

POLIMERY

MIESIĘCZNIK POŚWIĘCONY CHEMII, TECHNOLOGII I PRZETWÓRSTWU POLIMERÓW

JOANNA WOJTURSKA

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

Degradacja enzymatyczna poliuretanów

Cz. I. PRODUKTY ROZKŁADU I MODELOWANIE PROCESU

Streszczenie — Publikacja obejmuje informacje wstępne dotyczące czynników wpływających na hydrolizę enzymatyczną polimerów i mechanizm ich degradacji oraz przegląd literatury dotyczącej enzymatycznej degradacji poliuretanów (PUR). Przedstawiono w niej opis badań obejmujących wyodrębnianie i identyfikację produktów degradacji PUR uwalnianych wskutek działania enzymu oraz doniesienia literaturowe odnoszące się do matematycznego ujęcia procesów degradacji. Stworzenie takiego modelu degradacji enzymatycznej PUR *in-vitro*, jest niezbędne zarówno do zrozumienia kinetyki enzymatycznego rozkładu, jak i do ewentualnego przewidzenia zachowania się polimerów *in-vivo*.

Słowa kluczowe: poliuretany, degradacja enzymatyczna, model matematyczny, produkty rozkładu, recykling chemiczny.

ENZYMATIC DEGRADATION OF POLYURETHANES. Part I. DECOMPOSITION PRODUCTS EVALUATION AND MATHEMATICAL MODELING OF PROCESS

Summary — This paper constitutes a presentation of the factors influencing the enzymatic hydrolysis of polymers, the corresponding degradation mechanism and also a review of the literature regarding enzymatic degradation of polyurethanes (PUR) in general. Studies on the separation and identification of PUR degradation products released as a result of enzyme activity have been presented. Moreover, the literature regarding the mathematical aspects of degradation process was reviewed. The development of such a model for the *in vitro* enzymatic degradation of PUR is essential in understanding the kinetics of the process and enable the prediction of polymer behavior *in vivo*.

Keywords: polyurethanes, enzymatic degradation, mathematic model, degradation products, chemical recycling.

Poliuretany (PUR) stanowią obecnie piątą, pod względem skali wielkości produkcji światowej grupę polimerów, przy czym są to materiały o bardzo wszechstronnych kierunkach zastosowania. Doskonałe właści-

wości użytkowe PUR, a w szczególności unikatowa kombinacja dużego modułu sprężystości, dobrej elastyczności w połączeniu z niekiedy dużą twardością, wyjątkowej odporności na rozdieranie i ścieranie, odporności na

oleje, smary węglowodorowe oraz promieniowanie nadfioletowe, a ponadto możliwość nadawania otrzymanym wyrobom założonych właściwości i wreszcie stosunkowo łatwe oraz wydajne przetwórstwo sprawiają, że zastosowanie PUR jest korzystne ekonomicznie i zakres ich użytkowania stale się rozszerza. Bardzo istotne staje się zatem zagadnienie ich recyklingu. Najbardziej rozpowszechnione metody degradacji poliuretanów to hydroliza enzymatyczna, utlenianie i degradacja naprężeniowa [1]. Zwłaszcza duże zainteresowanie badaczy wzbudza w ostatnich latach degradacja enzymatyczna PUR.

HYDROLIZA ENZYMATYCZNA POLIMERÓW – CHARAKTERYSTYKA OGÓLNA

Hydroliza enzymatyczna polimerów jest procesem heterogenicznym, gdyż enzymy to katalizatory biologiczne, aktywne przede wszystkim w układach wodnych, w których polimery się nie rozpuszczają. Na złożony przebieg hydrolizy wpływ wywierają oddziaływania pomiędzy enzymem a łańcuchem polimerowym, a składa się ona z następujących etapów [2]:

- a) dyfuzji enzymu z roztworu do powierzchni stałego substratu (polimeru),
- b) adsorpcji enzymu na substracie z utworzeniem kompleksu enzym/substrat,
- c) katalizy reakcji hydrolizy,
- d) dyfuzji rozpuszczalnych produktów degradacji hydrolitycznej ze stałego podłoża substratu do roztworu.

Na przebieg adsorpcji i szybkość hydrolizy (kontrolowanej przez jej najpowszechniejszy etap) wpływają fizykochemiczne właściwości substratów (ciężar cząsteczkowy, budowa chemiczna, krystaliczność, wielkość powierzchni kontaktu), a także określone cechy stosowanego enzymu (aktywność, trwałość, lokalne stężenie, struktura aminokwasu i konformacja 3D). Należy uwzględnić także warunki, w jakich zachodzi proces, np. wartość pH i temperaturę, ponieważ wpływają one na właściwości zarówno polimeru, jak i enzymu. W wyniku degradacji materiału polimerowego do środowiska reakcji mogą przenikać małowcząsteczkowe związki pomocnicze stosowane w procesie przetwórczym — takie jak stabilizatory, aktywatory bądź inhibitory — co nie pozostaje obojętne na adsorpcję enzymu i jego aktywność, a tym samym na kinetykę reakcji enzymatycznej [2].

Modyfikacja chemiczna polimerów (sieciowanie, usunięcie lub wprowadzenie nowej grupy do ich łańcucha) także wywiera wpływ na szybkość degradacji enzymatycznej. Stopień modyfikacji decyduje o tym, czy enzym będzie zdolny do rozpoznania zmodyfikowanego substratu. Zwiększenie szybkości degradacji materiałów polimerowych można uzyskać także w wyniku modyfikacji fizycznej, np. mieszania ze składnikami podatnymi na biodegradację albo na drodze zmiany właściwości fizykochemicznych. Ograniczenie stopnia rozkładu osiąga się dzięki modyfikacji powierzchni powodującej zwiększenie

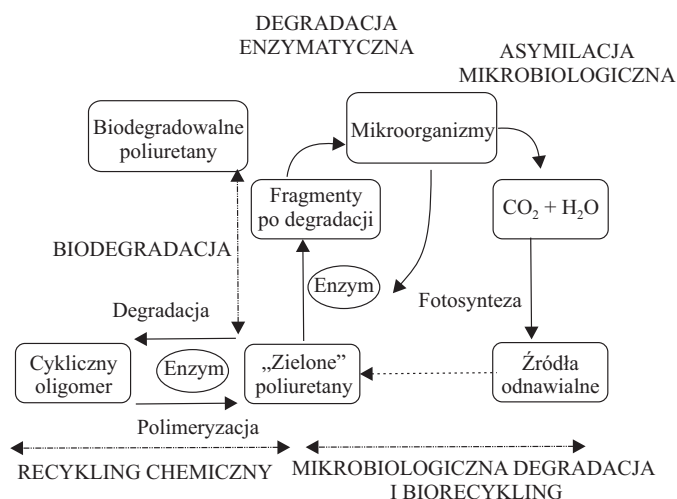
jej hydrofobowości lub przez odpowiedni dobór składu chemicznego polimeru, powodujący podwyższenie stopnia krystaliczności lub zwiększenie ciężaru cząsteczkowego [2].

Również wieloetapowy proces biodegradacji polimerów, czyli starzenie pod wpływem makro- i mikroorganizmów, przebiega z udziałem enzymów — w tym przypadku zewnątrzkomórkowych. Najpierw muszą bowiem zostać wydzielone do środowiska takie właśnie enzymy, które po zaadsorbowaniu na powierzchni tworzywa będą powodować depolimeryzację makrocząsteczek. Dopiero gdy ciężar cząsteczkowy materiału zostanie odpowiednio zredukowany i wydzielą się rozpuszczalne w wodzie pośrednie produkty degradacji, to mogą one być pochłaniane bezpośrednio do wnętrza komórek mikroorganizmów, w których zachodzi większość procesów biochemicznych i tam zostać wykorzystane w procesie metabolicznym. Końcowe produkty procesu biodegradacji całkowitej stanowią H_2O , CO_2 , CH_4 oraz nowe komórki biomasy [3].

PRODUKTY ENZYMATYCZNEGO ROZKŁADU POLIURETANÓW

Od roku 1968, czyli od czasu publikacji Darby'ego i Kaplana [4] — którzy jako pierwsi badali biodegradację PUR i stwierdzili, że degradacja mikrobiologiczna poliuretanów (PEU) jest spowodowana głównie hydrolizą wiązania estrowego przez esterazy i lipazy — ukazał się już szereg artykułów innych autorów dotyczących tej tematyki. Można wyodrębnić wśród nich dwa konkurencyjne nurty: traktowanie procesu degradacji enzymatycznej jako zagrożenia dla trwałości poliuretanów stosowanych w charakterze biomateriałów bądź też alternatywne wskazywanie degradacji enzymatycznej PUR jako ewentualnego sposobu utylizacji odpadów poprodukcyjnych i poużytkowych. Dodatkowo pojawiła się koncepcja zastosowania enzymów w produkcji i chemicznym recyklingu poliuretanów, zgodnie z którą proponuje się syntezę PUR charakteryzujących się odpowiednią budową chemiczną gwarantującą ich podatność na degradację enzymatyczną. Poddanie takich poliuretanów działaniu enzymów może prowadzić do ich degradacji enzymatycznej, w wyniku, której powstaną produkty, podatne na asymilację przez mikroorganizmy a wtórne przetwarzanie biologiczne tych produktów przez mikroorganizmy pozwoli na ich całkowity rozkład z wytworzeniem CO_2 i H_2O . Na kolejnym etapie CO_2 i H_2O , na drodze fotosyntezy, można przetworzyć na surowce do syntezy „zielonych” PUR, a te, ponownie poddane działaniu enzymu, ulegną kontrolowanej biodegradacji do cyklicznych oligomerów zdolnych do powtórnej polimeryzacji (schemat A).

Obecnie, w wyniku tradycyjnego chemicznego recyklingu PUR (na drodze hydrolizy, glikolizy i aminolizy) odzyskuje się poliiole i aminy, jednakże procesom tym towarzyszy zwiększona emisja CO_2 a do ponownego



Schemat A. Możliwości produkcji i recyklingu chemicznego poliuretanów zgodnych z zasadami „zielonej chemii” oraz mikrobiologicznej degradacji i biorecyklingu [7]

Scheme A. Concepts of sustainable production and chemical recycling of polyurethanes according to the principles of “green chemistry”, microbial degradation and biorecycling

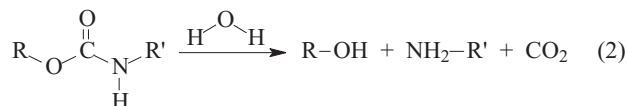
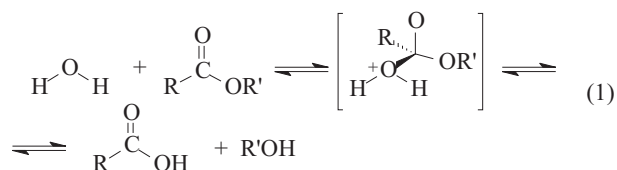
otrzymania poliuretanów konieczne jest powtórne zastosowanie izocyjanianów. Natomiast wielokrotny chemiczny recykling materiałów polimerowych z zastosowaniem biokatalizatorów i bez emisji związków małowartościowych może stać się idealną metodą urzeczywistniającą zasady „zielonej chemii” w dziedzinie polimerów.

Większość doniesień literaturowych wskazuje, że dominującą drogą degradacji enzymatycznej PUR jest hydroliza, przy czym rozkład poliesterouretanów stanowi skutek przede wszystkim hydrolitycznej degradacji, podczas gdy degradacja polieterouretanów zachodzi na zasadzie utleniania i następczej hydrolizy [6].

Głównym czynnikiem decydującym o szybkości degradacji enzymatycznej poliuretanów jest ich mikrostruktura, tzn. stopień separacji fazowej, stopień krystaliczności, budowa chemiczna segmentów elastycznych i sztywnych, ich wzajemny stosunek w makrocząsteczce oraz wielkość oddziaływań w obrębie tych segmentów prowadzących do ograniczenia ruchliwości łańcucha polimerowego [7].

Jeżeli w segmencie elastycznym znajdują się grupy podatne na hydrolizę, np. estrowe, to będą one ulegać rozpadowi w pierwszej kolejności, przy czym istnieje tylko niewielkie prawdopodobieństwo, że również wiązanie uretanowe w takich warunkach okaże się podatne na hydrolizę (rozkład wiązań uretanowych jest o rząd wielkości wolniejszy niż rozpad wiązań estrowych). Natomiast w przypadku, gdy segment elastyczny nie zawiera grup podatnych na hydrolizę może dochodzić do rozrywania wiązań uretanowych, a jako produkty degradacji tworzą się wówczas pochodne diaminowe. Jest to równoznaczne z tym, że hydroliza segmentów elastycznych przebiega szybciej niż segmentów sztywnych i wówczas szybkość degradacji

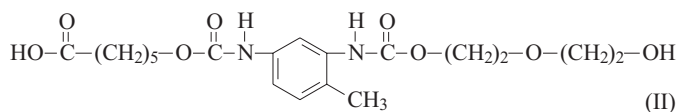
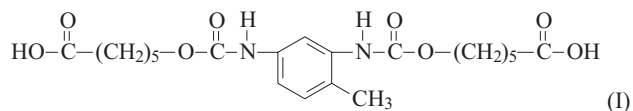
będzie zależeć przede wszystkim od struktury tych pierwszych. Równania (1) i (2) opisują hydrolityczny rozpad wiązań estrowych i uretanowych [8]:



Analiza produktów rozkładu oraz określenie ich ilości dostarczają informacji o mechanizmie działania enzymu na polimer i wskazują, które wiązania są bardziej podatne na hydrolizę. Skład środowiska degradacyjnego zależy głównie od badanego materiału, stopnia jego degradacji i czynnika powodującego jego biorozkład. Może on zawierać produkty degradacji, enzymy, białka, zanieczyszczenia enzymów oraz sole. Roztwór po degradacji można poddać analizie chemicznej i fizycznej metodami, takimi jak np. wysokociśnieniowa chromatografia cieczowa (HPLC), magnetyczny rezonans jądrowy (NMR), lub spektroskopia masowa (MS), co umożliwi jakościową i ilościową ocenę produktów degradacji. Przed dokonaniem tych analiz konieczne jest jednak usunięcie soli, dodatków stosowanych w przetwórstwie, monomerów, oligomerów, resztek rozpuszczalnika pochodzących z roztworu degradacyjnego oraz białek i enzymów, gdyż obecność tych substancji może przeszkodzić w identyfikacji a także określeniu ilości produktów degradacji [2].

W syntezie PUR wykorzystuje się jako wyjściowe surowce toksyczne diizocyjaniany: toluilenu (TDI), 4,4'-metylenodifenyłu (MDI), izoforonu (IPDI) lub heksametylenu (HDI), które mogą wydzielać substancje szkodliwe; może to okazać się czynnikiem limitującym zastosowanie poliuretanów jako np. długoczasowych implantów. W przypadku biomateriałów zwłaszcza istotne jest uzyskanie informacji, czy podczas degradacji nie wydzielają się produkty kancerogenne, np. pochodne diaminowe (toluenediamina, 4,4'-metylenodianilina) albo diizocyjanianowe [6].

Podjęto próbę określenia składu produktów rozkładu PUR otrzymanych z TDI, poliesterodiolu i etylenodiaminy po działaniu na próbkę polimeru esterazą cholesterolową [6]. Wyizolowano ponad 20 produktów związanych z degradacją enzymatyczną PUR, wydzielonych w ilości co najmniej 2,8 µg z 1 cm² powierzchni polimeru. Dwa główne produkty o wzorach (I) i (II) zawierają jeden fragment TDI związany wiązaniami kowalencyjnymi z końcowymi segmentami poliesteru. Zaobserwowano, że rozrywanie łańcuchów makrocząstek wiąże się przede wszystkim z rozpadem wiązań estrowych niż z hydrolizą



zą wiązań uretanowych. Nie stwierdzono obecności toluenodiaminy [9].

Poliwęglanouretany (PCU) poddane działaniu czynników degradujących charakteryzują się podobnymi jak poliestrouretany, zmianami ciężaru cząsteczkowego, właściwości termicznych i struktury molekularnej, przy czym odporność wiązania węglanowego na utlenianie zdecydowanie ogranicza skłonność PCU do biodegradacji w porównaniu z PEU. Szczegółowo opisano 13 produktów biodegradacyjnego rozkładu PCU otrzymanych z HDI, 10 — z MDI a 7 z 4,4'-diizocyjanianu dicykloheksylometanu (HMDI). Większość wyizolowanych produktów utworzonych podczas rozkładu PCU na podstawie HDI zawiera fragment odpowiadający cząsteczce HDI [wzory (III)]. Podobny charakter zjawiska obserwuje się w przypadku MDI [wzory (IV)] i HMDI [wzory (V)], przy czym identyfikacja dotyczy jedynie produk-

tów rozpuszczalnych w buforze. Trzeba przy tym uwzględnić fakt, że równocześnie tworzą się zapewne również produkty rozkładu o większym ciężarze cząsteczkowym, które nie są rozpuszczalne w środowisku wodnym.

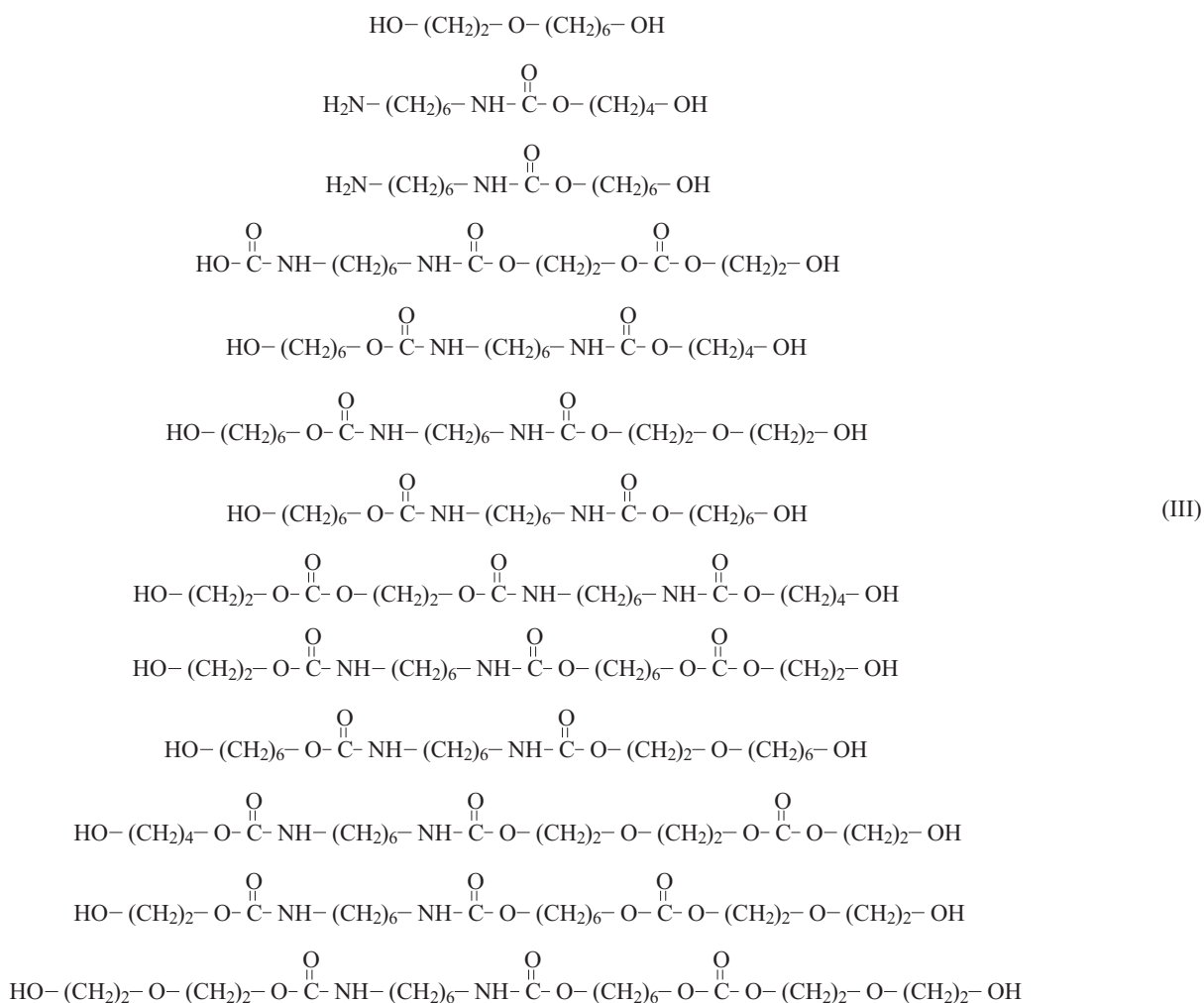
Węzłami rozpadu mogą być wiązania uretanowe, wiązania węglanowe zawarte w segmentach elastycznych i wiązania węglanowe przylegające do wiązań uretanowych (reprezentujące obszar graniczny pomiędzy segmentem sztywnym i elastycznym). Oszacowane procentowe udziały wiązań ulegających hydrolizie podczas biodegradacji zestawiono w tabeli 1 [6].

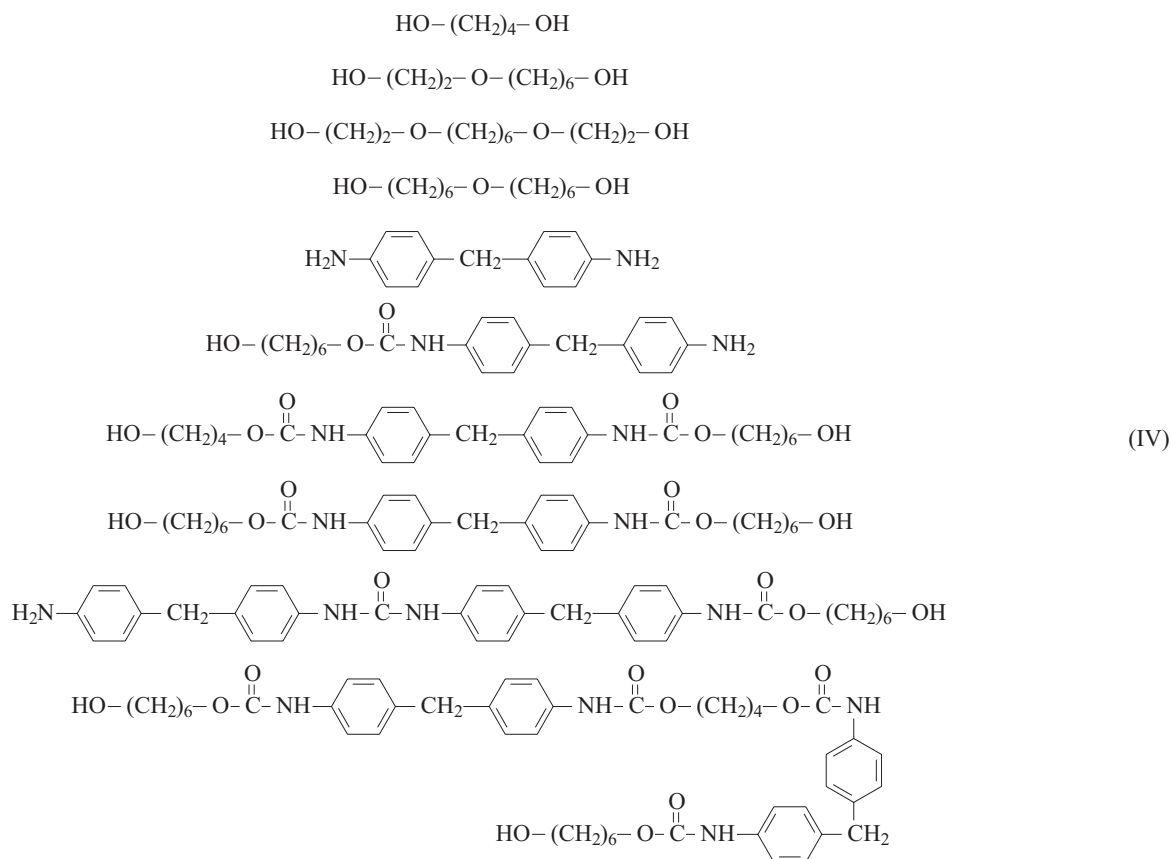
T a b e l a 1. Oszacowane procentowe udziały wiązań ulegających hydrolizie podczas biodegradacji PCU

T a b l e 1. Estimated percentage distributions of hydrolyzed bonds during the biodegradation of PCU

PCU	Grupa węglanowa w segmencie elastycznym	Grupa węglanowa w obszarze granicznym	Grupa uretanowa
¹⁴ C-BD/HDI	44,4	38,9	16,7
¹⁴ C-BD/MDI	30,0	30,0	40,0
¹⁴ C-BD/HMDI ^{*)}	14,2	21,5	64,3

^{*)} BD = butano-1,4-diol.



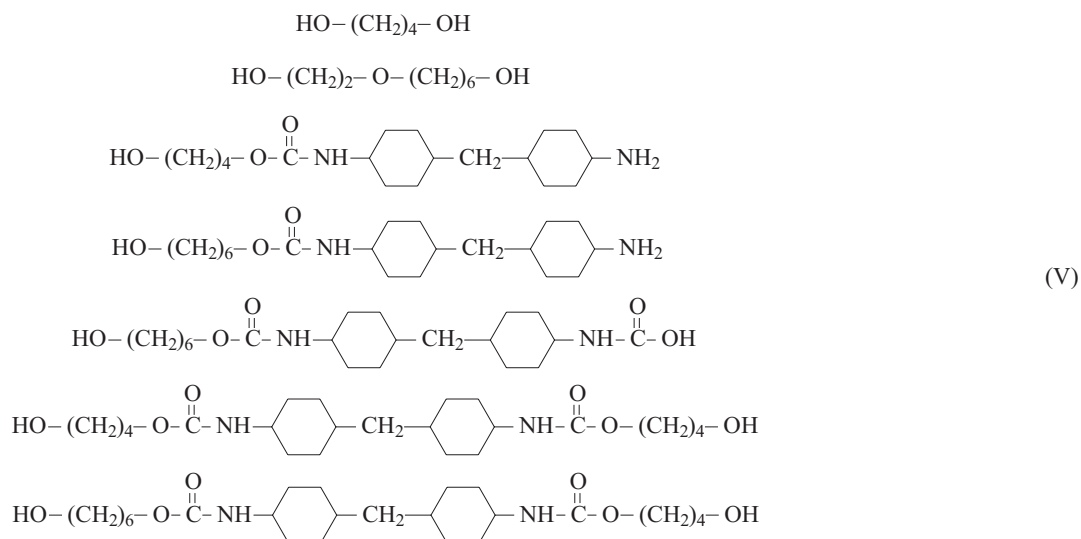


Stwierdzono, że węzły rozkładu w przypadku HDI to przede wszystkim wiązania węglanowe (ze względu na słabe oddziaływania pomiędzy wiązaniami uretanowymi i węglanowymi enzym może atakować obydwie te rodzaje grup w obszarze granicznym oraz w fazie elastycznej). Brak wiązań wodorowych pomiędzy grupami węglanowymi oraz uretanowymi prowadzi do stanu, w którym te pierwsze nie są chronione i w ten sposób stają się wysoce wrażliwe na atak hydrolityczny; dlatego w tym przypadku nie tworzy się pochodna diaminowa.

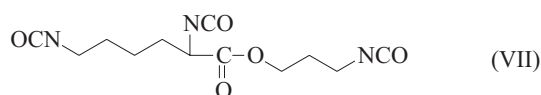
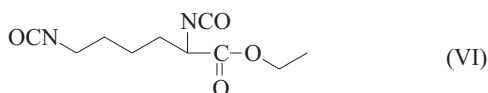
W poliwęglanourethanach otrzymanych z HMDI w największym stopniu hydrolizie ulegają grupy ureta-

nowe ze względu na brak wiązań wodorowych między nimi. Bez znaczenia jest tu fakt czy grupa uretanowa znajduje się w segmencie sztywnym, czy też jest ulokowana w fazie granicznej pomiędzy segmentem sztywnym a elastycznym.

W przypadku PCU na podstawie MDI uzyskuje się materiał, w którym występuje zjawisko znacznego tworzenia wiązań wodorowych pomiędzy grupą węglanową a grupą uretanową, co powoduje zwiększenie stabilności tych polimerów w porównaniu z analogami otrzymanymi z HDI i HMDI. Degradacja takich materiałów przebiega z mniejszą szybkością, gdyż rozpad mostka



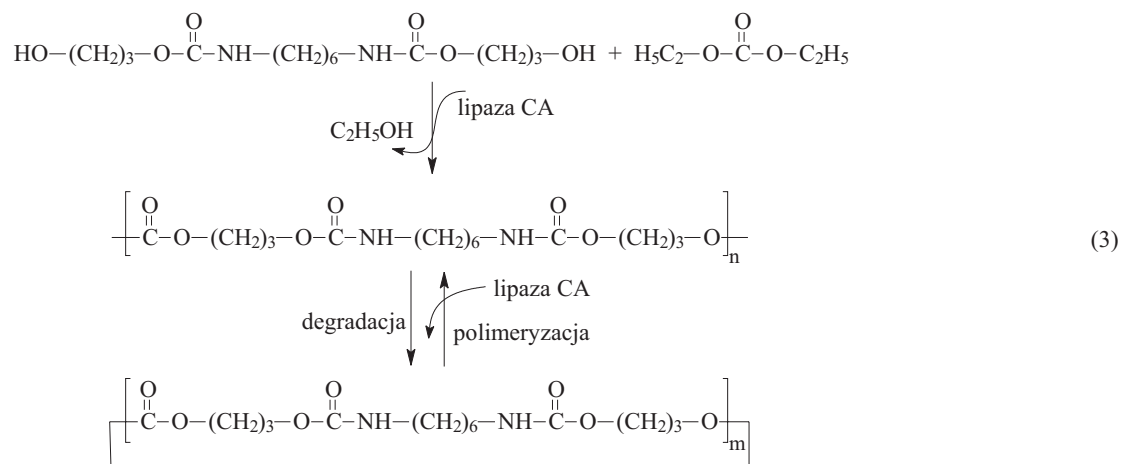
wodorowego pomiędzy fragmentem węglanowym i uretanowym jest znacznie wolniejszy niż samych fragmentów węglanowych. Poliwęglanoure­tany otrzymane z MDI są więc najbardziej odporne na hydrolizę i tylko w ich przypadku obserwuje się tworzenie jako produktu



rozkładu diaminowego analogu, który stanowi tu 4,4'-metylenodianilina.

RECYKLING CHEMICZNY POLIURETANÓW Z WYKORZYSTANIEM ICH DEGRADACJI ENZYMATYCZNEJ

W wyniku reakcji polikondensacji lub polimeryzacji z otwarciem pierścienia cyklicznych oligomerów, np. alifatycznych poliwęglanów, otrzymano poliuretany zdolne do degradacji do cyklicznych oligomerów przebiegającej bez wydzielania ditlenku węgla. Oligomery te mogą ulegać powtórnej polimeryzacji w obecności enzymu w bardziej stężonych roztworach. Taki sposób realizacji procesu jest więc odmienny od typowej degradacji enzymatycznej, w wyniku której następuje ostatecznie wydzielenie CO₂. Schemat otrzymywania i recyklingu chemicznego poliwęglanoure­tanów z wykorzystaniem enzymu przedstawiono poniżej układem równań (3) [12]:



Odkrycie diizocyjanianu L-lizyny (LDI) o wzorze (VI) i triizocyjanianu L-lizyny (LTI) o wzorze (VII) pozwala na syntezę PUR, które w wyniku rozkładu biologicznego nie będą wydzielać do środowiska toksycznych produktów rozkładu. Nieporowate, biodegradowalne usieciowane PUR otrzymano z ε-kaprolaktonu, poliizocyjanianów będących pochodnymi L-lizyny (diizocyjanianu estru etylowego L-lizyny, triizocyjanianu lizyny) i poliestrotetrioli w wyniku zastosowania dwustopniowej metody *quasi*-prepolimerowej. Stanowią je kopolimery (ε-kaprolakton-co-glikolid-co-DL-laktyd). Tak otrzymane biomateriały charakteryzowały się wytrzymałością porównywalną z wytrzymałością handlowych elementów kostnych z poli(metakrylanu metylu) (moduł Younga 1,2–1,4 GPa, wytrzymałość na ścislenie 82–111 MPa) i ulegały biodegradacji w sposób kontrolowany, nie wydzielając toksycznych produktów rozkładu [10]. Jeżeli w trakcie degradacji biodegradowalnych elastomerów poliuretanowych otrzymanych z LDI wydzielą się diizocyjanian, to ulega on reakcji z wodą i tworzy się ester etylowy lizyny, który jest obojętny dla środowiska [11].

PCU zostają więc rozszczepione przez lipazę (w rozcieńczonym roztworze bezwodnym) i w wyniku tej reakcji tworzą się oligomery o strukturze cyklicznej, o średnim ciężarze cząsteczkowym M_w wynoszącym ok. 400. Dodatkowo powstają dimery i cykliczne trimery. Cykliczne oligomery węglanoure­tanowe ulegają szybkiej polimeryzacji w obecności lipazy *Candida antarctica* (CA), w temp. 110 °C. W wyniku tej reakcji otrzymuje się poliwęglanoure­tany o M_w wynoszącej ok. $42 \cdot 10^3$ (wydajność procesu ok. 93 %). Ta wartość M_w jest zdecydowanie większa niż ciężar cząsteczkowy PCU otrzymanych w wyniku polikondensacji dwóch monomerów (diuretanodiolu i węglanu dietylowego).

Poliuretan, podobnie jak alifatyczne poliwęglanoure­tany, są podatne na recykling, a ponadto mogą ulegać rozszczepieniu przez lipazę w bezwodnych roztworach rozcieńczonych, np. w środowisku anizolu w temp. 110 °C [13].

W takich warunkach otrzymywano oligomery tworzące struktury cykliczne zdolne do wewnątrzcząsteczkowej transestryfikacji. PEU odpowiednio do chemicznego recyklingu otrzymano w wyniku polimeryzacji

z otwarciem pierścienia cyklicznego oligomeru estrouretanowego syntetyzowanego na drodze transestryfikacji biodegradowalnego diuretanodiolu (DUD) i diestru kwasu dikarboksyłowego w obecności lipazy, oraz — alternatywnie — metodą bezpośredniej polikondensacji DUD z diestrem kwasu dikarboksyłowego. W wyniku polimeryzacji z otwarciem pierścienia cyklicznego oligomeru estrouretanowego otrzymano PEU o znacznie większym ciężarze cząsteczkowym niż polimery uzyskiwane w rezultacie polikondensacji diestru kwasu dikarboksyłowego z DUD. Enzymatyczna reaktywność DUD zależała od jego struktury makrocząsteczkowej. W wyniku polimeryzacji z otwarciem pierścienia cyklicznego oligomeru estrouretanowego można otrzymać polimery o znacznie większym ciężarze cząsteczkowym ($M_w = 101 \cdot 10^3$), niż jest to możliwe do osiągnięcia w wyniku typowej polikondensacji diestrów kwasów dikarboksyłowych i adypinianu dietylowego ($M_w = 18 \cdot 10^3$). Rosnąca temperatura polimeryzacji (w przedziale 80–110 °C) powoduje wzrost zarówno ciężaru cząsteczkowego, jak i wydajności produktu [13].

Obydwa te parametry zależą także od rodzaju użytego diestru i zwiększają się wraz z rosnącą w nim liczbą grup metylenowych w następującym szeregu: malonian > bursztynian > glutarynian > adypinian [5].

MODELOWANIE PROCESU DEGRADACJI ENZYMATYCZNEJ POLIURETANÓW

Matematyczny opis procesów degradacji enzymatycznej jest niezwykle złożony gdyż obejmuje nakładające się w nim elementy chemii polimerów, enzymologii, adsorpcji i procesów hydrolizy [14]. Wynika to przede wszystkim z jednoczesnej obecności w środowisku degradacji zarówno polimerów o skomplikowanej strukturze, jak i wielu produktów pośrednich i końcowych ich rozkładu. Dodatkowo, mechanizm reakcji degradacji enzymatycznej może zależeć od pochodzenia użytego preparatu enzymatycznego, struktury i źródła substratu a także od sposobu jego przechowywania. Ponadto mechanizm ten może się zmieniać podczas przebiegu reakcji.

W spotykanych w literaturze modelach kinetycznych przyjmuje się na ogół uproszczony zapis procesu degradacji, zakładając jego jednoetapowość lub traktując go jako przebieganie szeregu reakcji następczych. Do opisu kinetyki procesu degradacji enzymatycznej stałego PUR zastosowano model matematyczny Michaelis-Menten, który jest podstawą do przewidywania szybkości i kierunku reakcji oraz katalitycznej sprawności enzymu [15].

Szybkość reakcji degradacji enzymatycznej (v) wyraża się wtedy zależnością:

$$v = k_2[ES] = \frac{k_2 \cdot [S]_0 \cdot [E]}{\frac{k_{DES}}{k_{ADS}} + [E]} \quad (4)$$

gdzie: k_2 — stała dysocjacji kompleksu przejściowego enzym/substrat ($dm^3 \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$), k_{DES} — stała szybkości adsorpcji

enzymu na powierzchni PUR ($dm^3 \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$), k_{ADS} — stała szybkości desorpcji enzymu z powierzchni PUR ($dm^3 \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$), $[E]$ — stężenie enzymu (mol/dm^3), $[S]_0$ — początkowe stężenie PUR (mol/dm^3), $[ES]$ — stężenie kompleksu enzym/substrat (mol/dm^3).

Jednak, aby zrozumieć istotny wkład poszczególnych procesów, konieczne jest skonstruowanie takiego modelu, który umożliwi ocenę ich roli w przebiegu całego procesu degradacji. Model, który został zaproponowany przez autorów [14] pozwala na przewidywanie zmiany stężenia enzymu zarówno zaabsorbowanego jak i wolnego, ilość aktywnego oraz nieaktywnego enzymu, zmiany w mikrostrukturze polimeru na powierzchni materiału oraz ilości produktów, które mogą ulegać hydrolizie po przejściu do roztworu. Warunki krytyczne, jakie należy przede wszystkim uwzględnić modelując proces degradacji enzymatycznej to dynamiczne właściwości powierzchni poliuretanu (segregacja, adsorpcja fizyczna i chemiczna, desorpcja cząsteczek) oraz jej budowa chemiczna.

Model zaproponowany w [14] przez Duguaya i współpr. stanowi zestaw 31 równań opisujących kolejno etapy enzymatycznej degradacji poliuretanów — począwszy od rozpadu wiązania estrowego z utworzeniem pierwszego produktu degradacji S_2 poprzez rozpad wiązania mocznikowego z utworzeniem produktu degradacji S_3 i hydrolizą wiązania uretanowego prowadzącą do produktu degradacji S_4 . Pierwotny produkt degradacji S_4 ulega następnie dalszemu procesowi rozkładu z utworzeniem produktów pośrednich S_5 – S_{13} z równoczesną migracją wydzielonych substancji do roztworu (produkty P_1 – P_9). Każdemu z produktów końcowych P_1 – P_9 przypisano odpowiednią budowę chemiczną.

Równania opisujące pierwsze etapy degradacji (do powstania S_4) zestawiono poniżej wg [14]:

$$\begin{aligned} \delta_i &= k_{ri}E_S + k_{hi}^* \\ \frac{dS_0}{dt} &= -k_f S_1 (S_{s,maks.} - S_1) + k'_f S_1 \\ \frac{dS_1}{dt} &= k_f S_1 (S_{s,maks.} - S_1) - k'_f S_1 - 2S_1(\delta_1 + \delta_2 + \delta_3) \\ \frac{dS_2}{dt} &= 2\delta_1 S_1 - S_2(\delta_1 + 2\delta_2 + 2\delta_3) \\ \frac{dS_3}{dt} &= 2\delta_3 S_1 - S_3(2\delta_1 + 2\delta_2 + \delta_3) \\ \frac{dS_4}{dt} &= 2\delta_2 S_1 - S_4(2\delta_1 + \delta_2 + 2\delta_3) \end{aligned} \quad (5)$$

^{*)} Według Autorki i redakcji, w tym ogólnym równaniu opisującym δ_i w drugim członie po prawej stronie dotyczącym szybkości nieenzymatycznego rozkładu PUR (hydrolizy) (k_{hi}) należy uwzględnić stężenie wody. Ponieważ w reakcjach hydrolizy woda występuje w nadmiarze w stosunku do drugiego reagenta, jej stężenie można uznać za stałe i włączyć do stałej szybkości hydrolizy, ale wówczas wartość k_{hi} powinna być wyrażona w $mmol \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$, a nie w h^{-1} jak w tekście [14] (por. znaczenia symboli).

gdzie: δ_i — szybkość reakcji enzymatycznego rozkładu, $k_{r,i}$ — stała szybkości hydrolizy enzymatycznej wiązań chemicznych występujących w poliuretanach, przy czym $i = 1, 2, 3$ to wartości, odpowiednio, dla wiązania estrowego, mocznikowego i uretanowego (h^{-1}), E_s — stężenie enzymu zaadsorbowanego na powierzchni ($nmol \cdot cm^{-2}$), k_{hi} — szybkość hydrolizy nieenzymatycznej wiązań chemicznych poliuretanu: $i = 1, 2, 3$, odpowiednio, dla wiązania estrowego, mocznikowego i uretanowego (h^{-1}), k_f — stała szybkości migracji sztywnych segmentów PUR do powierzchni ($cm^3 \cdot nmol^{-1} \cdot h^{-1}$), k'_f — stała szybkości powrotu sztywnych segmentów z powierzchni do wnętrza próbki (h^{-1}), S_0 — całkowita ilość segmentów sztywnych na powierzchni $1 cm^2$ próbki ($nmol$), S_1 — stężenie niezdegradowanych segmentów sztywnych na powierzchni próbki ($nmol \cdot cm^{-2}$), $S_{S,max}$ — maksymalne stężenie segmentów sztywnych na powierzchni ($nmol \cdot cm^{-2}$), S_i — stężenie składnika na powierzchni ($i = 1 \dots 11$, $nmol \cdot cm^{-2}$).

Wyniki opisanego powyżej modelowania matematycznego doprowadziły do wniosku, że w przypadku zastosowania stabilnych enzymów degradacja zachodzi w znacznie większym stopniu i wydzielona jest większa ilość produktów końcowych niż z wykorzystaniem niestabilnych enzymów. Nie obserwuje się przy tym tworzenia produktów pośrednich, które mogą ulegać wtórnej degradacji, na co wskazuje gwałtowny przebieg degradacji zarówno w roztworze, jak i na powierzchni. Stwierdzono również, że zmiany wyjściowego stężenia enzymu powodują występowanie różnic w szybkości i stopniu degradacji. W przypadku małych stężeń dochodzi do tworzenia się różnego rodzaju produktów pośrednich na powierzchni oraz do równoczesnego przechodzenia rozmaitych produktów do roztworu. W roztworze proces tworzenia produktów końcowych jest tym bardziej intensywny i gwałtowny, im stężenie enzymu jest większe. Równocześnie zmniejsza się ilość uwalnianych produktów degradacji [14].

PODSUMOWANIE

Ze względu na obecność enzymów w otoczeniu człowieka i jego organizmie ważne jest poznanie przebiegu enzymatycznej degradacji PUR, zwłaszcza w przypadku jego zastosowań biomedycznych. Rozszerzenie wyko-

rzystywania PUR na inne dziedziny zastosowania poliuretanów w charakterze elastomerów, pianek bądź powłok również wymaga podjęcia odpowiednich badań po to, aby polimery te ulegały w określonych warunkach biorozkładowi, bez wydzielania szkodliwych substancji do środowiska. Stworzenie i właściwa interpretacja modelu opisującego degradację enzymatyczną poliuretanów *in-vitro* stanowią niezbędny warunek ewentualnego przewidywania zachowania się tych polimerów *in-vivo*.

LITERATURA

1. Tang Y. W., Labow R. S., Santerre J. P.: *J. Biomed. Mater. Res.* 2001, **57**, 597.
2. Azevedo H. S., Reis R. L.: „Biodegradable Systems in Tissue Engineering and Regenerative Medicine”, CRC Press, 2004, str. 177.
3. Mueller R. J.: *Process Biochem.* 2006, **41**, 2124.
4. Darby R. T., Kaplan A. M.: *Appl. Microbiol.* 1968, **16**, 900.
5. Matsumura S., Soeda Y., Toshima K.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2006, **70**, 12.
6. Tang Y. W., Labow R. S., Santerre J. P.: *Biomaterials* 2003, **24**, 2805.
7. Nakajima-Kambe T., Shigeno-Akutsu Y., Nomura N., Nakahara T.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1999, **51**, 134.
8. Tatai L., Moore T. G., Adhikari R., Malherbe F., Jayasekara R., Griffiths I., Gunatillake P. A.: *Biomaterials* 2007, **28**, 5407.
9. Wang G. B., Labow R. S., Santerre J. P.: *J. Biomed. Mater. Res.* 1997, **36**, 1997.
10. Guelcher S. A., Srinivasan A., Dumas J. E., Didier J. E., McBride E., Hollinger J. O.: *Biomaterials* 2008, **29**, 1762.
11. Yamamoto N., Nakaama A., Oshima M., Kawasaki N., Aiba S.-I.: *Reactive Functional Polym.* 2007, **67**, 1338.
12. Soeda Y., Toshima K., Matsumura S.: *Macromol. Biosci.* 2004, **4**, 721.
13. Soeda Y., Toshima K., Matsumura S.: *Macromol. Biosci.* 2005, **5**, 277.
14. Duguay D. G., Labow R. S., Santerre J. P., McLean D. D.: *Polym. Degrad. Stab.* 1995, **47**, 229.
15. Gautam R., Bassi A. S., Yanful E. K.: *Biotechnol. Lett.* 2007, **29**, 1081.

Otrzymano 4 I 2010 r.