzystywanych do produkcji m.in. implantów.

Christenson i inni [23] określili zależności między degradacją enzymatyczną i utlenianiem w środowisku *in vitro* oraz *in vivo* w odniesieniu do handlowego polieterouretanu Elasthane™ 80A otrzymanego z MDI i PTMO, przedłużanego butanodiolem. Próbki tego polimeru inkubowali w roztworze esterazy cholesterolowej (CE) (enzymu wydzielanego przez różne makrofagi gromadzące się wokół implantów w organizmie), o stężeniu znacznie przewyższającym poziom fizjologiczny, w temp. $37\text{ }^\circ C$, w ciągu 36 dób. Próbki poddali również utlenianiu *in vitro* umieszczając je w roztworze H_2O_2 w $CoCl_2$ o temp. $37\text{ }^\circ C$ na okres 24 dób. Po upływie tego czasu zdegradowany materiał poddano badaniom za pomocą ATR-FT-IR i SEM. Dla porównania prowadzono degradację *in vivo* próbek PEUR umieszczając je podskórnie w organizmie szczurów na okres 3–12 miesięcy. Analiza SEM, ATR-FT-IR i GPC próbek przed i po enzymatycznej degradacji wykazała niewielkie zmiany ich powierzchni i składu. Stwierdzono także, iż stopień degradacji *in vitro* po 24 dobach utleniania odpowiada poziomowi zaobserwowanemu po upływie 12 miesięcy implantacji. Wyniki badań potwierdziły, że to utlenianie a nie hydroliza enzymatyczna jest dominującym mechanizmem w degradacji *in vivo* handlowych PEUR, ponadto umożliwiły opracowanie laboratoryjnej metody określania wpływu utleniania na biostabilność handlowych polieterouretanów.

Na podstawie danych literaturowych można stwierdzić, że polieterouretany stosowane do produkcji implantów wykazują dużą biostabilność w środowisku *in vivo* i odporność na degradację enzymatyczną.

Odrębną grupę tworzyw polieterouretanowych stanowią pianki. Znajdują one zastosowanie w wielu dziedzinach przemysłu (np. w przemyśle meblarskim, budownictwie) i w gospodarstwie domowym. Wykorzystuje się je również jako materiał zabezpieczający naturalne środowisko na wysypiskach śmieci.

Urgun-Demirtas analizował odporność handlowych pianek polieteroestrouretanowych na biologiczne działanie mikroorganizmów beztlenowych zarówno w warunkach laboratoryjnych, jak i pod warstwą gleby pochodzącej ze składowiska odpadów [24].

Badane pianki nie ulegały biodegradacji, nie zmieniały się ani masa próbek ani ich wytrzymałość na rozciąganie.

nie. Widma FT-IR struktury chemicznej pianek przed i po biologicznej degradacji nie różniły się.

Ze względu na rosnącą ilość odpadów polimerowych ważna jest ich jak największa podatność na biodegradację. W celu zwiększenia tej podatności proponuje się wbudowanie w strukturę polimeru łatwo biodegradowalnych segmentów [25–28]. Mogą to być, wprowadzane do matrycy polimerowej w postaci zdyspergowanego wypełnienia, oligomerowe bądź małocząsteczkowe substancje, rozkładalne mikrobiologicznie fragmenty pochodzące, np. z mączki drzewnej, kory, hemicelulozy lub skrobi.

Morova i Obruca badali wpływ modyfikacji struktury poliuretanów na szybkość ich biodegradacji [29]. Jako materiał polimerowy wykorzystali pianki i elastomery poliuretanowe modyfikowane karboksymetylocelulozą, którą w ilości 1–40 % mas. stosowano w syntezie poliuretanu zamiast polieterolu handlowego. Tak przygotowane próbki poddano biodegradacji z udziałem bakterii *Arthrobacter globiformis*, *Comamonas acidovorans* oraz mieszaniny termofilnych *Bacillus sp.* i *Thermus sp.* w ciągu 4–6 tygodni. Określono chemiczne zapotrzebowanie na tlen, ubytek masy i zmiany powierzchni poliuretanów. Stwierdzono, że w najwyższym stopniu uległ degradacji poliuretan zawierający 40 % mas. karboksymetylocelulozy, w obecności bakterii *Arthrobacter globiformis* i *Comamonas acidovorans*. Stopień degradacji w obecności mieszaniny kultur *Thermophilus sp.* zależał od zawartości procentowej zastosowanego modyfikatora.

Carnecka i Obruca stwierdzili, że stopień degradacji zależy nie tylko od zawartości modyfikatora, ale również od jego typu [30]. Analizowali biodegradowalność modyfikowanych pianek polieterouretanowych. W charakterze modyfikatorów wykorzystali acetylocelulozę, hydroksyetylocelulozę i karboksymetylocelulozę (10 % mas.) oraz skrobię (1–10 % mas.) i gluten (1–5 % mas.). Tak zmodyfikowane poliuretany poddano degradacji w środowisku kompostu wzbogaconego o hodowlę grzybów *Aureobasidium pullulans*, *Fusarium solani*, przez okres 4–6 tygodni. Wysoki stopień degradacji w takich warunkach stwierdzono w przypadku pianek polieterouretanowych modyfikowanych zarówno skrobią lub celulozą, jak i glutenem. Zaobserwowano również, że użyte grzyby były słabo aktywne w biodegradacji pianek. Na początkowym etapie procesu zależnym od struktury użytego modyfikatora adsorbowały one na powierzchni materiału pianek.

PODSUMOWANIE

Ze względu na zastosowanie biomedyczne polieterouretanów istotne jest prowadzenie dalszych badań analizy podatności na utlenianie i enzymatyczną degradację dla otrzymania materiałów odpornych na działanie czynników degradujących obecnych w środowisku organizmu ludzkiego. Cecha ta determinuje bowiem wykorzystanie tych materiałów w implantologii.

Zaprezentowane wyniki badań wskazują, że dominującym procesem, odpowiedzialnym za biodegradację *in vivo* polieterouretanów jest utlenianie a nie hydroliza enzymatyczna.

Odporność na degradację biologiczną jest ważna także w przypadku pianek PEUR wykorzystywanych jako materiały izolacyjne na składowiskach odpadów lub materiałów ochronnych w różnego typu instalacjach ciepłowniczych i w budownictwie.

Składowanie takich biostabilnych odpadów poważnie jednak zaburza ekosystem środowiska naturalnego. Badania w kierunku zwiększenia biodegradowalności PEUR w wyniku modyfikacji substancjami rozkładalnymi mikrobiologicznie ma na celu umożliwienie zagospodarowania odpadów poliuretanowych na drodze ich recyklingu biologicznego.

LITERATURA

1. Randall D. „The Polyurethanes Book”, J. Wiley & Sons Ltd. 2002.
2. Oertel G.: „Polyurethane Handbook” 2 wyd., New York, Danser Publisher 1994.
3. Wirpsza Z.: „Poliuretany, chemia, technologia, zastosowanie”, WNT, Warszawa 1991.
4. Szlezyngier W.: „Tworzywa sztuczne”, t. 3., Rzeszów 1999, rozdz. IV.
5. Olczyk W.: „Poliuretany”, WNT, Warszawa 1968.
6. Król P.: „Linear Polyurethanes”, Leiden-Boston 2008.
7. Florjańczyk Z., Penczek S.: „Chemia polimerów” t. 3, Warszawa 1998.
8. Cooper S. L.: „Polyurethanes in Medicine”, CRC Press, Boca Raton, 1986, str. 10–16.
9. Błędzki A., Fabrycy E.: *Polimery* 1992, **37**, 343.
10. Fabrycy E.: „Polimery degradowalne – stan techniki”, mat. konf. „Recycling tworzyw sztucznych”, Szczecin 1993, 153–171.
11. Kozłowska A.: *Tworzywa sztuczne i chemia* 2004, nr **3**, 25.
12. Kaczmarek H., Bajer K.: *Polimery* 2006, **51**, 719.
13. Kaczmarek H., Bajer K.: *Polimery* 2007, **52**, 13.
14. PN-EN ISO 846:1997 Tworzywa sztuczne. Ocena działania mikroorganizmów.
15. Carson R. I., Edwards A.: *Urethanes Technology* 1999/2000, **16**, 24.
16. Nałęcz M.: „Problemy biocybernetyki i inżynierii biomedycznej”, Warszawa 1990, t. 3.
17. Ebert M., Ward B., Anderson J., McVenes R., Stokes K.: *J. Biomed. Mater. Res.* 2005, **75A**, 175.
18. Santerre J. P., Labow R. S., Woodhouse K., Laroche G.: *Biomaterials* 2005, **26**, 7457.
19. Bouvier M., Chawla A. S., Hinberg I.: *J. Biomed. Mater. Res.* 1991, **25**, 773.
20. Xi T., Sato M., Nakamura A., Kawasaki Y., Umemura T., Tsuda M., Kurokawa Y.: *J. Biomed. Mater. Res.* 1994, **28**, 483.
21. Xi T., Sato M., Nakamura A., Kawasaki Y., Umemura T., Tsuda M., Kurokawa Y.: *J. Biomed. Mater. Res.* 1995, **29**, 1201.

22. Shan-hui Hsu, Tsung-bin Huang: *Polym. Degrad. Stab* 2000, **67**, 171.
23. Christenson E. M., Patel S., Anderson J. M., Hiltner A.: *Bio-materials* 2006, **27**, 3920.
24. Urgun-Demirtas M., Singh D., Pagilla K.: *Polym. Degrad. Stab.* 2007, **92**, 1599.
25. Roper H., Koch H.: *Starch* 1990, **42**, 123.
26. Stepaniak L.: *Przem. spoż.* 1999, **53**, nr 10, 18.
27. *Pat. Pol.* 1 672 13 9.
28. Cofta G., Borysiak S., Doczekalska B., Garbarczyk J.: *Poli-mery* 2006, **51**, 276.
29. Marova I., Obruca S., Ondruska V., Hrdlickova J., David J., Vojtova L., Jancar J.: *J. Biotech.* 2007, **131S**, 170.
30. Carnecka M., Obruca S., Ondruska V., Hlobilova L., Hrdlic-kova J., Trckova M., Marova I.: *J. Biotech.* 2007, **131S**, 174.

Otrzymano 10 VI 2009 r.