

# POLIMERY

MIESIĘCZNIK POŚWIĘCONY CHEMII, TECHNOLOGII I PRZETWÓRSTWU POLIMERÓW

JOANNA WOJTURSKA

Politechnika Rzeszowska im. I. Łukasiewicza  
Al. Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów  
e-mail: nogaj@prz.edu.pl

## Degradacja enzymatyczna poliuretanów

### Cz. II. WPŁYW BUDOWY CHEMICZNEJ POLIURETANÓW I WARUNKÓW HYDROLIZY ENZYMATYCZNEJ

**Streszczenie** — W tej części opracowania przedstawiono stan wiedzy na temat enzymatycznej degradacji poliuretanów (PUR) ze szczególnym uwzględnieniem wpływu podstawowych warunków procesu, rodzaju enzymu zastosowanego do degradacji, jego aktywności i czasu działania oraz budowy chemicznej poliuretanów (polimerów o strukturze segmentowej) na przebieg takiego rozkładu. Omówiono wybrane techniki kontrolowania przebiegu degradacji, mianowicie określanie ubytku masy oraz zmian ciężaru cząsteczkowego, stopnia krystaliczności, właściwości mechanicznych i morfologii próbek.

**Słowa kluczowe:** poliuretany, degradacja enzymatyczna, budowa chemiczna, struktura segmentowa, enzymy.

ENZYMATIC DEGRADATION OF POLYURETHANES. Part II. INFLUENCE OF THE CHEMICAL STRUCTURE OF THE POLYURETHANES AND ENZYMATIC HYDROLYSIS CONDITIONS

**Summary** — A review of the state-of-the-art and developments in the field of enzymatic degradation of polyurethanes (PUR) has been presented in this part. In the review special consideration was given to the primary factors influencing the polyurethane degradation such as the type of enzyme used, its activity, duration of the process and also the structure of the polyurethanes (polymers of segmented structure). Monitoring techniques *via* weight loss, measurements and observations of changes of molecular weight, crystallinity, mechanical properties as well morphology were discussed.

**Keywords:** polyurethanes, enzymatic degradation, chemical structure, segmented structure, enzymes.

Niniejsza publikacja stanowi kontynuację przeglądu literatury dotyczącej wymienionej w ogólnym tytule enzymatycznej degradacji poliuretanów (PUR). W części I [1] przedstawiono produkty rozkładu i modelowanie procesu, poniżej zaś szczegółowo scharakteryzowano

wpływ różnorodnych czynników na mechanizm i przebieg takiej hydrolizy PUR.

Jak już wspomniano w [1], hydroliza enzymatyczna jest procesem heterogenicznym. Enzymy atakują powierzchnię poliuretanów, powodując rozpad makrocza-

teczeń na mniejsze elementy strukturalne, w wyniku czego następuje erozja powierzchni. Procesy degradacji enzymatycznej mogą dotyczyć całej objętości próbki lub też zachodzić jedynie na powierzchni tworzywa. Ograniczenie procesów biorozkładu do warstwy wierzchniej ma miejsce wówczas, gdy enzymy zewnątrzkomórkowe są zbyt duże by penetrować do wnętrza materiału polimerowego. Głównymi technikami stosowanymi do oceny stopnia degradacji materiałów polimerowych są metody analizy powierzchniowej (mikroskopia optyczna, skaningowa mikroskopia elektronowa, mikroskopia sił atomowych, spektroskopia w podczerwieni, pomiar kąta zwilżania, rentgenowska spektroskopia fotoelektronów). To techniki typowe, odpowiednie do kontrolowania zmian obserwowanych na pierwszych etapach degradacji. W celu scharakteryzowania późniejszych stadiów biorozkładu, kiedy to zmiany właściwości zachodzą już globalnie w całej objętości próbki, stosuje się przede wszystkim chromatografię żelową (umożliwiającą ustalenie zmiany ciężaru cząsteczkowego), analizę wagową (wyznaczenie ubytku masy próbek po degradacji), analizę termiczną, tzn. różnicową kalorymetrię skaningową i termograwimetrię (określenie zmiany wartości temperatury przemian fizycznych i temperatury rozkładu) oraz badanie właściwości mechanicznych materiałów polimerowych po hydrolizie enzymatycznej [2, 3]. Ilościowo przebieg degradacji może być wyrażony poprzez stopień hydrolizy wiązań chemicznych w łańcuchu polimerowym.

Mechanizm degradacji enzymatycznej materiałów polimerowych zależy od wielu czynników, takich jak struktura polimeru, stopień jego homogeniczności bądź rodzaj techniki przetwórczej. Również charakter powierzchni próbki materiału stanowi istotny faktor decydujący o przebiegu jego degradacji.

Poliuretany są polimerami segmentowymi, składającymi się z występujących przemiennie segmentów sztywnych i elastycznych. Te pierwsze, zawierające grupy uretanowe, są złożone z fragmentów strukturalnych pochodzących od diizocyjanianów i przedłużaczy łańcucha. Segmenty giętkie są natomiast zbudowane z grup metylenowych i obejmują wiązania eterowe lub estrowe. Ze zwiększaniem zawartości segmentów sztywnych w PUR wzrasta moduł sprężystości, twardość, wytrzymałość mechaniczna, odporność na ścieranie oraz maksymalna dopuszczalna temperatura użytkowania, zwiększenie zaś udziału segmentów giętkich polepsza elastyczność, wydłużenie przy zerwaniu i odporność na niską temperaturę [4].

Obecność wiązań estrowych i uretanowych w łańcuchu głównym poliuretanów sprawia, że są one podatne na hydrolizę pod wpływem enzymów. W reakcjach degradacji enzymatycznej uwalniają się produkty rozpadu, które mogą stanowić źródło węgla i azotu.

Szybkość i stopień degradacji PUR zależy od ich budowy chemicznej, tj. udziałów i rodzaju segmentów sztywnych oraz segmentów elastycznych, które z kolei są

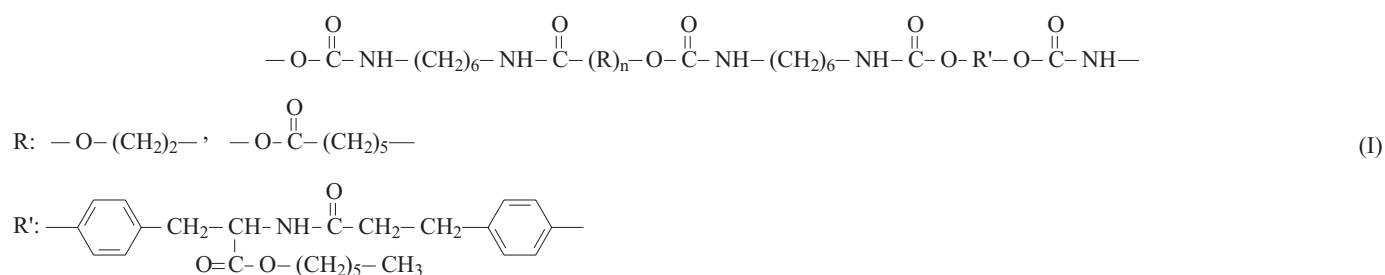
funkcją rodzaju użytych substratów. Zależy on również od typu enzymów, które mogą katalizować degradację i doprowadzić do erozji powierzchni, nawet w przypadku częściowo krystalicznych i hydrofobowych polimerów. W poniższym przeglądzie literaturowym szczegółowo omówiono wpływ tych podstawowych czynników na przebieg degradacji enzymatycznej poliuretanów.

#### WPŁYW BUDOWY I UDZIAŁU SEGMENTÓW ELASTYCZNYCH

Najbardziej rozpowszechnionym sposobem uzyskiwania podatnych na degradację enzymatyczną PUR jest wprowadzenie do struktury polimeru takich segmentów elastycznych, które w sprzyjających warunkach mogą ulegać hydrolizie. W tym celu do syntezy stosuje się pochodne np. polilaktydu, poli( $\epsilon$ -kapolaktonu), albo poli(hydroksymaślanu) bądź glikol etylenowy, glikol propylenowy lub oligoadypiniany. W wyniku reakcji otrzymuje się wówczas liniowe albo rozgałęzione biodegradowalne poliuretany różniące się właściwościami fizycznymi i podatnością na degradację. Odpowiedni dobór budowy chemicznej segmentu elastycznego decyduje o tym, czy degradacja trwać będzie bardzo długo (latami), czy też dojdzie do niej w ciągu kilku tygodni [5]. Na szybkość degradacji enzymatycznej wpływ wywiera zarówno rodzaj grup funkcyjnych wprowadzanych do struktury poliuretanu wraz z poliolem, jak i wielkość segmentu elastycznego.

Oceniając wpływ budowy tego ostatniego na przebieg degradacji enzymatycznej poliuretanów można stwierdzić, że na hydrolizę wobec enzymów w największym stopniu podatne są poliestrouretany [6]. Poliwęglanourethane (PCUR) charakteryzują się znacznie większą stabilnością hydrolityczną niż typowe poliuretany typu estrowego, co wynika z faktu, że podczas hydrolizy wiązań węglanowych nie powstają grupy karboksylowe katalizujące rozkład enzymatyczny [7]. Polieterourethane ulegają degradacji — podobnie jak PCUR — w małym stopniu, niemniej jednak udało się wyodrębnić i zidentyfikować produkty ich hydrolizy. Budowa wydzielonych produktów wskazuje, że pochodzą one z rozkładu elastycznych segmentów poliuretanu [8].

Szybkość degradacji w znacznym stopniu zależy od hydrofilowości próbki. Porównywano degradację poliuretanów otrzymanych z 1,6-diizocyjanianu heksametylenowego (HDI) oraz z glikolu polioksyetylenowego (PEG,  $\bar{M}_w = 1000$ ) lub poli(kapolaktono)diolu (PCL,  $\bar{M}_w = 1250$ ). Jako przedłużacz łańcucha zastosowano w obu przypadkach ester będący pochodną tyrozyny [DTH, wzór (I)] [8]. Degradację enzymatyczną tych poliuretanów prowadzono z zastosowaniem  $\alpha$ -chymotrypsyny, w roztworze buforu fosforanowego (pH = 7,4), w temp. 37 °C, pod wpływem enzymu o aktywności równej 47 jednostek/g. Spodziewać się było można, że poliestrouretan będzie ulegał degradacji enzymatycznej łatwiej niż polieterourethane, okazało się jednak, że ubytek masy



próbek poliuretanów otrzymanych z zastosowaniem PEG był znacznie większy niż materiałów uzyskanych przy użyciu PCL (55 % w przypadku PEG/HDI/DTH i 6 % w przypadku PCL/HDI/DTH). Znaczne powinowactwo powierzchni poliuretanu PEG/HDI/DTH do wody ułatwia penetrację enzymu do matrycy polimerowej i indukuje degradację próbki w całej objętości. Dodatkowo, produkty hydrolizy enzymatycznej PUR otrzymanych z PEG są rozpuszczalne w środowisku degradacyjnym, co powoduje, że masa próbki podczas degradacji szybko ulega zmniejszeniu. Degradacja poliuretanu PCL/HDI/DTH zachodzi natomiast jedynie na powierzchni próbki, a produkty hydrolizy enzymatycznej pozostają na warstwie wierzchniej błony polimerowej.

Potwierdzeniem tezy o szybszym rozpadzie bardziej hydrofilowych segmentów elastycznych zbudowanych z glikolu polioksyetylenowego w stosunku do silniej hydrofobowych poliuretanów otrzymanych z zastosowaniem poli(kaprolaktono)diolu jako fragmentu takich segmentów są wyniki badania przebiegu degradacji enzymatycznej segmentowych polieteroestroureanów, w których segment elastyczny został utworzony bądź przez kopolimer PCL/PEG/PCL, bądź też przez sam PCL [9]. Różnice w budowie segmentów elastycznych prowadzą do odmiennego zachowania się próbek wobec chymotrypsyny – ubytek masy PUR zawierających kopolimer PCL/PEG/PCL po 12 dniach ekspozycji był ponad 5-krotnie większy niż w przypadku próbek otrzymanych z udziałem jedynie PCL [10].

Podatność na hydrolityczną i enzymatyczną degradację poliuretanów otrzymanych z poli(ε-kaprolaktono)diolu i 4,4'-diizocyjanianu difenylometanu (MDI) zmniejsza się wraz ze wzrostem ciężaru cząsteczkowego łańcucha PCL [11].

Dokładnym wskaźnikiem stopnia degradacji polimeru jest pomiar jego właściwości mechanicznych przed i po określonym czasie degradacji. W wielu przypadkach rozkład polimeru jest mało zauważalny na podstawie oceny jedynie ubytku masy, ale już pomiar naprężenia zrywającego i/lub wydłużenia względnego przy zerwaniu wyraźniej wskazuje na degradację materiału [2]. W celu określenia wpływu struktury segmentu elastycznego na zmianę właściwości mechanicznych po degradacji enzymatycznej otrzymano mianowicie poliuretany z diizocyjanianu izoforonu (IPDI), poli(ε-kaprolaktono)diolu, glikolu polioksyetylenowego (PEG) oraz przedłużacza łańcucha (butano-1,4-diolu), różniące się

zawartością segmentów elastycznych (16,7–45 %). Proces degradacji enzymatycznej prowadzono w roztworze buforu fosforanowego (pH = 7,4), w temp. 55 °C, używając lipazy *Pseudomonas fluorescens* (Amano, AK). Wyniki pokazały, że szybkość degradacji jest proporcjonalna do zawartości poli(ε-kaprolaktono)diolu i odwrotnie proporcjonalna do ilości glikolu polioksyetylenowego. W przypadku, gdy zawartość PEG w segmencie elastycznym wynosiła 45 %, to określenie właściwości mechanicznych próbek było niemożliwe dopiero po 32 h degradacji, natomiast w przypadku PUR zawierających 16,7 % fragmentów PEG w takim segmencie – już po 9 h działania enzymu.

#### WPŁYW BUDOWY I UDZIAŁU SEGMENTÓW SZTYWNYCH

Unikatowa struktura nadcząsteczkowa poliuretanów, wynikająca z obecności mikrodomen segmentów sztywnych, może powodować, że potencjalne miejsca podatne na atak hydrolityczny (wiązanie uretanowe, mocznikowe, węglanowe) będą osłaniane, dzięki czemu dostęp czynnika degradującego zostanie utrudniony; w konsekwencji doprowadzi to do opóźnienia procesu degradacji. Stwierdzono, że istnieje silna zależność pomiędzy budową chemiczną segmentu sztywnego a szybkością degradacji – im większa liczba wiązań mocznikowych lub uretanowych tym degradacja wolniejsza, co może wynikać m.in. z tworzenia się wiązań wodorowych wewnątrz sztywnych segmentów [12]. Zawartość sztywnych mikrodomen w próbkach PUR zależy również od warunków przetworstwa polimeru, tj. temperatury bądź naprężeń mechanicznych, które mogą sprzyjać tworzeniu się takich domen [13].

Aby przeanalizować wpływ budowy segmentu sztywnego na podatność poliuretanów na degradację, do syntezy PUR zastosowano diizocyjaniany różniące się budową chemiczną, co gwarantowało otrzymanie segmentów sztywnych o odmiennych wymiarach i stopniach hydrofilowości. Warunki stechiometryczne reakcji zostały dobrane tak, aby zawartość segmentów sztywnych pozostawała stała. Stwierdzono, że poliuretany syntetyzowane z izocyjanianów alifatycznych są bardziej podatne na hydrolizę niż PUR otrzymane z izocyjanianów cykloalifatycznych bądź aromatycznych. Tak więc, poliuretany na podstawie 4,4'-diizocyjanianu difenylometanu lub diizocyjanianu toluilenu (TDI) są odporne

na oddziaływanie enzymatyczne i mikrobiologiczne. Materiały otrzymane z MDI charakteryzują się przy tym segmentami sztywnymi o większej energii kohezji niż tworzywa otrzymane z TDI, co powoduje, że te pierwsze są bardziej odporne na atak hydrolityczny [14].

W przypadku poliuretanów syntetyzowanych z poli(tlenku tetrametyleny) (PTMO) jako podstawy segmentu elastycznego i jednego z dwóch różnych diizocyanianów [MDI albo 4,4'-diizocyanianu dicykloheksylometanu ( $H_{12}$ MDI)], które tworzyły segment sztywny, stwierdzono, że proces degradacji przebiega znacznie szybciej w przypadku zastosowania  $H_{12}$ MDI. Takie zachowanie wynika z różnic wymiarów segmentu sztywnego i stopnia krystaliczności. W przypadku MDI dochodzi mianowicie do lepszego upakowania matrycy poliuretanowej i utworzenia bardziej uporządkowanych domen sztywnych. Badania z wykorzystaniem znaczonych radioaktywnie substratów wykazały, że sztywne segmenty PUR otrzymanych z MDI, PTMO i etylenodiaminy nie są np. podatne na degradację w obecności esterazy cholesterolowej.

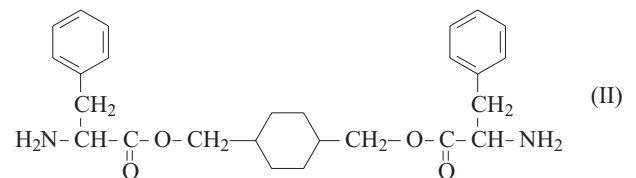
W przypadku poliwęglanourethanów ustalono, że budowa segmentu sztywnego zasadniczo wpływa na właściwości powierzchniowe polimeru, co powoduje różnice w odporności PCUR na degradację. Ugrupowania chemiczne obecne w makrocząstkach PUR można w zależności od występujących w nich wiązań uszeregować w następującym porządku wraz ze zmniejszającą się podatnością na rozpad enzymatyczny: wiązanie węglanowe bez udziału wiązań wodorowych > wiązanie uretanowe bez udziału wiązań wodorowych > wiązanie węglanowe połączone wiązaniami wodorowymi > wiązania uretanowe połączone wiązaniami wodorowymi.

W przypadku zastosowania MDI i  $H_{12}$ MDI do syntezy PCU otrzymuje się polimery ze znacznym udziałem wiązań wodorowych. Ich degradacja zachodzi znacznie wolniej niż w przypadku poliuretanów otrzymanych z udziałem HDI. Podsumowując, można stwierdzić, że ilość wiązań wodorowych ma większy wpływ na przebieg degradacji niż stopień krystaliczności próbek bądź stopień separacji fazowej [15].

Wiele badań dotyczy degradacji enzymatycznej biomateriałów poliuretanowych otrzymanych z diizocyanianu L-lizyny (LDI) [10, 16, 17]. Można się było spodzie-

białkowych aminokwasów, a co się z tym wiąże — w środowisku są obecne mikroorganizmy przystosowane do jego rozkładu. Zatem, fragment łańcucha pochodzący od aminokwasu będzie z łatwością rozpoznawany przez enzym. W wyniku reakcji poliaddycji LDI, polikaprolaktodiolu i etylenodiaminy otrzymano segmentowe poliuretanomoczniki. Rzeczywiście, boczne metylowe grupy estrowe zawarte we fragmencie pochodzącym z LDI ulegały szybkiej hydrolizie, po której następował już powolniejszy proces rozkładu wiązań uretanowych w łańcuchu bocznym [17].

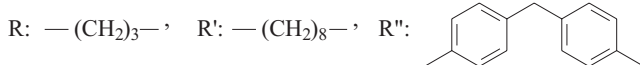
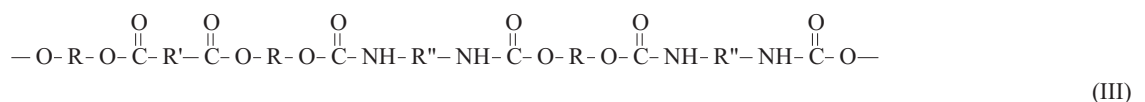
Ze względu na ograniczony wybór diizocyanianów dostępnych obecnie jako substraty w syntezie PUR, znacznie prostszą metodą wprowadzenia podatnych na hydrolizę wiązań do cząsteczki tego polimeru jest zastosowanie odpowiedniego przedłużacza łańcucha. Wprowadzenie do struktury PUR mono-, di-, oligo- bądź polisacharydowego przedłużacza albo środka sieciującego (glukoza [18–20], sacharoza [18], chityna [21], chitozan [22–24], celuloza [18], skrobia) aminokwasu {np. L-tyro-



zyny [8] lub pochodnych fenyloalaniny i 1,4-cykloheksanodimetanolu [10, 25], wzór (II) albo kwasu mlekowego [25] sprawia, że polimer nabiera podobieństwa chemicznego do substancji pochodzenia naturalnego, co w efekcie powinno przyspieszyć proces biodegradacji.

O szybkości degradacji enzymatycznej decyduje — obok budowy segmentów sztywnych — również ich zawartość w makrocząsteczce: im większy udział takich segmentów, tym wolniejsza degradacja. Hydrofilowe segmenty sztywne znajdujące się w objętości próbki (tj. pod jej powierzchnią) mogą w obecności wody przemieszczać się na powierzchnię polimeru, a taka migracja wpływa na ilość podatnych na hydrolizę wiązań zarówno w objętości, jak i na powierzchni próbki [27].

Poliestroureiany [PEUR o wzorze (III)] uzyskane w procesie poliaddycji 1,3-propanodiolu (PDO) z prepo-



wać, że degradacja PUR otrzymanych z udziałem tego diizocyanianu będzie szybsza niż w przypadku wykorzystania innych izocyanianów, gdyż lizyna jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych na naszym globie

limerem otrzymanym z MDI i 1,3-trimetylosebacynianu (PPSe), różniące się zawartością segmentów sztywnych (50–100 % mas.), poddano procesowi degradacji enzymatycznej z udziałem lipazy *Rhizopus delemar*, w roztwo-

rze buforu fosforanowego (pH = 7,2) [28]. Stwierdzono, że w przypadku polimeru złożonego wyłącznie z segmentów sztywnych nie obserwuje się, praktycznie biorąc, utraty masy w obecności enzymu (po 144 h degradacji znormalizowany ubytek masy wynosił zaledwie 0,02 mg/cm<sup>2</sup>), podczas gdy w przypadku poliuretanu zawierającego 50 % takich segmentów, ubytek masy zaobserwowany w analogicznym okresie był 9-krotnie większy; wynika to z mniejszego udziału sztywnych domen w mikrostrukturze i niższego stopnia krystaliczności próbek. Jednocześnie obserwuje się przesunięcie temperatury zeszklenia polimeru w stronę wyższych wartości, co jest potwierdzeniem faktu, że alifatyczne segmenty PUR ulegają degradacji, a pozostała frakcja amorficzna zostaje unieruchomiona pomiędzy krystalitami [28]. Procesy degradacyjne są inicjowane w fazie amorficznej, gdzie penetracja tlenu oraz wody z enzymami lub mikroorganizmami jest łatwiejsza niż w zwartej strukturze krystalicznej o dużej gęstości. Na początku procesu zdegradowane łańcuchy polimerowe są jeszcze utrzymywane przez niezniszczone domeny krystaliczne. Na dalszym etapie rozkładu, pod wpływem intensywnego ataku enzymów, rozpadają się również końce łańcuchów występujących w strukturach uporządkowanych, czemu towarzyszy duży ubytek masy i znaczna reorganizacja makrocząsteczek [2].

W przypadku poliuretanów otrzymanych z poli(węglanoestro)dioli [HDI/poli(1,6-heksylo-1,2-etylowęglano)diol/butano-1,4-diol] poddanych działaniu esterazy cholesterolowej (37 °C, pH = 7, 400 jednostek/cm<sup>3</sup>) również zaobserwowano, że zawartość segmentów sztywnych wpływa na stabilność hydrolityczną PUR. Zwiększenie się odporności na atak hydrolityczny polimerów zawierających większą ilość segmentów sztywnych wynika przede wszystkim z rosnącej ilości wiązań wodorowych tworzących się wewnątrz domeny sztywnej, co, jak już wspomniano, zdecydowanie wpływa na szybkość degradacji [29].

Autorzy publikacji [6] zaobserwowali różną ilość produktów degradacyjnych uwalnianych w wyniku biodegradacji PUR w zależności od fizycznej postaci próbki polimeru, tzn. od tego, czy występuje ona jako powłoka wewnętrzna na szklanych próbkach czy też jako warstwa formowana na płytkach teflonowych. Mimo, że niektóre obecne w próbce grupy funkcyjne (estrowa, mocznikowa) są podatne na hydrolizę, nie zawsze są one dostępne dla enzymu i dlatego degradacja może nie następować [6].

Szybkość hydrolizy maleje po tym jak zaniknie faza bezpostaciowa w warstwie wierzchniej próbki. Przedłużając czas hydrolizy enzymatycznej, zaobserwowano nieznaczny wzrost temperatury topnienia, a także odpowiadający mu wzrost ciepła topnienia; temperatura zeszklenia polimeru po degradacji była przesunięta w stronę wyższych wartości. Takie zmiany zostały spowodowane zwiększeniem zawartości fazy krystalicznej i zmniejszeniem udziału segmentów elastycznych [28].

## WPLYW RODZAJU I AKTYWNOŚCI ENZYMU

Z faktu, że proces degradacji enzymatycznej może być traktowany zarówno jako zagrożenie (np. z punktu widzenia trwałości poliuretanów stosowanych w charakterze biomateriałów), ale również jako szansa na ewentualną utylizację odpadów poprodukcyjnych i poużytkowych, wynika zainteresowanie szeregu badaczy wpływem rodzaju wykorzystywanych enzymów na przebieg hydrolizy enzymatycznej. W przypadku oceny degradacji enzymatycznej jako pożądanego procesu, poszukiwane są enzymy charakteryzujące się znacznym powinowactwem do poliuretanów i powodujące ich wyraźną degradację w stosunkowo krótkim czasie. Gdy natomiast traktuje się hydrolizę enzymatyczną jako proces niepożądany, szacowana jest np. potencjalna, wynikająca z obecności enzymów w ciele człowieka utrata właściwości użytkowych przez wszczepiane tego rodzaju materiały polimerowe.

Lokalna zmiana pH, obecność produktów organicznych wydzielających się w trakcie hydrolizy PUR podatnych na działanie enzymów hydrolitycznych oraz istnienie w środowisku degradacyjnym soli nieorganicznych mogą w obecności enzymu wywierać efekt synergiczny na przebieg degradacji. Spośród hydrolaz — enzymów powodujących pękanie wiązań w procesie hydrolizy — do badań wykorzystywano przede wszystkim proteazy pochodzenia zarówno roślinnego (papaina, bromelina, ficyna [17]) lub grzybowego (proteinaza) [30], jak i ludzkiego (chymotrypsyna [10, 17], elastaza [30]) a także enzymy lipolityczne (esteraza cholesterolowa [31–34] albo lipazy różnego pochodzenia, takie jak *Candida rugosa* [14], bądź *Rhizopus delemar* [11, 20]).

Lipazy należą do grupy enzymów, które są zdolne do hydrolizy wiązań estrowych w nierozpuszczalnych substratach, np. w tłuszczach. Ze względu na fakt, że mogą one metabolizować produkty nierozpuszczalne również w wodzie, zastosowano je do rozkładu poliuretanów (PEUR). Tak np. lipaza z *Candida rugosa* została z powodzeniem wykorzystana do degradacji handlowych poliuretanów w środowisku H<sub>2</sub>O. Stwierdzono, że optymalne warunki degradacji to temp. = 35 °C i pH = 7, co zapewnia generowanie produktu rozpadu (glikolu dietylenowego) z szybkością 0,12 mg/min; energia aktywacji procesu wynosi przy tym 9,121 kcal/gmol K [14]. Lipaza *Rhizopus delemar* powoduje degradację PEUR (MDI/poliestrodiole/1,4-tetrametylenodiol) dwukrotnie szybciej niż lipaza z trzustki wieprzowej [10].

Metodą SEM dokonano wizualizacji powierzchni próbek PEUR otrzymanych z MDI, 1,3-propanodiolu i 1,3-trimetylosebacynianu po degradacji enzymatycznej za pomocą lipazy *Rhizopus delemar*. Małe wgłębienia, szczeliny i nieregularność powierzchni obserwuje się już po 96 h hydrolizy enzymatycznej. Szybkość procesu jest funkcją czasu działania lipazy, zawartości segmentów elastycznych, ich wielkości oraz stopnia krystaliczności. To niszczenie powierzchni próbek poliuretanów jest

wywołane wnikaniem wody, a wraz z nią enzymów powodujących hydrolizę, do obszarów amorficznych zbudowanych z alifatycznych poliestrów [28].

Enzymy proteolityczne — papaina, bromelina i ficyna — których źródłem są rośliny, wykazują znaczną aktywność w stosunku do PUR otrzymanych z diizocyjanianu L-lizyny. Porównawcze badania efektywności degradacji, wyrażonej jako stosunek ilości węgla organicznego wydzielonego podczas degradacji pod wpływem tych enzymów do teoretycznej ilości węgla w próbce wykazały, że ona wynosi, odpowiednio, 44, 42 i 53 %. W tych samych badaniach stwierdzono, że wspomniane poliuretany są również podatne na działanie enzymu proteolitycznego, obecnego w ciele człowieka — chymotrypsyny, jednak efektywność degradacji jest tu znacznie mniejsza (0,85 %) [17].

Santerre i współpracownicy wskazali, że degradacja poliesteruretanów [TDI/PCL/etylenodiamina (ED)] i polieteruretanów (TDI/glikol polioksyetylenowy/ED) przebiega najbardziej efektywnie w obecności lipolitycznej esterazy cholesterolowej, natomiast enzymy proteolityczne (kolagenaza, katepsyna B) nie powodują rozkładu tych poliuretanów, podobnie jak oksydaza ksantynowa — enzym z grupy oksydoreduktaz [31].

W innych badaniach tej grupy autorów również stwierdzono, że enzymy utleniające, np. peroksydaza chrzanowa bądź oksydaza ksantynowa, nie są w stanie powodować rozpadu ani polietero-, ani poliesteruretanów [6].

Aby zwiększyć szybkość degradacji enzymatycznej zaproponowano wstępną ekspozycję polieteruretanów na działanie czynników utleniających ( $H_2O_2$  i  $CoCl_2$ ). Taka modyfikacja powierzchni, poprzedzająca potraktowanie polimerów enzymem proteolitycznym (papaina, 140 jednostek/cm<sup>3</sup>, pH = 6,2, 1 miesiąc), zwiększyła podatność badanych PUR na degradację enzymatyczną, co jest wynikiem ułatwienia wzajemnego oddziaływania pomiędzy enzymem i zmodyfikowaną (utlenioną) powierzchnią próbki [35].

W badaniach enzymatycznej degradacji segmentowych poliuretanów, które mogą być wykorzystane jako biopolimery, stosuje się enzymy obecne w organizmach ludzkich — występujące w komórkach, płynach ustrojowych i wydzielinach gruczołowych. Zalicza się do nich rozkładające tłuszcze enzymy lipolityczne (np. lipazy, esteraza cholesterolowa) oraz enzymy proteolityczne, które rozszczepiają białka, w szczególności chymotrypsynę. Enzymy biorą udział we wszystkich procesach chemicznych przebiegających w ustroju, m.in. w trawieniu pokarmów, oczyszczaniu ciała z produktów odpadowych, w budowie wszelkich tkanek, produkcji krwi oraz w pracy systemu immunologicznego. Ten ostatni przykład działania enzymów jest zwłaszcza ważny w przypadku, gdy do organizmu człowieka wprowadza się ciała obce jako np. zespolenia elementów kostnych, wypełnienia ubytków albo elementy rekonstrukcji zniszczonych części kości i stawów, a także jako implanty. Istotne jest przy

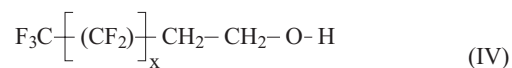
tym, aby wykonane z tworzyw polimerowych elementy zachowywały się w organizmie ludzkim tak jak zastępowane przez nie tkanki, a jednocześnie były trwałe i nie ulegały degradacji — organizm nie traktuje ich wówczas jako ciało obce, tylko jak swoje własne tkanki.

Labow i współpracownicy intensywnie badali hydrolizę enzymatyczną polieteruretanów, poliesteruretanów i poliwęglanouretanów w wyniku działania esterazy cholesterolowej, elastazy, proteinazy K, katepsyny B oraz trombiny. Stwierdzono, że największą aktywność względem tych polimerów wykazuje esteraza cholesterolowa [30].

W badaniach degradacji poliwęglanouretanów [MDI/poli(1,6-heksylo-1,2-etylowęglan)butano-1,4-diolu] i polieteruretanów (MDI/PTMO/butano-1,4-diol) oraz PEU wykonanych przez Hiltner i współpracowników zastosowano esterażę cholesterolową użytą w stężeniu znacznie przewyższającym fizjologiczny poziom w ciele człowieka, ale zaobserwowano jedynie niewielki ubytek masy i zmianę ilości segmentów elastycznych po 36 dniach inkubacji. Wyniki badań świadczą o tym, że proces degradacji nie zachodzi w całej objętości próbki i nie powoduje pogorszenia właściwości PUR [33].

W segmentowych polieteroesteruretanach otrzymanych w reakcji poliaddycji kopolimeru PCL/PEG/PCL, diizocyjanianu lizyny oraz 1,4-cykloheksanodimetanolu i poddanych działaniu chymotrypsyny (500 jednostek/cm<sup>3</sup>, pH = 8, temp. = 37 °C, 2–12 dni) następowały znaczne zmiany na powierzchni. Erozja, wyrażona ilościowo jako utrata masy próbki (w wyniku wydzielenia z niej monomerów i oligomerów), przekraczała 25 % (12 dni ekspozycji w buforze). Jednocześnie wartość  $\bar{M}_w$  zmniejszyła się o 60 % [10]. W związku z tym ostatnim zjawiskiem warto podkreślić, że ocena zmian ciężaru cząsteczkowego polimeru podczas procesu degradacji jest jedną z najważniejszych charakterystyk. W toku biodegradacji w glebie, kompoście lub w wodzie dochodzi mianowicie do pęknięcia łańcuchów polimeru, co prowadzi do zmniejszenia jego ciężaru cząsteczkowego. Niekiedy pękaniu łańcuchów polimeru podczas degradacji może towarzyszyć sieciowanie, maskujące efekty rzeczywistego wpływu degradacji na zmiany ciężaru cząsteczkowego [2].

W celu zmniejszenia szybkości degradacji enzymatycznej poliuretanów stosowanych jako biopolimery, zaproponowano modyfikację fizyczną ich powierzchni za pomocą związków fluoru [wzór (IV)]. Wprowadzony



x = 3–17

modyfikator koncentruje się w warstwie wierzchniej próbki, a więc nie wywiera wpływu na inne podstawowe właściwości produktu, a zdecydowanie poprawia jego biostabilność [36].

Badano również wpływ zmian aktywności enzymu na proces degradacji poliwęglanourethanów otrzymanych z MDI, HDI lub H<sub>12</sub>MDI i poli(1,6-heksylo-1,2-etylowęglanodiolu) oraz butano-1,4-diolu. Degradację enzymatyczną przeprowadzono używając do tego celu esterazy cholesterolowej w roztworze buforu fosforowego (pH = 7, temp. = 37 °C). Zastosowano enzymy różniące się aktywnością w przedziale 80–400 jednostek/cm<sup>3</sup>; ulegają one związaniu na powierzchni polimeru w postaci aktywnej, co umożliwia degradację wiązań. Po adsorpcji enzymu i procesie degradacji następuje eliminacja słabo związanego zdenaturowanego enzymu a na powierzchni polimeru powstają nowe miejsca, które mogą być degradowane przez aktywną esterazę – przejawia się to drastycznym zwiększeniem szybkości rozpadu próbki w przypadku aktywności enzymu wynoszącej 400 jednostek/cm<sup>3</sup>, podczas gdy w razie zastosowania enzymu o aktywności 80 jednostek/cm<sup>3</sup> błony polimerowe pozostają stabilne [34].

#### PODSUMOWANIE

Degradacja enzymatyczna poliuretanów jest procesem, którego mechanizm jest złożony i ma charakter biologiczno-chemiczny. Polega on na adsorpcji enzymu na powierzchni PUR oraz następnej hydrolizie wiązań estrowych (co stanowi dominującą drogą degradacji) i – wolniejszej o rząd wielkości – hydrolizie wiązań uretanowych. Czynnikiem decydującym o szybkości degradacji enzymatycznej poliuretanów to przede wszystkim ich budowa chemiczna. Unikatowa segmentowa struktura, która determinuje właściwości PUR, okazała się kluczem umożliwiającym sterowanie podatnością na działanie izolowanych enzymów. W związku z tym można przyjąć jedną z dwóch zasad regulowania szybkości degradacji enzymatycznej omawianych polimerów, mianowicie bądź znacznie ją opóźnić przez taki dobór monomerów do syntezy, aby udział segmentów sztywnych w makrocząsteczce i stopień krystaliczności produktu były znaczne, bądź też celowo zwiększyć szybkość hydrolizy enzymatycznej dzięki umiejętnemu doborowi rodzaju enzymu, jego dawki i czasu działania oraz odpowiedniemu doborowi składu poliuretanu po to, aby polimer charakteryzował się dużą hydrofilowością a segment elastyczny zawierał wiązania podatne na działanie enzymów hydrolitycznych (grupy hydroksylowe, eterowe, estrowe). Poznanie mechanizmu degradacji i czynników go determinujących jest niezwykle ważne, gdyż decyduje m.in. o kierunku zastosowania poliuretanów i warunkuje ich użycie w specyficznych warunkach, np. jako długoterminowe implanty lub okresowe matryce w inżynierii tkankowej bądź w systemie podawania leków.

Ogólna mała podatność syntetycznych tworzyw wielkocząsteczkowych na biodegradację i rosnący stopień zapełniania się wysypisk śmieci odpadami tego typu wymuszają skoncentrowanie się na takich sposobach modyfikacji i produkcji tworzyw, jakie umożliwiają ich biolo-

giczną degradację. Biodegradacja jest bowiem na razie jedyną ekonomicznie opłacalną metodą utylizacji odpadów i dlatego należy rozwijać badania nad nowymi materiałami albo dodatkami do już istniejących polimerów syntetycznych oraz nad czynnikami warunkującymi biodegradację, aby proces ten postępował szybciej i nie powodował zanieczyszczenia środowiska. W ten właśnie kierunek poszukiwań nowych generacji poliuretanów biodegradowalnych wpisują się opisane powyżej badania licznych autorów nad ich enzymatyczną degradacją.

#### LITERATURA

1. Wojturska J.: *Polimery* 2011, **56**, nr 2.
2. Azevedo H. S., Reis R. L.: „Biodegradable Systems in Tissue Engineering and Regenerative Medicine”, CRC Press, 2004, str. 177.
3. Lucas N., Bienaime C., Belloy C., Queneudec M., Silvestre F., Nava-Saucedo J. E.: *Chemosphere* 2008, **73**, 429.
4. Król P.: *Progress Mater. Sci.* 2007, **52**, 915.
5. Santerre J. P., Woodhouse K., Laroche G., Labow R. S.: *Biomaterials* 2005, **26**, 7457.
6. Santerre J. P., Labow R. S., Duguay D. G., Erfle D., Adams G. A.: *J. Biomed. Mater. Res.* 1994, **28**, 1187.
7. Sobczak M., Florjańczyk Z., Dębek C., Parasiewicz W.: *Elastometry* 2004, **1**, 15.
8. Sarkar D., Lopina S. T.: *Polym. Degrad. Stab.* 2007, **92**, 1994.
9. Guan J., Fujimoto K. L., Sacks M. S., Wagner W. R.: *Biomaterials* 2005, **26**, 3961.
10. Ciardelli G., Rechichi A., Cerrai P., Tricoli M., Barbani N., Giusti P.: *Macromol. Symp.* 2004, **218**, 261.
11. Tokiwa Y.: „Biopolymers. Miscellaneous Biopolymers and Biodegradation of Synthetic Polymers”, Wiley-VCH, 2003, str. 323.
12. Nakajima-Kambe T., Shigeno-Akutsu Y., Nomura N., Nakahara T.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1999, **51**, 134.
13. Santerre J. P., Labow R. S.: *J. Biomed. Mater. Res.* 1997, **36**, 223.
14. Gautam R., Bassi A. S., Yanful E. K.: *Biotechnol. Lett.* 2007, **29**, 1081.
15. Tang Y. W., Labow R. S., Santerre J. P.: *J. Biomed. Mater. Res.* 2001, **57**, 597.
16. Shi R., Chen D., Liu Q., Wu Y., Xu X., Zhang L., Tian W.: *Int. J. Mol. Sci.* 2009, **10**, 4223.
17. Yamamoto N., Nakaama A., Oshima M., Kawasaki N., Aiba S.-I.: *Reactive & Functional Polym.* 2007, **67**, 1338.
18. Hatakeyama H.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 2002, **70**, 755.
19. Takahara A., Hadano M., Yamaguchi T., Otsuka H., Kidoaki S., Matsuda T.: *Macromol. Symp.* 2005, **224**, 207.
20. Kloss J., de Souza F. S. M., da Silva E. R., Dionisio J. A., Akcelrud L., Zawadzki S. F.: *Macromol. Symp.* 2006, **245–246**, 651.
21. Zia K. M., Barikani M., Bhatti I. A., Zuber M., Bhatti H. N.: *J. Appl. Polym. Sci.* 2008, **110**, 769.
22. Silva S. S., Menezes S. M. C., Garcia R. B.: *Europ. Polym. J.* 2003, **39**, 1515.
23. Alves P., Coelho J. F. J., Haack J., Rota A., Bruinink A., Gil M. H.: *Europ. Polym. J.* 2009, **45**, 1412.

24. Kadnaim A., Janvikul W., Achai U., Rutnakornpituk M.: *Carbohydrate Polym.* 2008, **74**, 257.
25. Skarja G. A., Woodhouse K. A.: *J. Appl. Polym. Sci.* 2000, **75**, 1522.
26. Tatai L., Moore T. G., Adhikari R., Malherbe F., Jayasekara R., Griffiths I., Gunatillake P. A.: *Biomaterials* 2007, **28**, 5407.
27. Duguay D. G., Labow R. S., Santerre J. P., Mc Lean D. D.: *Polym. Degrad. Stab.* 1995, **47**, 229.
28. Umare S. S., Chandure A. S.: *Chem. Eng. J.* 2008, **142**, 65.
29. Tang Y. W., Labow R. S., Santerre J. P.: *J. Biomed. Mater. Res.* 2001, **56**, 516.
30. Labow R. S., Meek E., Santerre P.: *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 1999, **10**, 699.
31. Santerre J. P., Labow R. S., Adams G. A.: *J. Biomed. Mater. Res.* 1993, **27**, 97.
32. Salacinski H. J., Odlyha M., Hamilton G., Seifalian A. M.: *Biomaterials* 2002, **23**, 2231.
33. Christenson E. M., Patel S., Andersen J. M., Hiltner A.: *Biomaterials* 2006, **27**, 3920.
34. Tang Y. W., Labow R. S., Santerre J. P.: *Biomaterials* 2003, **24**, 2003.
35. Hsu S.-H., Huang T.-B.: *Polym. Degrad. Stab.* 2000, **67**, 171.
36. Jahangir R., McCloskey C. B., Mc Clung W. G., Labow R. S., Brash J. L., Santerre J. P.: *Biomaterials* 2003, **24**, 121.

Otrzymano 4 I 2010 r.

Polskie Stowarzyszenie Naukowe Recyklingu  
Instytut Transportu Samochodowego, Warszawa  
Instytut Chemii Przemysłowej im. prof. I. Mościckiego, Warszawa

przy współpracy z:

Politechniką Warszawską, Szkołą Główną Gospodarstwa Wiejskiego, Wojskową Akademią  
Techniczną oraz Instytutem Inżynierii Materiałów Polimerowych i Barwników

uprzejmie zapraszają do udziału w

## Międzynarodowej Konferencji Naukowo-Technicznej PROBLEMY RECYKLINGU 2011

która odbędzie się w dniach 5–8 października 2011 r. w Józefowie k. Otwocka

**Tematyka konferencji** obejmuje:

- zagadnienia prawno-organizacyjne i ekonomiczne (w tym charakterystyki bilansowe rynku pierwotnego i wtórnego)
- recykling, w tym technologie z obszaru materiałów polimerowych, metali żelaznych i nieżelaznych oraz ich stopów, materiałów niemetalowych (w tym tkanin, ceramiki szkła i papieru)
- maszyny i urządzenia do recyklingu
- biorecykling i biopaliwa
- perspektywy, cele i strategie działania w obszarze recyklingu

**Informacje:** [www.psnr.pl/konferencja.htm](http://www.psnr.pl/konferencja.htm)