

УДК 541(64+183).546.212

ВЛИЯНИЕ СПОСОБА ПРИГОТОВЛЕНИЯ МЕМБРАН БАКТЕРИАЛЬНОГО ПОЛИ-3-ОКСИБУТИРАТА НА СОРБЦИЮ ВОДЫ¹

© 1999 г. А. Л. Иорданский, П. П. Камаев

Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова Российской академии наук
117977 Москва, ул. Косягина, 4

Поступила в редакцию 28.04.98 г.
Принята в печать 17.09.98 г.

Исследовано влияние способа формирования мембран из поли-3-оксибутират – нового биополимера класса полиоксиалканоатов на комплекс его сорбционно-диффузионных параметров. ИК-спектроскопией и вакуумной гравиметрией показано, что условия формирования полимерных пленок, отличающиеся использованием растворителей разной полярности и варьированием процедуры отлива, существенным образом изменяют закономерности механизма диффузионного переноса воды в полимере. Особенности сорбционно-диффузионных характеристик поли-3-оксибутират связанны со структурной организацией и ориентацией кристаллитов.

ВВЕДЕНИЕ

Поли-3-оксибутират (**ПОБ**) и его производные все более интенсивно внедряются в сельское хозяйство, биотехнологию и медицину благодаря удачной комбинации своих физико-химических свойств [1], регулируемой биодеградируемости [1, 2], экологической совместимости с окружающей средой [3, 4]. Несмотря на то, что количество работ, посвященных микробиологическому синтезу полимера, исследованием его физико-химических свойств увеличивается, особенности диффузионного транспорта воды и растворов в ПОБ остаются практически неизученными. Если учесть, что ПОБ уникален еще и тем, что совместим с биологическими средами, а в природных условиях разлагается до углекислоты и воды, направленное регулирование транспортных характеристик полимерной матрицы становится весьма актуальным при использовании материалов на основе ПОБ в качестве хирургических нитей, лекарственных систем пролонгированного действия [5] или же в качестве экологически безопасного упаковочного материала [6].

Комплекс сорбционно-диффузионных параметров полимерных мембран зависит от условий их формирования, особенностей структурной организации полимера. Цель настоящей работы – исследование влияния способа формирования мембран ПОБ на их транспортные характеристики.

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта 97-03-32156а).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследовали пленки ПОБ толщиной 40 ± 5 мкм, приготовленные с использованием разных растворителей. Исходный порошок полимера ("Biomer®") имел растворимость в кипящем хлороформе порядка 10^2 г/мл, поэтому, для выделения растворимой части полимера раствор фильтровали через стеклянный фильтр Шотта. Растворитель удаляли, затем отливали пленку из полученного растворимого в хлороформе полимера; использовали 3%-ные растворы в хлороформе. Раствор выливали в чашку Петри, плотно закрывали стеклом и оставляли при 20°C до испарения растворителя.

Образцы другого вида получали путем растворения исходного порошка полимера в диоксане, доводя раствор до кипения, готовили 5%-ный раствор полимера. После испарения диоксана полученный полимер растворяли при нагревании в хлороформе с образованием 3%-ного раствора. Раствор фильтровали через фильтр Шотта, выливали в чашку Петри, плотно закрывали стеклом и оставляли при температуре 20°C до испарения растворителя.

Рентгеноструктурная кристалличность пленок полимера составляет 70% [7, 8]. M_w , определенная методом вискозиметрии [9], оказалась равна $(110 \pm 26) \times 10^3$ и $(193 \pm 32) \times 10^3$ г/моль для образцов, приготовленных по первому и второму способу соответственно.

Сорбционные эксперименты проводили методом вакуумной гравиметрии, используя микровесы Мак-Бена с чувствительностью 0.67 мг/мм.

Детали техники сорбционного эксперимента описаны в работе [10].

ИК-спектры полученных пленок регистрировали на ИК-спектрометре с фурье-преобразованием "Bruker IFS-48" при разрешении 2 cm^{-1} .

Для удаления следов растворителей из пленок их помещали в терmostатированную кювету, вакуумировали и выдерживали 2–3 ч при 80°C .

За полнотой удаления растворителей следили по ИК-спектрам образцов. Наблюдали уменьшение интенсивности поглощения следующих полос: в области 873 – 876 , 2855 cm^{-1} для диоксана и 756 , 3012 – 3040 , 2976 – 2992 cm^{-1} – для хлороформа [11, 12].

Бактериальный ПОБ, получаемый в процессе ферментации, содержит остаточные белковые примеси. Количество протеиновых включений может достигать 1.8%, а содержание липидов – до 0.5% [13, 14] и зависит от способов и степени очистки полимера при извлечении из микробной биомассы. Кроме остаточных белковых групп N–H в полимере могут содержаться концевые группы OH, характерные для большинства сложных полиэфиров.

В ИК-области амидные группы поглощают в области 3282 и 3209 cm^{-1} [15–17], а гидроксильные группы – в области 3635 и 3550 cm^{-1} [15, 16]. Несмотря на незначительное их содержание в полимере, изменение поглощения этих групп при действии может послужить источником дополнительной информации о структуре полимера. Поэтому были проведены следующие эксперименты. Полимерные пленки, не содержащие остатков растворителей, выдерживали 2 ч в воде при температуре 80°C , фильтровальной бумагой удаляли воду с поверхности пленок, регистрировали ИК-спектр. Затем пленки термостатировали 2 ч при 80°C в вакууме, вновь снимали спектры пленок. Пленки выдерживали в тяжелой воде 2 ч при 80°C , удаляли остатки воды фильтровальной бумагой и снимали спектры. Пленки вновь вакуумировали и прогревали 2 ч при 80°C , после чего снимали спектр.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При 40°C сорбционные изотермы двух образцов ПОБ, отличающихся методом приготовления, приведены на рис. 1. Как видно, образец ПОБ, отлитый из хлороформа, сорбирует меньшее количество воды, чем образец, приготовленный двустадийным способом.

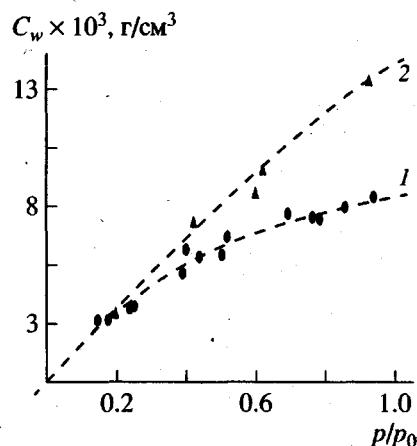


Рис. 1. Изотермы сорбции паров воды пленками ПОБ при 40°C в расчете на аморфную часть полимера. Пленки приготовлены по одностадийной (1) и по двустадийной методикам (2).

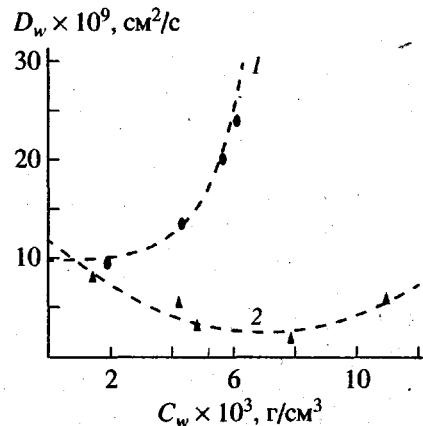


Рис. 2. Концентрационные зависимости коэффициентов диффузии воды при 40°C в пленках ПОБ, приготовленных по одностадийной (1) и по двустадийной методикам (2).

Для интерпретации сорбционных изотерм мембран ПОБ, отлитых из хлороформа, мы предложили модель, аналогичную модели двойной сорбции и рассчитали энергетические параметры сорбции–диффузии воды в образцах этого типа [18]. При сопоставлении диффузионных результатов видно, что изменение способа приготовления образцов существенно влияет на механизм переноса воды в полимере. На рис. 2 представлены концентрационные зависимости коэффициентов диффузии для рассматриваемых образцов ПОБ при 40°C . Из рисунка следует, что в образцах, отлитых из хлороформа, коэффициенты диффузии воды увеличиваются с повышением концентрации сорбированной воды в соответствии с моделью Фуджиты, применимость которой для образцов ПОБ данного типа была установлена

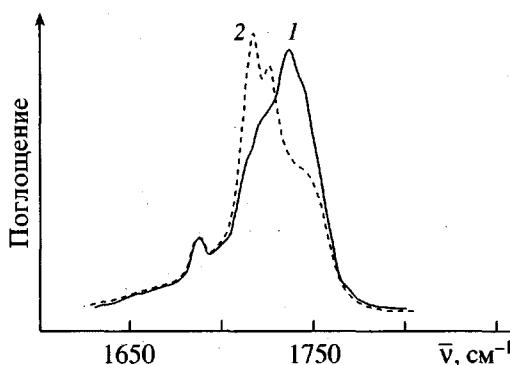


Рис. 3. ИК-спектры сухой (1) и влажной (2) пленки ПОБ в области поглощения карбонильных групп полимера.

нами ранее [18]. Для образцов, полученных двустадийной методикой, с увеличением концентрации сорбированной воды величина коэффициентов диффузии меняется незначительно, и концентрационная зависимость имеет экстремальный характер: коэффициент диффузии уменьшается на начальных этапах сорбции и начинает возрастать на заключительных.

При анализе сорбционно-диффузионных экспериментов мы использовали предположение [18] о существовании в полимерной матрице как минимум двух форм сорбированной воды — иммобилизованной (на полярных центрах сорбции) и свободной (обладающей трансляционной подвижностью), между которыми имеет место динамическое равновесие. Поскольку обнаружилось доминирование концентрации иммобилизованных молекул воды в полимере, сорбционная емкость матрицы может сильно зависеть от степени доступности полярных карбонильных групп макромолекул ПОБ для молекул воды.

Методом рентгеновской дифракции на больших и малых углах [7, 8] установлено, что в мембранных ПОБ, полученных только из хлороформа, кристаллиты преимущественно ориентированы с цилиндрической симметрией относительно оси, перпендикулярной плоскости мембран. Полимерные цепи в кристаллитах ориентируются перпендикулярно плоскости мембраны. Кроме ориентированности, кристаллиты в пленках, полученных из хлороформа, также значительно упорядочены в направлении нормали к плоскости пленки полимера, образуя области-стопки, в которых они сложены друг на друга своими широкими гранями. Так как основной концентрационный градиент при диффузии в пленку полимера направлен перпендикулярно ее плоскости, подобная укладка кристаллитов в таких пленках ПОБ существенно

уменьшает свободную для диффузии "поверхность" кристаллитов и доступность полярных центров, на которых иммобилизуются молекулы воды. Это влечет за собой падение сорбционной емкости.

Пленки ПОБ, при получении которых использовали диоксан, обладают значительно меньшей упорядоченностью кристаллитов относительно друг друга и не текстурированы. Сорбционные показатели для этих пленок выше, а большая эффективная длина диффузионного пути молекул воды в таких образцах снижает их коэффициенты диффузии. Экстремальная форма зависимости $D(C_w)$ обусловлена тем, что начальные порции сорбата активно связываются с большим, чем в образцах с анизотропной организацией, количеством доступных центров сорбции. По мере заполнения центров иммобилизации увеличение коэффициентов диффузии происходит в рамках модели Фуджиты.

Действие этой иммобилизации видно при сопоставлении ИК-спектров сухих и увлажненных тонких пленок ПОБ. В области частот 1600–1800 см⁻¹, в которой наблюдается поглощение карбонильных групп, полоса при 1745–1750 см⁻¹ соответствует поглощению нативных карбонильных групп, а 1720–1725 см⁻¹ — полоса поглощения карбонильных групп, участвующих в образовании водородной связи с молекулами воды [18–20]. На рис. 3, где представлены ИК-спектры сухой и влажной пленки ПОБ, видно, как меняется соотношение этих двух разновидностей карбонилов.

Пептидные группы белков, остающиеся в полимере после его выделения и очистки из бактериальной биомассы-продуцента [21], также могут служить дополнительными центрами сорбции и влиять на механизм переноса воды в полимере.

Дейтерообмен на амидных и концевых гидроксильных группах ПОБ приводит к уменьшению интенсивности поглощения в области 3700–3130 см⁻¹ (таблица). Измерение интенсивности поглощения в области 3700–3100 см⁻¹ свидетельствует о том, что в пленках, отлитых из хлороформа, содержится в ~2 раза меньше белковых включений, чем в пленках двустадийного приготовления. Это объяснимо при учете влияния полярности растворителей на растворимость в них белковых конгломератов. Кроме того, более полярный диоксан может разрушать нативные белковые агрегации, связывающие макромолекулы ПОБ в исходном порошке полимера, полученном из биомассы.

При обмене исходного амидного водорода, принадлежащего белковым молекулам, на дейте-

Изменение поглощения групп белковых включений в ПОБ для разных образцов после воздействия тяжелой воды и ее последующего удаления (толщина пленок одинакова)

Образец	Интегральное поглощение в интервале 3700–3500 см ⁻¹ и 3400–3130 см ⁻¹		Изменение, %
	исходная пленка	после обработки и откачки D ₂ O	
Отлит из хлороформа	4.8	4.1	15
Отлит с использованием диоксана и хлороформа	13.4	9.1	33

рий доступность полимерных образцов оказалась различной. В предположении равномерного распределения по полимерной матрице амидных групп доступными для тяжелой воды оказалось 33% объема двустадийно приготовленного образца ПОБ и только 15% данных групп для образца ПОБ, отлитого из хлороформа; это свидетельствует о его большой степени кристалличности и структурной организации. Последнее подтверждают РСА и характер сорбционно-диффузионных характеристик образца. Известно, что для белковых компонентов в области 1663–1650 см⁻¹

в ИК-области должна проявляться полоса поглощения Амид I, обусловленная преимущественно валентными колебаниями карбонильной связи [15–17]. Находя максимумы поглощения с помощью вторых производных спектра [22, 23] в этой области, мы разделили ее на гауссовы составляющие, подбирая их параметры таким образом, чтобы суммарная кривая как можно точнее (по методу наименьших квадратов) описывала экспериментальную. Пример результата одной из таких обработок представлен на рис. 4, где видна иско-мая полоса поглощения Амид I. Оказалось, что площадь под этой полосой в образцах двустадийно-го приготовления в 2.5 раза больше, чем в образцах, отлитых с использованием только хлороформа, что хорошо коррелирует с результатами наших расчетов в области поглощения 3700–3100 см⁻¹ (сравне-ние значений интегрального поглощения 4.8 и 13.4 для разных пленок в таблице).

Таким образом, из результатов сорбционных экспериментов и анализа в ИК-области проявления действия воды на матрицы ПОБ видно, что условия формирования полимерных мембран оказывает существенное влияние на комплекс транспортных характеристик полимера. Использование растворителей различной полярности, варирование процедуры отлива пленки позволяют направлению регулировать сорбционно-диф-фузионные параметры пленок ПОБ, что имеет большое значение при изготовлении новых полимерных лекарственных форм для контролируемого высвобождения, а также изготовление полимерных материалов с заранее заданными барь-ерными свойствами.

Авторы выражают признательность U. Häppoi ("Biomer®", Германия) за предоставленный полимер и интерес к работе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Seebach D., Brunner A., Bachmann B.M., Hoffman T., Kuhnle F.N.M., Lengweiler U.D. Biopolymers and Oligomers of (R)-3-hydroxyalkanoic Acids – Contributions of Synthetic Organic Chemist. Berlin: Ernst Schering Research Foundation, 1995.
2. Hocking P.J., Marchessault R.H. // Macromolecules. 1996. V. 29. № 7. P. 2472.
3. Horowitz D.M., Sanders J.K.M. // Polymer. 1994. V. 35. № 23. P. 5079.
4. Lafferty B.M., Braunegg G., Korneti L. // 3d Eur. Congr. Biotechnology. Munchen, 1984. V. 1. P. 521.
5. Lafferty R.M., Korsatko B., Korsatko W. // Biotechnology / Ed. by Rehm H.J. Weinheim: VCH, 1988. V. 6b. P. 135.
6. Steinbuchel A. // Nachr. Chem. Tech. Lab. 1991. № 39. P. 1112.

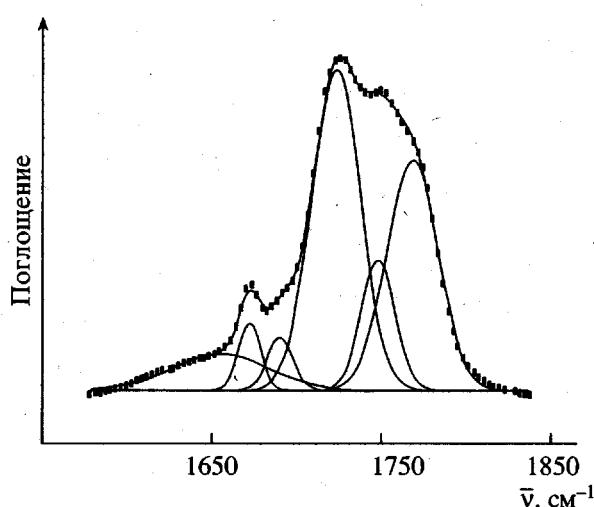


Рис. 4. Пример разделения полосы поглощения в ИК-области 1600–1800 см⁻¹ на составляющие. В пленке ПОБ, содержащей воду, максимум поглощения карбонильных групп, взаимодействующих с молекулами воды, находится при 1720–1725 см⁻¹, карбонильных групп, не взаимодействующих с водой – при 1745–1750 см⁻¹. Полоса поглощения Амид I имеет максимум в области 1663–1650 см⁻¹.

7. Кривандин А.В., Шаталова О.В., Иорданский А.Л. // Высокомолек. соед. Б. 1997. Т. 39. № 11. С. 1865.
8. Кривандин А.В., Шаталова О.В., Иорданский А.Л. // Высокомолек. соед. Б. 1997. Т. 39. № 3. С. 540.
9. Marchessault R.H., Okamura K., Su C.J. // Macromolecules. 1970. V. 3. № 6. P. 735.
10. Crank J., Park G.S. Diffusion in Polymers. London; New York: Acad. Press, 1968.
11. Тарутина Л.И., Позднякова Ф.О. Спектральный анализ полимеров. Л.: Химия, 1986.
12. Клаузен Н.А., Семенова Л.П. Атлас инфракрасных спектров каучуков и некоторых ингредиентов резиновых смесей. М.: Химия, 1965.
13. Doi Y. Microbial Polyesters. Weinheim: VCH Publ., 1990.
14. Griebel R., Smith Z., Merrick J.M. // Biochemistry. 1968. V. 7. P. 3676.
15. Дехант И., Данц Р., Киммер В., Шмольке Р. Инфракрасная спектроскопия полимеров. М.: Химия, 1976.
16. Семенович Г.М., Храмова Т.С. Справочник по физической химии полимеров. Киев: Наукова думка, 1985. Т. 3.
17. Структура и стабильность биологических макромолекул / Под ред. Волькенштейна М.В. М.: Мир, 1973.
18. Иорданский А.Л., Камаев П.П. // Высокомолек. соед. Б. 1998. Т. 40. № 1. С. 91.
19. Razumovskii L.P., Iordanskii A.L., Zaikov G.E., Zagreba E.D., McNeill I.C. // Polym. Degrad. Stab. 1994. V. 44. P. 171.
20. Лебедева Т.Л., Иорданский А.Л., Кривандин А.В. // Высокомолек. соед. А. 1994. Т. 36. № 7. С. 1113.
21. Reusch R.N., Gruhn A. // Int. Symp. on Bacterial Polyhydroxyalkanoates. Davos, Switzerland, 1996.
22. Берштейн И.Я., Каминский Ю.Л. Спектрофотометрический анализ в органической химии. Л.: Химия, 1986.
23. Petrakis L. // J. Chem. Education. 1967. V. 44. № 8. P. 432.

The Effect of Preparation Procedure on Water Sorption in Membranes Based on Bacterial Poly(3-hydroxybutyrate)

A. L. Iordanskii and P. P. Kamaev

Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences,
ul. Kosygina 4, Moscow, 117977 Russia

Abstract—For the membranes based on poly(3-hydroxybutyrate), which is a new biopolymer from the class of polyoxyalkanoates, the effect of the preparation procedure on sorption–diffusion parameters was studied. As evidenced by the methods of FT-IR spectroscopy and vacuum one may noticeably change the mechanism of diffusion transfer of water in polymer by gravimetry, varying the conditions of preparation of the polymer films (application of solvents with different polarities and variations in the casting procedure). The specific features of the sorption and diffusion characteristics of poly(3-hydroxybutyrate) are related to the structural organization and a certain orientation of crystallites.