

Politechnika Łódzka

ZESZYTY NAUKOWE Nr 1159

ZBIGNIEW DRACZYŃSKI

KOPOLIESTER BUTYRYLO-ACETYLOWY CHITYNY
JAKO NOWY AKTYWNY SKŁADNIK
NANOKOMPOZYTÓW POLIMEROWO-WŁÓKNISTYCH

ŁÓDŹ 2013

POLITECHNIKA ŁÓDZKA

ZESZYTY NAUKOWE Nr 1159

ROZPRAWY NAUKOWE, Z. 449

ZBIGNIEW DRACZYŃSKI

KOPOLIESTER BUTYRYLO-ACETYLOWY CHITYNY
JAKO NOWY AKTYWNY SKŁADNIK
NANOKOMPOZYTÓW POLIMEROWO-WŁÓKNISTYCH

ŁÓDŹ 2013

ZESZYTY NAUKOWE POLITECHNIKI ŁÓDZKIEJ
SCIENTIFIC BULLETIN
OF THE LODZ UNIVERSITY OF TECHNOLOGY
BULLETIN SCIENTIFIQUE
DE L'UNIVERSITÉ POLYTECHNIQUE DE LODZ
НАУЧНЫЕ ЗАПИСКИ
ЛОДЗИНСКОГО ПОЛИТЕХНИЧЕСКОГО УНИВЕРСИТЕТА
WISSENSCHAFTLICHE HEFTE
DER TECHNISCHEN UNIVERSITÄT IN LODZ

Redaktor Naukowy Wydziału: **prof. dr hab. inż. Krzysztof Kowalski**

Recenzenci: **prof. dr hab. inż. Izabella Krucińska**
prof. dr hab. inż. Roman Jantas

© Copyright by Politechnika Łódzka 2013

Adres Redakcji – Адрес Редакции – Editor's Office
Adresse de Redaction – Schriftleitungsadresse:

WYDAWNICTWO POLITECHNIKI ŁÓDZKIEJ

90-924 Łódź, ul. Wólczańska 223
tel./fax 42-684-07-93
e-mail: zamowienia@info.p.lodz.pl
www.wydawnictwa.p.lodz.pl

ISSN 0137-4834

Nakład 140 egz. Ark. druk. 11. Papier offset. 80 g, 70 x 100
Druk ukończono w maju 2013 r.
Wykonano w Drukarni Quick-Druk, 90-562 Łódź, ul. Łąkowa 11

Spis treści

1. WYKAZ SKRÓTÓW.....	5
2. STRESZCZENIE	7
3. WSTĘP.....	9
4. WYBRANE ZAGADNIENIA Z WIEDZY O CHITYNIE	12
4.1. Źródła chityny.....	12
4.2. Budowa nadcząsteczkowa chityny	15
4.3. Masa molowa.....	16
4.4. Stopień acetylacji chityny.....	17
4.5. Chemiczna modyfikacja chityny	18
4.5.1. Deacetylacja chityny	19
4.5.2. Estryfikacja chityny.....	20
4.6. Wytwarzanie włókien i innych form użytkowych z dibutyrylochityny	22
4.7. Zastosowanie chityny i jej pochodnych do wytwarzania wyrobów medycznych.....	24
5. KOMPOZYTY POLIMEROWO-WŁÓKNISTE, JAKO BIOMATERIAŁY STOSOWANE W REGENERACJI TKANKI KOSTNEJ	26
6. CEL PRACY, JEJ HIPOTEZA I PROGRAM PRACY	32
7. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA.....	34
7.1. Przemysłowe źródła chityny	34
7.1.1. Porównanie właściwości fizyko-chemicznych chityn handlowych różnego pochodzenia	38
7.2. Nowe źródło chityny	41
7.2.1. Usuwanie wosków z powierzchni ciała pszczół.....	41
7.2.2. Usuwanie soli mineralnych	42
7.2.3. Usuwanie substancji białkowych	44
7.2.4. Usuwanie melaniny – pigmentu z kompleksu chityna – melanina	47
7.2.5. Potwierdzenie budowy chemicznej chityny pozyskiwanej z ciał pszczół miodnych	50
7.3. Synteza kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny.....	56
7.3.1. Wybór chityny i jej charakterystyka.....	56
7.3.2. Synteza kopoliestru o różnym udziale grup masłowych i octanowych ..	58
7.3.3. Analiza produktów estryfikacji chityny.....	62
7.4. Właściwości reologiczne alkoholowych roztworów kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny w etanolu	67
7.5. Formowanie włókien z BAC.....	70
7.5.1. Sposób i urządzenie do formowania włókien z BAC	70
7.5.2. Metody badania struktury i właściwości włókien.....	71
7.5.3. Dobór warunków zestalania i rozciągu w kąpielii plastyfikacyjnej dla formowania włókien z BAC 95/5/HClO ₄	73
7.5.4. Badania nad doбором warunków formowania włókien z BAC 90/10/HClO ₄	75
7.5.5. Wpływ wyciągu filierowego i deformacji w etapach rozciągu na strukturę i właściwości włókien z BAC 95/5/HClO ₄	77

7.6. Charakterystyka stosowanych nanododatków i proces ich sonikacji	82
7.7. Dobór warunków sonikacji zawiesiny nanododatków HAp bądź TCP w rozpuszczalniku	85
7.8. Analiza właściwości reologicznych roztworów przewodniczących BAC 95/5/HClO ₄ zawierających nanododatki HAp lub TCP	88
7.9. Wytwarzanie włókien z BAC 95/5/HClO ₄ zawierających ceramiczne nanododatki HAp lub TCP	91
7.9.1. Analiza porównawcza struktury i właściwości włókien BAC 95/5/HClO ₄ zawierających nanododatek HAp lub TCP	91
7.10. Wytwarzanie kompozytów polimerowo-włóknistych na bazie nanokompozytowych włókien z kopoliestrów	105
7.10.1. Badania modelowych folii 2D wytworzonych z BAC 95/5/HClO ₄	106
7.10.2. Analiza bioaktywności włókien na bazie BAC 95/5/HClO ₄	109
7.10.3. Dobór metod wytwarzania materiałów 3D na bazie nanokompozytowych włókien BAC 95/5/HClO ₄ w osnowie PCL.....	119
7.10.4. Badania biologiczne z wykorzystaniem hodowli komórek linii ciągłych MG-63.....	129
8. PODSUMOWANIE WYNIKÓW I WNIOSKI KOŃCOWE	135
9. LITERATURA.....	139
ABSTRACT	146
CHARAKTERYSTYKA ZAWODOWA AUTORA.....	148

1. WYKAZ SKRÓTÓW

[η]	– graniczna liczba lepkościowa – lepkość istotna
AFM	– mikroskop sił atomowych
B	– włókna z kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny o składzie 95/5
BAC	– kopoliester butyrylo-acetylowy chityny
BAC 60/40	– kopoliester butyrylo-acetylowy chityny o udziale 60% grup butyrylowych i 40 % grup acetylowych
BAC-P 50/50	– kopoliester butyrylo-acetylowy chityny pszczelej o udziale 50% grup butyrylowych i 50 % grup acetylowych
BH	– włókna z kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny o składzie 95/5 zawierające 3% HAp
BM	– bezwodnik kwasu masłowego
BO	– bezwodnik kwasu octowego
BT	– włókna z kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny o składzie 95/5 zawierające 3% TCP
BTN	– włókna z kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny o składzie 95/5 zawierające 3% TCP – druga seria
C	– włókna z kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny o składzie 90/10
CAS	– Chemical Abstracts Service
CHIN	– chityna pszczela
DA	– stopień acetylacji chityny
DBC	– dibutyrylochityna
DLS	– dynamiczne rozpraszanie światła laserowego
DOC	– dioctan chityny
DSA	– analiza kształtu kropli
DS_{Ac}	– stopień podstawienia grupami octanowymi (acetylowymi)
DS_{Bu}	– stopień podstawienia grupami maślanowymi (butyrylowymi)
DSS	– sól sodowa kwasu 2,2-dimetylo-2-silapentano-5-sulfonowego
EDTA	– sól sodowa kwasu etanodiaminotetraoctowego
EPD	– elektroforetyczne osadzanie warstw
ETO	– tlenek etylenu
EUCHIS	– Europejskie Towarzystwo Chitynowe
FTIR	– spektroskopia w podczerwieni
HAp	– hydroksyapatyt
ICP	– spektrometria mas ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej
IND	– chityna krewetkowa
KMS	– kwas metanosulfonowy
LSD	– dietyloamid kwasu D-lizergowego
M/D	– rodzaj kompozytu polimerowo-włóknistego

MBH	– włókna z kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny o składzie 95/5 zawierające 1% HAp
MBT	– włókna z kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny o składzie 95/5 zawierające 1% TCP
MG-63	– linia komórkowa osteoblastów
MIR	– Morski Instytut Rybacki
MIR61	– chityna kryłowa produkcji Morskiego Instytutu Rybackiego
M_v	– wiskozymetrycznie średnia masa molowa
NHOst	– hodowla pierwotnych ludzkich osteoblastów
NMR	– spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego
PBS	– bufor fosforanowy
PCL	– poli (ϵ -kapolakton)
PGLA	– kopolimer laktydu i glikolidu
PTChit	– Polskie Towarzystwo Chitynowe
RMS	– parametr chropowatości powierzchni – średnie kwadratowe odchylenie profilu na odcinku elementarnym
SBF	– symulowane osocze
SEM	– elektronowy mikroskop skaningowy
TCP	– trójfosforan wapnia
UHQ	– ultra wysokiej czystości
WAXFIT	– program przeznaczony jest do kompleksowej analizy krzywych dyfrakcyjnych
WAXS	– szerokątowa dyfrakcja promieniowania rentgenowskiego
X-ray	– promieniowanie rentgenowskie
XRD	– dyfrakcja rentgenowska

2. STRESZCZENIE

W pracy przedstawiono nowe perspektywiczne źródło chityny – ciała pszczoł miodnych. Opracowano metodykę pozyskiwania i oczyszczania chityny o dogodnych do dalszych prac parametrach fizykochemicznych. Wykazano, iż chityna pozyskiwana z tego źródła charakteryzuje się budową i właściwościami fizykochemicznymi zgodnymi z chityną handlową, pozyskiwaną z odpadów przemysłu spożywczego.

Wykazano możliwość przeprowadzenia syntezy nowego polimeru – estrowej pochodnej chityny zawierającej w łańcuchu polimerowym dwie różne grupy boczne, pochodzące od kwasu masłowego (grupy butyrylowe) oraz od kwasu octowego (grupy acetylowe). Ta pochodna chityny, odznaczająca się dobrą rozpuszczalnością w popularnych rozpuszczalnikach organicznych, powstaje w wyniku estryfikacji chityny mieszaniną bezwodników kwasu masłowego i octowego. W trakcie realizacji pracy opracowano optymalne warunki syntezy kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny (BAC) o założonych parametrach fizyko-chemicznych. Do syntezy kopoliestru chityny zastosowano dwie metody otrzymywania: syntezę w warunkach homogenicznych w środowisku kwasu metanosulfonowego, będącego katalizatorem reakcji i jednocześnie rozpuszczalnikiem reagentów i produktu reakcji, oraz syntezę w warunkach heterogenicznych w obecności kwasu nadchlorowego jako katalizatora reakcji estryfikacji. Wykonano serię syntez kopoliestru chityny, które różniły się udziałem molowym grup butyrylowych i acetylowych oraz wartościami lepkości istotnej, proporcjonalnej w stosunku do masy molowej. Opracowane warunki prowadzenia syntezy pozwalają otrzymać gotowe produkty o odpowiednim, oczekiwanym składzie chemicznym w postaci proszku z przeznaczeniem na długotrwałe ich przechowywanie lub w postaci stabilnych roztworów w etanolu, przeznaczonych do formowania z nich włókien.

Opracowano optymalne warunki wytwarzania włókien z kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny metodą z roztworu na mokro, a także włókien z tego polimeru zawierających ceramiczne dodatki: hydroksyapatyt (HAp) bądź trójfosforan wapnia (TCP) w postaci nanocząstek.

Różniące się budową chemiczną nanododatki HAp i TCP wprowadzano do roztworu przedziałniczego w postaci zawiesiny, uprzednio poddanej procesowi sonikacji. Uzyskane w optymalnych warunkach przedzenia włókna z BAC o składzie 95% grup butyrylowych i 5% grup acetylowych, zawierające nanododatki HAp bądź TCP, odznaczały się wytrzymałością właściwą w zakresie 16-24 cN/tex przy stopniu krystaliczności 24-25%. Jest to zakres wytrzymałości odpowiedni do uzyskania kompozytu polimerowo-włóknistego typu MD.

Na bazie obu rodzajów włókien z kopoliestru BAC zawierających nanododatki wytworzono kompozyty polimerowo-włókniste, stosując jako matrycę kompozytu poli(ϵ -kaprolakton) (PCL). Kompozyty te zbadano pod względem możliwości zastosowania ich jako nowego materiału implantacyjnego. Wytwo-

rzono kompozyty o porowatej strukturze. Porowatość struktury 2D wytwarza się w wyniku resorpcji składnika włóknistego BAC po aplikacji implantu. Dwupoziomowa struktura porowata kompozytu 3D zostaje uzyskana w wyniku sublimacji rozpuszczalnika matrycy PCL w etapie jego wytwarzania, a następnie w wyniku stopniowej resorpcji składnika włóknistego w materiale implantacyjnym. Resorpcji BAC towarzyszy uwolnienie nanododatków HAp bądź TCP, które migrują do otaczającej implant tkanki kostnej, powodując jej odbudowę. Obecność w kompozytach kopoliestru chityny korzystnie wpływa na zwiększenie zwilżalności, zmianę profilu powierzchni, podwyższa trwałość oraz bioaktywność tworzywa w środowisku *in vitro* szczególnie wówczas, gdy składnik włóknisty stanowią włókna z BAC zawierające nanododatek HAp.

Stwierdzono, iż włóknista mikrostruktura kompozytów typu 3D stanowi środowisko sprzyjające adhezji komórek i późniejszej neowaskularyzacji tkanki łącznej. Kompozyty te wykazują biozgodność, charakteryzują się pozytywną odpowiedzią komórkową, a dzięki obecności fazy włóknistej wzrasta liczebność i aktywność komórek tkanki kostnej. W zależności od udziału fazy włóknistej w kompozycie, wprowadzonej w postaci krótkich włókien BAC, możliwe jest uzyskanie kontrolowanej biodegradowalności. Wytypowany na podstawie badań właściwości mechanicznych właściwy udział fazy włóknistej w kompozycie typu 2D powinien wynosić 2%. Dla kompozytów typu 3D korzystny okazuje się wyższy udział fazy włóknistej wynoszący 20%.

3. WSTĘP

Chityna (z greckiego *chiton* – okrycie) jest drugim pod względem rozpowszechnienia w przyrodzie biopolimerem – poliwęglowodanem, produkowanym głównie przez stawonogi: skorupiaki, owady, pajęczaki. Chityna występuje również w ścianach komórkowych grzybów, wodorostów, bakterii. We wszystkich żywych organizmach jest ona połączona w kompleksy z białkami i innymi polimerami, wytwarzanymi przez te organizmy. Ocenia się, że każdego roku na kuli ziemskiej jest wytwarzane około 10 gigaton chityny.

Produkowana przez organizmy żywe chityna posiada unikatowe właściwości biologiczne i od pradawnych czasów jest znana jako tworzywo, samoistnie przyspieszające gojenie się rozlicznych ran, i w postaci sproszkowanych okryć skorupiaków od dawna była używana do ich leczenia.

Podobna do celulozy, najbardziej rozpowszechnionego w przyrodzie biopolimeru produkowanego przez rośliny, chityna w odróżnieniu od niej posiada grupę acetyloaminową w miejscu jednej z trzech grup hydroksylowych, obecnych w celulozie.

Po raz pierwszy chityna pod nazwą *fungina* została wyizolowana z grzybów w 1811 r. przez H. Braconnot. W roku 1823 A. Odier nazwał *chityną* nierozpuszczalną substancję, wyizolowaną z ciał owadów. Przyjmuje się, że po raz pierwszy budowa chemiczna chityny została opisana w roku 1930 w pracy doktorskiej A. Hofmanna, szwajcarskiego naukowca, znanego głównie, jako odkrywcy LSD.

Chityna jest liniowym polimerem wielkocząsteczkowym, składającym się z merów N-acetyloglukozaminowych, dokładnie 2-(acetyloamino)-2-deoksy-D-glukozy, połączonych wiązaniami β -glikozydowymi w pozycji 1,4. W naturze chityna występuje w kompleksach, powiązana wiązaniami wodorowymi z białkami, innymi poliwęglowodanami oraz z wielkocząsteczkowymi pigmentami organicznymi (melaninami). Kompleksy te są często wzmocnione cząsteczkami węglanu wapnia, tworzącymi dodatkowe wiązania chelatowe. Wyodrębnienie chityny wymaga wykonania szeregu operacji: rozdrobnienia surowca (głównie odpadów po skonsumowaniu „owoców morza” – skorupiaków), usunięcia z niego białka, węglanu wapnia oraz jego odbarwienia. Produkt handlowy chityny produkowany na szeroką skalę jest zarejestrowany jako CAS 1398-61-4.

Chityna pozbawiona obcych dodatków jest polimerem o uporządkowanej strukturze krystalicznej, której makrocząsteczki są powiązane wiązaniami wodorowymi. Sprawia to, że jest ona polimerem o bardzo ograniczonej rozpuszczalności, praktycznie uniemożliwiającej jej przetwórstwo. Jednak unikatowe biologiczne właściwości chityny oraz ogromna i odnawiająca się jej baza surowcowa od lat zachęcają naukowców z całego świata do poszukiwania sposobów utylizacji chityny, a szczególnie do opracowania metod jej chemicznej mody-

fikacji, zmierzających do ułatwienia jej przetwórstwa przy jednoczesnym zachowaniu unikatowych właściwości chityny.

Intensywny wzrost zainteresowań chityną rozpoczął się w latach 70. ubiegłego wieku. W wielu krajach powstawały towarzystwa chitynowe, zrzeszające placówki naukowe i przemysłowe, zainteresowane badaniami chityny i jej pochodnych, regularnie publikujące wyniki tych badań. Od roku 1977 są organizowane międzynarodowe konferencje naukowe, poświęcone chitynie i jej pochodnym. Wynikiem badań światowych w ciągu ostatnich 40 lat są liczne pozycje książkowe, artykuły przeglądowe i setki tysięcy artykułów naukowych, opublikowanych w licznych czasopismach.

Polskie Towarzystwo Chitynowe (PTChit) powstało w roku 1993 z inicjatywy profesora Henryka Struszczyka, który do końca życia (†2005 r.) pełnił w nim obowiązki Prezesa. PTChit organizuje coroczne seminaria naukowe, wydaje monografie nt. "Progress on chemistry and application of chitin and its derivatives" i jest zbiorowym członkiem Europejskiego Towarzystwa Chitynowego EUCHIS.

Powszechnie są prowadzone prace naukowe, zmierzające do pozyskiwania użytecznych pochodnych chityny. Główne metody chemicznej modyfikacji chityny koncentrują się na reakcjach trzech grup funkcyjnych, występujących w merze podstawowym chityny: dwóch grup hydroksylowych w pozycjach 6 i 3 oraz grupy acetyloaminowej (amidowej) w pozycji 2. Najbardziej poznaną pochodną chityny, produkowaną na skalę przemysłową, jest chitozan. Ogólnie chitozaniem są nazywane pochodne chityny, otrzymywane w procesie jej hydrolizy zasadowej, podczas której od 60% do 100% grup acetyloaminowych w pozycji 2 meru N-acetyloglukozaminowego zostaje przemienione w grupy aminowe. Chitozan jako hydrofilowy produkt handlowy CAS 9012-76-4, charakteryzowany stopniem deacetylacji oraz wartością masy molowej, znajduje zastosowanie w rolnictwie do zabezpieczania nasion przed pleśnią i bakteriami oraz jako środek promujący rozrost roślin. Chitozan jest stosowany również do filtracji wód i cieczy w wielu gałęziach przemysłu. W przemyśle spożywczym wysoko oczyszczony chitozan o stopniu deacetylacji bliskim 100% znalazł powszechne zastosowanie jako suplement diety wspomagający odchudzanie.

W Katedrze Chemii Fizycznej Politechniki Łódzkiej w latach 80. rozpoczęto intensywne prace badawcze, zainspirowane współpracą z japońskimi naukowcami, nad modyfikacją makrocząsteczki chityny. Badania te, sfinansowane przez ówczesny Komitet Badań Naukowych, zaowocowały opracowaniem i opatentowaniem w kraju metody otrzymywania diestru chityny – dibutyrylochityny – hydrofobowego estru chityny o stopniu estryfikacji równym 2, łatwo rozpuszczalnego w ogólnie dostępnych rozpuszczalnikach i posiadającego właściwości biologiczne porównywalne z właściwościami chityny. Reakcja estryfikacji chityny jest prowadzona w warunkach, uniemożliwiających udział w niej substancji białkowych, które są wydalane z produktu reakcji w procesie jego oczyszczania. Wolna od zanieczyszczeń białkowych dibutyrylochityna, przetworzona po wyprzędzeniu z niej włókien we włókninowe

materiały opatrunkowe, pomyślnie przeszła badania biologiczne, potwierdzające spełnienie wymagań normy PN-EN 10993, stawianych wyrobom medycznym. Badania kliniczne, przeprowadzone w późniejszych latach, wykazały biokompatybilność, biodegradowalność, aktywność hemostatyczną dibutyrylochityny oraz jej zdolność do przyspieszania procesów gojenia się trudnych do wyleczenia ran.

Jedynym niedostatkim dibutyrylochityny jest niewysoka wytrzymałość mechaniczna wytwarzanych z niej włókien, co ogranicza sferę zastosowania tego cennego materiału.

W celu poprawienia tego parametru podjęto badania zmierzające do wprowadzenia do chityny obok grup acetylowych pewnej ilości grup, pochodzących od innych kwasów organicznych. Takie kopoliestry chityny z nowymi nabytymi właściwościami mogą poszerzyć możliwości ich aplikacji medycznych.

Wynikiem przeprowadzonych badań jest otrzymanie butyrylo-acetylowego estru chityny, zawierającego jako grupy boczne w łańcuchu polimerowym reszty kwasu masłowego oraz kwasu octowego i określenie ich udziału ilościowego.

Polimer ten o udowodnionej w pracy aktywności biologicznej został zastosowany w postaci włókien jako jeden z komponentów porowatego kompozytu polimerowo-włóknistego, zawierającego dodatkowo ceramiczne, bioaktywne dodatki w postaci nanocząstek. Kompozyt ten będzie przeznaczony do zastosowań w szeroko pojętej medycynie regeneracyjnej.

4. WYBRANE ZAGADNIENIA Z WIEDZY O CHITYNIE

Prekursorami współczesnej wiedzy o chitynie są między innymi R.A.A. Muzzarelli [1,2] S. Chirano i S. Tokura [3], R.A.F. Roberts [4]. O chitynie i jej pochodnych w ciągu ostatnich lat ukazało się i ukazuje nadal wiele pozycji książkowych, artykułów przeglądowych oraz prac opisujących wyniki poszczególnych badań.

Z tej obszernej wiedzy wybrano materiał, przedstawiający w skrócie wiadomości dotyczące chityny:

- źródeł jej pozyskiwania,
- budowy chemicznej, struktury i niektórych właściwości fizyko-chemicznych,
- metod chemicznej jej modyfikacji i opisu niektórych jej pochodnych,
- możliwości zastosowania chityny oraz niektórych produktów jej modyfikacji.

4.1. Źródła chityny

Po raz pierwszy chityna została odkryta w ścianach komórkowych grzybów przez Braconnot w 1811 roku [5], jako pozostałość po obróbce grzybów 1-6 molowym roztworem wodorotlenku potasu. Odkrywca stwierdził, że pozostały polimer zawiera azot, ale w ilości mniejszej niż białko. W 1825 Odier [6] odkrył nowy związek posiadający azot, stanowiący element szkieletu owadów. Tworzywo swoimi własnościami odpowiadało polimerowi odkrytemu wcześniej przez Braconnot. Chityna nie znalazła uznania w oczach technologów ze względu na trudności w przetwarzaniu jej w inne formy użytkowe i nie jest tak szeroko rozpowszechnionym w przemyśle polimerem jak celuloza. Ostatnie lata wskazują na intensywny wzrost zainteresowania tym wielocukrem. W tabeli 4.1 jest przedstawione zestawienie ilości publikacji naukowych dotyczących chityny zamieszczonych w bazie danych SCOPUS.

Tabela 4.1. Wyniki wyszukiwania hasła „chitin” w bazie danych SCOPUS

Lata	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Ilość publikacji	817	732	694	767	952	1151	1776	1976	1425	872

Znaną i powszechnie stosowaną bazą surowcową chityny – naturalnego poliwęglowodanu, tj. poli-[1,4]-N-acetylo-D-glukozaminy – są odpady po spożyciu mięsa skorupiaków (krabów, krewetek, homarów itp.). Chityna może stanowić od 15 do 40% udziału masy skorupiaków [7].

Tabela 4.2. Światowa produkcja chityny [8]

Źródło chityny	Produkcja [Mt]	Zawartość chityny [Mt]
Krewetki	2 647 345	44 375
Kałamarnice	1 991 094	1 244
Kraby	1 348 323	28 964
Ostrygi	2 547 287	12 350
Kryle	232 700	1 629
Razem	8 766 749	88 652

Jak wynika z danych przedstawionych w powyższej tabeli, głównym źródłem pozyskiwania chityny są krewetki, których roczna światowa produkcja szacowana jest na ponad 2 600 000 Mt, stan ten utrzymywany jest na stabilnym poziomie. Jednakże przy tak dużej produkcji, jedynie 1,68% wymienionej masy stanowi chityna. Podobna sytuacja występuje w produkcji chityny z pancerzy kraba, gdzie z ponad 1 300 000 Mt surowca pozyskuje się około 2.15% chityny. Wymieniona powyżej baza surowcowa nie jest w Polsce eksploatowana. W latach 70. XX wieku eksperymentalnie wyprodukowano polską chitynę krylową w Morskim Instytucie Rybackim MIR w Gdyni, jednak od tamtego czasu kryl, jako surowiec do pozyskiwania chityny, nie jest w Polsce wykorzystywany.

W klasycznym dwuetapowym procesie pozyskiwania chityny z odpadów przemysłu spożywczego najczęściej pierwszym etapem jest obróbka stężonym kwasem, np. HCl, HNO₃, H₂SO₃, CH₃COOH, HCOOH, jednakże najczęściej stosuje się kwas solny o stężeniu od 0,2 do 2 mol/dm³ w zakresie temperatur od 0 do 100°C. Obróbka ta ma na celu usunięcie węglanu wapnia oraz innych występujących w pancerzach skorupiaków soli mineralnych. Drugim etapem jest obróbka wodnymi roztworami alkaliów, przeważnie NaOH o stężeniu 1 mol/dm³, mająca na celu usunięcie obecnych w pancerzach substancji białkowych. W literaturze naukowej spotkać można doniesienia o kolejnym etapie oczyszczania chityny – o usuwaniu powiązanych z chityną pigmentów (melaniny). Są opisane metody usuwania pigmentów etanolem lub eterem [9], roztworami podchlorynu sodu [10,11], bezwodnym acetonem [12,13], chloroformem [14], nadtlenkiem wodoru [15,16] lub też octanem etylu [17]. Istnieją jednakże opinie, iż rozpuszczalniki organiczne nie są tak skuteczne w usuwaniu pigmentów, jak podchloryn sodu lub nadtlenek wodoru [11,18]. Stosowanie silnych środków utleniających powoduje pękanie wiązań glikozydowych, skutkujące obniżeniem masy molowej otrzymywanych partii chityny po procesie bielenia.

Oprócz klasycznych źródeł chityny, głównie skorupiaków morskich, istnieją również inne potencjalne źródła chityny, nieeksploatowane dotychczas na szerszą skalę, takie jak grzyby [19] i owady, gdzie pszczoła miodna może być jednym z przykładów [20]. Może się wydawać, że dla celów przemysłowych owady nie są interesującym źródłem chityny z powodu niskiej zawartości tego polimeru (10-15%), jednakże zaletą tego źródła jest to, iż niektóre owady mogą być

specjalnie hodowane dla pozyskiwania tego cennego surowca. Ponadto ciała owadów zawierają znacznie mniej soli mineralnych, trudno rozpuszczalnych w wodzie, co pozwala znacznie obniżyć ilości używanych odczynników chemicznych w procesie pozyskiwania chityny.

W literaturze naukowej można znaleźć doniesienia o możliwości wykorzystania chityny z tych źródeł, jako alternatywnych do pancerzy skorupiaków. Nemcev opisał sposób pozyskiwania chityny i chitozanu z ciał martwych pszczoł z „osypu zimowego” [21]. Stwierdził, że ciało pszczoły miodnej (*apsis melifera*) zawiera od 23 do 32% czystej chityny, pozostałą część stanowią takie związki, jak: sole mineralne (2-3%), białka (35-45%) oraz pigment -melanina (30-40%). Chitynowy oskórek owada, jak również szkielet pszczoły, jest materiałem kompozytowym, w którym chityna jest połączona wiązaniami międzycząsteczkowymi z białkiem, jak i również melaniną. W celu pozyskania czystej chityny autor zaproponował wieloetapową obróbkę chemiczną zmielonych ciał pszczoł. W pierwszym etapie, ciała pszczoł poddano obróbce wodnym roztworem NaOH (4% ww.) w celu usunięcia białek. Kolejna obróbka z użyciem 3% H₂O₂ w 75°C w ciągu 1 godziny miała na celu usunięcie melaniny. Następnym etapem opisanym w pracy była synteza chitozanu, szeroko używanej pochodnej chityny. Na podstawie uzyskanych wyników autor stwierdził, że przytoczone metody wyodrębniania chityny z ciał martwych pszczoł mogą być wykorzystane do masowej produkcji niskcząsteczkowego chitozanu rozpuszczalnego w wodzie.

Zhang zaproponowała wykorzystanie oskórka larw jedwabnika (*Bombyx mori*), jako źródło czystej chityny [22]. W celu pozyskania chityny z ciał jedwabników konieczne było zastosowanie wieloetapowego procesu obróbki surowca. W pierwszym etapie ciała jedwabnika suszono do stałej masy, po czym białka niezwiązane z chityną zawarte w ciele usunięto w sposób mechaniczny. Pozostałość w postaci łusek poddano obróbce chloroformem w celu usunięcia wosków, a następnie obróbce wodnym roztworem HCl o stężeniu 1 mol/dm³ w temperaturze 100°C w celu usunięcia soli mineralnych. Występujące w łuskach pozostałości białkowe usunięto w dwukrotnej kąpieli. Pierwsza, wodnym roztworem wodorotlenku sodu o stężeniu 1 mol/dm³ i druga 4% roztworem CaCO₃ w 80°C. Budowę chemiczną uzyskanej chityny potwierdzono analizą X-ray, ¹³C CP MAS NMR. Po badaniach porównujących podatność chityny z jedwabnika i chityny krewetkowej na enzymatyczną degradację, autorka stwierdziła, że chityna z kutykuli larwy jedwabnika jest bardziej podatna na enzymatyczną degradację od chityny krewetkowej.

Majtan przedstawił możliwość pozyskiwania chityny z ciał trzmieli [23]. Zaproponował on trzyetapowy proces oczyszczania chityny z ciał martwych trzmieli. W pierwszym procesie sole mineralne obecne w ciele trzmiela usunięto, obrabiając drobno zmielone ciała roztworem HCl o stężeniu 1M w temperaturze 100°C przez okres 2 godzin. Następnie otrzymaną masę obrabiano roztworem NaOH o stężeniu 1M w 85°C w czasie 24 godzin. Po dokładnym odmyciu od

NaOH do uzyskania odczynu obojętnego zawiesiny (pH = 7) autor otrzymał proszek o ciemnobrązowym zabarwieniu składający się z kompleksu chitynowo-melaninowego. W celu usunięcia barwnika autor zastosował roztwór utleniający ($\text{H}_2\text{O}_2/33\% \text{HCl}$ w stosunku 9:1 v/v). Ostatecznie otrzymano chitynę z ciał trzmieli o lekko brązowym zabarwieniu. Na podstawie przeprowadzonych analiz FTIR, NMR autor stwierdził, że chityna z trzmieli pod względem budowy chemicznej jest identyczna z chityną krewetkową.

Sajomsang przedstawił potencjalne źródło chityny pozyskiwanej z naskórka cykady, powstałego po procesie linienia. Typowa procedura pozyskiwania chityny polegała na obróbce roztworem HCl o stężeniu 1 M i następującej po niej obróbce roztworem NaOH w celu usunięcia białek. Brązowe zabarwienie pozyskanej chityny usuwano, stosując 6% roztwór podchlorynu sodu [24]. Autorzy określili stopień acetylacji pozyskanej chityny na poziomie około 97%. Istnieją również doniesienia o możliwości pozyskiwania chityny z ciał innych owadów, takich jak pająki, skorpiony, karaluchy oraz mrówki [25].

4.2. Budowa nadcząsteczkowa chityny

Natywna chityna jest polimerem liniowym występującym w trzech odmianach allomorficznych, typu α , β i γ w zależności od źródła pochodzenia [26-28]. Chityna typu α jest najczęściej spotykaną formą w świecie przyrody, występuje w wielu formach organizmów żywych takich jak grzyby, ściany komórkowe drożdży, pancerze kryla, kraba oraz również szkielet owadów [29]. Natomiast β chityna nie jest często spotykaną formą, występuje w miejscach, gdzie obok wysokiej wytrzymałości elementy budowy ciała danego gatunku muszą charakteryzować się znaczną elastycznością [30-32]. Ten typ chityny można wyodrębnić z kałamarnic oraz ze szkieletu morskich robaków rurkowych. Forma krystaliczna chityny typu γ jest formą sporadycznie występującą i przyjmuje się, że forma ta jest pochodną formy α [33]. W obu wyżej wymienionych strukturach typu α i β łańcuchy polimerowe chityny ułożone są warstwowo z licznymi wiązaniami wodorowymi, które scalają je, tworząc wysoko stabilne struktury. Wiązania wodorowe wytworzone pomiędzy grupami $\text{C}-\text{O}\cdots\text{NH}$ charakteryzują się długością rzędu około 0.47 nm odpowiadające rozmiarom „a” komórki elementarnej struktury krystalicznej [29,34,35]. W strukturach α chityny, w porównaniu do struktury β chityny, dodatkowo obserwuje się występowanie licznych wiązań wodorowych międzycząsteczkowych, pomiędzy warstwami tworzącymi strukturę krystaliczną. Długość tych wiązań pokrywa się z rozmiarem „b” komórki elementarnej. Odmienne struktury tych dwóch odmian wpływa na zróżnicowanie podatności do rozpuszczania w typowych rozpuszczalnikach organicznych. Polarne rozpuszczalniki, takie jak woda, alkohole są zdolne dyfundować w strukturę typu β , powodując jej rozluźnienie, gdzie takiego zjawiska nie obserwuje się w odmianie α chityny [29].

4.3. Masa molowa

Jednym z podstawowych parametrów charakteryzujących wielkość i wagę makrocząsteczek polimerów jest ich średnia masa molowa. Średnie masy molowe polimerów są wyznaczane w rozcieńczonych roztworach polimerów różnymi metodami: metodą analizy grup funkcyjnych, rozpraszania światła, chromatografii żelowej, ultra wirowania oraz metodą pomiaru lepkości rozcieńczonych roztworów, wykorzystując półempiryczne równanie Marka-Houwinka-Sakurady

$$[\eta] = KM_v^a \quad (1)$$

Stałe parametry „K” i „a” występujące w równaniu nie zależą od masy molowej polimeru, zależą natomiast od charakteru oddziaływania rozpuszczalnik-polimer i od temperatury pomiaru. Wykładnik potęgi w powyższym równaniu wskazuje na konformację makrocząsteczki w rozpuszczalniku i maleje wraz ze wzrostem skłębienia makrocząsteczki. W roztworze można założyć występowanie makrocząsteczek w trzech idealnych konformacjach, tj.: sfery, kłębka statystycznego oraz wyprostowanej pałeczki. Dla makrocząsteczek wyprostowanych wartość parametru „a” jest większa od jedności, natomiast dla konformacji kłębka statystycznego wartość tego parametru zawiera się w granicach od 0,5 do 0,8 w zależności od rozpuszczalnika, a dla konfiguracji sfery wartość parametru „a” = 0. Dla większości polisacharydów wartość parametru „a” zawiera się w zakresie od 0,5 do 1,0, co interpretowane jest wstępowaniem konformacji pośredniej pomiędzy statystycznym kłębką i sztywną pałeczką [38].

Z uwagi na bardzo ograniczoną ilość rozpuszczalników chityny jej masa molowa jest najczęściej wyznaczana metodą pomiaru lepkości bardzo rozcieńczonych roztworów chityny w dimetyloacetamidzie (DMAc), zawierającym 5-7% chlorku litu (LiCl). Rozpuszczalnik ten tworzy stabilne roztwory i nie powoduje degradacji chityny [37]. Znane są również inne nieliczne układy rozpuszczające chitynę, zaliczyć do nich można roztwory silnie alkaliczne, nieorganiczne kwasy, stężony kwas mrówkowy, jednakże w ich przypadku obserwowane były procesy degradacji polimeru w czasie.

Na podstawie niezależnych pomiarów mas molowych frakcji chityny metodą rozpraszania światła zespół Terbojevich [37] wyznaczył parametry „a” i „K” w równaniu Marka-Houwinka-Sakurady dla chityny w roztworze DMAc/5%LiCl i zaproponował następujące równanie:

$$[\eta] = 0,0024 M_v^{0,69}, \quad (2)$$

gdzie $[\eta]$ – graniczna liczba lepkościowa (inaczej lepkość istotna), wyznaczona w wyniku ekstrapolacji oznaczonych wartości lepkości rozcieńczonych roztworów do zerowego stężenia chityny.

4.4. Stopień acetylacji chityny

Przyjmuje się, że czysta chityna jest homopolimerem zbudowanym z powtarzających się jednostek N-acetylo-D-glukozaminy. W rzeczywistości jednak w chitynie nawet w formie pierwotnej występują wolne grupy aminowe przy atomie C-2. W procesie wyodrębniania chityny i usuwania białek z surowej masy, najczęściej realizowanym poprzez obróbkę alkaliczną, część grup acetylowych chityny ulega hydrolizie do grup aminowych. Najczęściej zawartość części deacetylowanej w próbkach chityny zawiera się w przedziale 5-15%, co odpowiada stopniu acetylacji 0,95-0,85. Wartości stopnia acetylacji przyjmują różne wartości w zależności od pochodzenia chityny oraz od sposobu jej wyodrębniania.

Stopień N-acetylacji chityny (DA) jest więc następnym z najważniejszych parametrów, opisujących ten polimer. Oznaczanie tego parametru jest ważnym zagadnieniem do określania charakterystyki chityny.

W literaturze spotkać można przykłady wielu technik stosowanych do wyznaczenia stopnia acetylacji chityny [39,40], jednak technika badania widm chityny w podczerwieni FTIR jest w centrum uwagi ze względu na wygodę i szybkość oznaczania DA oraz uniwersalność tej metody. Łatwość wykonywania preparatów dla tej techniki predysponuje ją do oznaczania DA dla chityn na każdym etapie jej wytwarzania [41]. Nierozstrzygniętym problemem pozostaje standaryzacja tej metody, której celem byłoby uzyskiwanie porównywalnych wyników przez różne laboratoria [42-49].

Metoda FTIR oznaczania ilościowego stopnia acetylacji wymaga wybrania odpowiedniej linii bazowej oraz odpowiednich sygnałów na widmie, które są niezbędne do pomiaru poziomu absorpcji (A) przez odpowiadające im wiązanie chemiczne. Grupy N-acetylowe w widmie FTIR chityny dają sygnały „amid I” z maksimum przy 1655 cm^{-1} , czasami ten sygnał może być przesunięty do 1630 cm^{-1} , oraz „amid II” z maksimum przy 1560 cm^{-1} . Porównując te sygnały z sygnałami wzorca wewnętrznego np. drgań rozciągających wiązanie -OH , można wyprowadzić zależność opisującą stopień acetylacji w stosunku do adsorpcji promieniowania podczerwonego przez odpowiednie wiązania chemiczne chityny [43,49]. Najczęściej powoływaną zależnością do oznaczania stopnia acetylacji chityny jest zaproponowana przez Domszy i Baxter [43,44], gdzie wyznaczany jest stosunek pola powierzchni pod pikiem z maksimum przy 3450 cm^{-1} do pola powierzchni pod pikiem przy 1655 cm^{-1} , odpowiadające odpowiednio grupom hydroksylowym oraz sygnałowi amidu I. Baxter zaproponował współczynnik proporcjonalności w równaniu na podstawie niezależnie wyznaczonego stopnia acetylacji tej samej próbki chityny metodą pomiaru sorpcji barwników.

Równanie zaproponowane przez Baxtera ma następującą postać:

$$\% \text{ N-acetylacji} = (A_{1655}/A_{3450}) \times 115. \quad (3)$$

W literaturze naukowej dostępne są również propozycje dotyczące wykorzystania innych sygnałów z widma FTIR chityny do oznaczania stopnia deacetylacji. Zaproponowane równania dla DA są przedstawione w tabeli poniżej.

Tabela 4.3. Zestawienie zależności stopnia acetylacji chityny od poziomu absorpcji różnych grup w podczerwieni

Stopień acetylacji	Metoda referencyjna	Oдноśnik
$DA = (A_{1655}/A_{3450}) \times 115$	Sorpcja barwników	43
$DA = (A_{1320}/A_{1420}) / (0.3822 + 0.03133)$	$^1\text{H NMR}$, $^{13}\text{C NMR}$	48
$DA = (A_{1320}/A_{3450}) / (0.03146 + 0.00226)$	$^1\text{H NMR}$, $^{13}\text{C NMR}$	48
$DA = (A_{1560}/A_{2875}) / (0.2 + 0.0125)$	Analiza elementarna	49

4.5. Chemiczna modyfikacja chityny

Główną niedogodnością związaną z zastosowaniem chityny do procesów przetwórczych jest trudność z uzyskaniem roztworów zawierających rozpuszczoną chitynę. Brak możliwości uzyskania stabilnych roztworów chityny z tanich ogólnodostępnych rozpuszczalników wpływa na brak możliwości przetworzenia tego polimeru w takie formy, jak włókna, folie czy też żele. Znane są metody formowania włókien chitynowych, głównie patentowane, polegające na sporządzeniu roztworów przędzalniczych z chityny, pochodzącej ze skorupiaków morskich, w takich rozpuszczalnikach, jak: mieszanina kwasu trójchlorooctowego, wodzianu chloralu i chlorku metylenu, seskwiwodzianu sześćfluoroacetanu, 100% kwasu mrówkowego lub w nasyconych roztworach chlorku litu w dwumetyloacetamidzie lub w N-metylopirolidonie [50-52]. Niedogodnością wytwarzania włókien chitynowych z tych roztworów jest ich bardzo wysoka lepkość dynamiczna pozorna przy jednocześnie niskiej zawartości chityny w roztworze przędzalniczym (od 1 do maksymalnie 8%). Innymi niedogodnościami stosowania tych roztworów są długotrwałe i pracochłonne procesy koagulacji i odmywania włókien.

Obecność grup funkcyjnych w merze chityny – N-acetylo-D-glukozaminy: dwóch grup hydroksylowych przy atomach węgla 3 i 6 oraz grupy bocznej N-acetyloaminowej przy atomie węgla 2 stwarza możliwość uzyskania nowych pochodnych chityny o zmodyfikowanych właściwościach fizykochemicznych.

Niskie powinowactwo chityny do klasycznych rozpuszczalników stosowanych w chemii polimerów powoduje, że znacząca większość opisywanych procesów modyfikacji tego polimeru jest prowadzona w układzie heterogenicznym.

4.5.1. Deacetylacja chityny

Najczęstszą modyfikacją chemiczną chityny jest hydroliza grup N-acetyloaminowych prowadząca do uzyskania produktu jej częściowej deacetylacji – chitozanu, produkowanego na skalę przemysłową (CAS – 9012-76-4). W zależności od sposobu i warunków prowadzenia procesu otrzymuje się kopolimery o różnym stopniu deacetylacji, mieszczącym się w zakresie 60-80% oraz różnych masach molowych.

W warunkach naturalnych nie są spotykane wyłącznie czyste polimery chityny bądź chitozanu, ponieważ reakcja deacetylacji nie przebiega ze 100% wydajnością. Mamy, zatem do czynienia z kopolimerami, w skład których wchodzi N-acetylo-D-glukozamina i 2-amino-2-deoksy-D-glukoza. Obecność silnie zasadowych I-rzędowych grup aminowych powstałych w reakcji hydrolizy grup amidowych chityny powoduje znacznie ułatwioną rozpuszczalność produktu w środowisku kwaśnym. Z uwagi na dobre właściwości bioaktywne i dobrą rozpuszczalność w rozcieńczonych wodnych roztworach kwasów organicznych chitozany o różnych stopniach acetylacji oraz ciężarach cząsteczkowych są produkowane w znacznej ilości i różnych formach użytkowych.

Ocenia się, iż światowa produkcja chitozanu osiągnęła poziom 13,7 tys. ton w roku 2010, a planowany poziom 21,4 tys. ton zostanie osiągnięty w 2015 roku [53].

Właściwości fizyczne tego polimeru zależą najczęściej od: struktury nadcząsteczkowej oraz budowy chemicznej, które wiążą się z podatnością chitozanu do biodegradacji. Wśród wielu metod modyfikacji chitozanu na największą uwagę zasługuje modyfikacja fizykochemiczna, która prowadzi do otrzymania mikrokrystalicznego chitozanu [54]. Występuje tutaj zmiana właściwości chitozanu, prowadząca do pozyskania nowych, specjalnych właściwości. W tej modyfikacji wykorzystuje się procesy, takie jak: zobojętnianie, koagulacja czy agregacja makrocząsteczek glukozaminy. Mikrokrystaliczny chitozan występuje w postaci proszku lub zawiesiny i charakteryzuje się właściwościami, takimi jak np.:

- wysoka wartość wskaźnika wtórnego pęcznienia (WRV),
- zdolnością do tworzenia błon polimerowych bezpośrednio z zawiesiny,
- niezwykle wysoką adhezyjnością,
- kontrolowaną biodegradowalnością,
- dużą reaktywnością chemiczną,
- bardzo dobrą mieszalnością z wieloma substancjami, w tym z innymi polimerami.

Mikrokrystaliczny chitozan charakteryzuje się cenniejszymi właściwościami od chitozanu wyjściowego przy równoczesnej znacznie wyższej bioaktywności i zdolności do biodegradacji. Tak zmodyfikowany chitozan może znaleźć zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu: do wytwarzania opatrunków na rany i oparzenia, nośników preparatów o kontrolowanym działaniu, ekologicznych środków ochrony roślin przed wirusami, środków impregnacyjnych oraz przeciwdziałających rozwojowi mikroorganizmów, środków do czyszczenia wody pitnej oraz wielu innych [55].

Duże zasługi w opracowaniu metody otrzymywania polskiego mikrokrystalicznego chitozanu oraz badaniu jego właściwości odniósł prof. Henryk Struszczyk.

4.5.2. Estryfikacja chityny

Estryfikacja grup hydroksylowych chityny wydaje się być jedną z wielu dróg, prowadzącą do uzyskania nowych pochodnych chityny o zmienionych właściwościach fizyko-chemicznych.

Kurita [7] przedstawił możliwość otrzymywania acetylochityny w procesie estryfikacji chityny bezwodnikiem octowym przy zastosowaniu mieszaniny kwasu trójchlorooctowego i 1,2-dichloroetanu jako dobrego rozpuszczalnika chityny. Jednakże zaproponowany układ rozpuszczalnikowy o właściwościach mocnych kwasów również powoduje znaczną degradację użytej chityny.

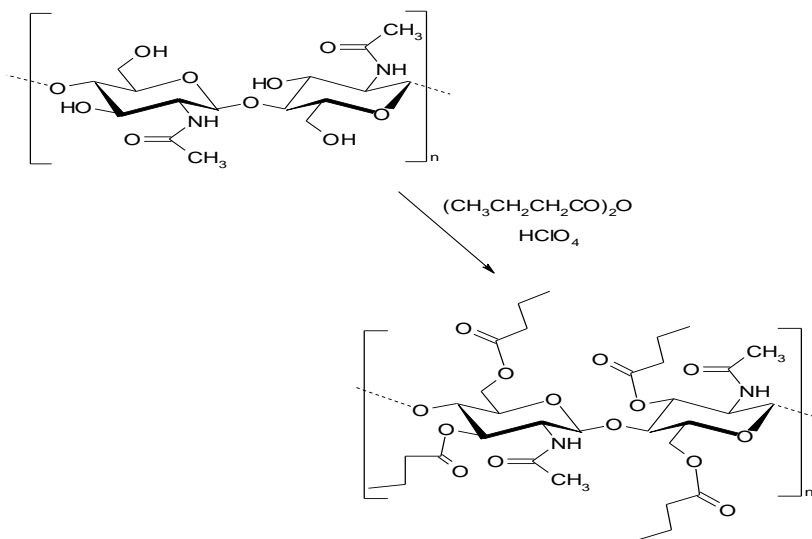
Innymi możliwymi katalizatorami reakcji estryfikacji grup hydroksylowych chityny jest układ zaproponowany przez Bourne [56], składający się z kwasu trójfluorooctowego i odpowiedniego kwasu organicznego. Taki katalizator został wykorzystany do otrzymania serii monoestrów chityny i kopoliestrów chityny. Głównym składnikiem otrzymanych pochodnych była pochodna kwasu octowego – acetylochityna. Dalsze prace pokazały, że istnieje również możliwość uzyskania tą metodą pochodnej butyrylowej, heksanonianowej, oktanonianowej. Reakcja była prowadzona w temperaturze 70°C. Po upływie 30 min, stosując ten typ katalizatora dla użytych układów estryfikujących, mieszanina reakcyjna stawała się homogeniczna. Dokonano również syntez kopoliestrów acetylobutyrylowych, acetyloheksanonianowych, acetylooktanonianowych i acetylopalmitynowych. Monoestry i kopoliestry uzyskane tym sposobem charakteryzowały się masami molowymi w granicach od 30 do 150 kDa i stopniem estryfikacji w zakresie od 1,0 do 2,0 w zależności od użytych kwasów [57].

Zmodyfikowany układ katalizatora opartego na kwasie trójfluorooctowym zaproponował Bhatt. Do bezwodnika kwasu trójfluorooctowego wprowadził dodatkowo kwas ortofosforowy. Układ ten pozwolił uzyskać estry chityny kwasów alifatycznych, takich jak: kwasu masłowego [58], kwasów cykloalkilowych w tym cyklopropylowego, cyklobutyłowego, cyklopentylowego, cykloheksylowego [59] oraz kwasów aromatycznych [60]. Uzyskane pochodne butyrylowe charakteryzowały się wysokimi stopniami estryfikacji rzędu 2

w zależności od użytego nadmiaru kwasu masłowego. Natomiast pochodne cykloalkilowe charakteryzowały się stopniem estryfikacji w zakresie 1,1-1,4.

Inną metodą chemicznej modyfikacji chityny jest estryfikacja prowadząca do uzyskania karboksymetylochityny. Metoda ta, oparta na estryfikacji kwasem monochlorooctowym wcześniej obrobionej wodorotlenkiem sodowym chityny, prowadzi do uzyskania pochodnej rozpuszczalnej w wodzie [61]. Wprowadzenie grup metoksylowych kwasu octowego powoduje rozluźnienie struktury nadcząsteczkowej chityny, natomiast wprowadzenie grup karboksylowych skutkuje polepszeniem hydrofilności makrocząsteczki. Wodorozpuszczalną pochodną uzyskano również, stosując kwas monochloropropionowy [62].

W Katedrze Chemii Fizycznej Polimerów Politechniki Łódzkiej opracowano oryginalną metodę otrzymywania łatwo rozpuszczalnej dwu-podstawionej estrowej pochodnej chityny – dibutyrylochityny (DBC) [63]. DBC jest polimerem rozpuszczalnym w typowych rozpuszczalnikach organicznych, takich jak: alkohole, aceton, DMF, DMSO i posiada właściwości błono- i włóknotwórcze. Proces estryfikacji chityny bezwodnikiem masłowym jest prowadzony w układzie heterogenicznym w temperaturze otoczenia. Stosując mieszaninę bezwodnika masłowego (BM) i kwasu nadchlorowego HClO_4 w stosunku molowym $\text{BM}/\text{HClO}_4/\text{chityna}=4:1:1$ po 3 godzinach prowadzenia reakcji, otrzymano pochodną z pełnym podstawieniem grup hydroksylowych zgodnie z rysunkiem 4.1.



Rysunek 4.1. Schemat syntezy dibutyrylochityny

Produkt o pełnym podstawieniu oczyszczano metodą roztworowo-strącaniową, rozpuszczając DBC w rozpuszczalniku organicznym, mieszającym się z wodą, i wytracając wodą z roztworu czysty polimer. Przedstawiona procedura

pozwała po wysuszeniu osadu otrzymać produkt o dobrych właściwościach błono- i włóknotwórczych [64].

W literaturze naukowej z roku 1995 opisano syntezę mieszanych butyrylowo-acetylowych estrów chityny [65], prowadzoną w warunkach homogenicznych w kwasie metanosulfonowym przy użyciu nadmiaru bezwodników kwasu octowego i masłowego. Reakcję prowadzono w temperaturze 0-5°C, a następnie w ciągu 12 godzin w -20°C. Otrzymano słabo rozpuszczalne produkty o niskich stopniach estryfikacji od 1,0 do 1,5 i niskich wartościach lepkości właściwej (od 0,17 do 0,28 dL/g), oznaczonej w bezwodnym kwasie mrówkowym. Praca miała charakter czysto badawczy i miała na celu ustalenie budowy chemicznej i termicznych właściwości produktów, otrzymanych w ilości około 4 g z wydajnością około 70%.

W zespole Katedry Chemii Fizycznej Polimerów Politechniki Łódzkiej, niezależnie od ww. doniesienia, również prowadzono prace badawcze związane z otrzymywaniem mieszanych estrów chityny [66]. Syntezę prowadzono według oryginalnej metody w warunkach heterogenicznych w 20-25°C, stosując kwas nadchlorowy, jako katalizator procesu oraz mieszaninę bezwodników kwasu masłowego i octowego, użytych w stosunku równo molowym, jako środka acylującego. Otrzymano produkty z wydajnością od 82 do 89% rozpuszczalne w DMF, DMSO i NMP, charakteryzujące się wysoką masą molową (lepkość istotna tych produktów oznaczona w DMF była na poziomie 2,0-2,05 dL/g) oraz wysokim stopniem estryfikacji. Budowa chemiczna otrzymanych produktów była badana metodą analizy elementarnej. Wyniki tych prac były prezentowane na V Seminarium Polskiego Towarzystwa Chitynowego w Poznaniu w roku 1998 i opublikowane w monografii „Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives”, t. V, 1999 r. [67].

4.6. Wytwarzanie włókien i innych form użytkowych z dibutyrylochityny

Dobra rozpuszczalność DBC w łatwo dostępnych rozpuszczalnikach stwarza możliwość przetworzenia jej w formy, umożliwiające praktyczne zastosowanie tej pochodnej chityny. Szczególną zaletą wyrobów z dibutyrylochityny jest możliwość przetworzenia ich w wyroby chitynowe bez naruszenia formy produktu. Regeneracja chityny w wyrobach z DBC jest dokonywana w wyniku reakcji hydrolizy zasadowej polimeru, prowadzonej w łagodnych warunkach w środowisku alkalicznym.

Do formowania włókien z DBC stosowano różne techniki przedzenia, używając do sporządzania roztworu przedzalniczego różnych rozpuszczalników organicznych.

Pierwsze próby formowania włókien z DBC wykonano w roku 1995 metodą przedzenia włókien na sucho (dry spinning method) z ponad 20% roztworów DBC w acetonie [64]. Roztwór taki, przeciśnięty pod ciśnieniem przez dyszę

przędzalniczą, był kierowany do pionowego ogrzanego kanału, a wysuszone od acetonu włókna nawijano na wałek odbierający. Otrzymano nieporowate włókna o masie liniowej rzędu 15 dtex, wytrzymałości około 8 cN/tex i wydłużeniu przy zerwaniu do 39% w zależności od masy molowej DBC.

Opracowano również formowanie włókien z dibutyrylochityny tradycyjną metodą mokrego przędzenia, wykonywanego na typowej aparaturze stosowanej do formowania włókien wiskozowych. Roztwory przędzalnicze o stężeniu od 16 do 20% DBC sporządzano w DMF, zestalanie i rozciąganie włókien realizowano w kąpielach wodnych. Otrzymano mikroporowate włókna o masie liniowej od 1,24 do 3,5 dtex, wytrzymałości od 14,8 do 19,2 cN/tex i wydłużeniu przy zerwaniu do 7,4% w zależności od masy molowej DBC [68]. Metoda ta została opatentowana [69]. Stosując metodę mokrego przędzenia, uformowano włókna z DBC z różnych roztworów przędzalniczych: z roztworów w etanolu, DMF, DMSO i NMP [80] o różnych właściwościach i różnej porowatości.

Sucho-mokry sposób formowania włókien z DBC opisano w roku 2007 [70]. Według tego sposobu roztwory przędzalnicze o stężeniu od 15 do 25% sporządzano w etanolu, podgrzewano do 60°C i wyciskano przez dyszę przędzalniczą. Następnie nie w pełni zestalone włókno wprowadzano do kąpieli wodnej, gdzie następowało jego całkowite zestalanie. Włókno nawijano na bębny, rozciągano i suszono. Otrzymano mikroporowate włókno DBC o masie liniowej od 1,7 do 5,6 w zależności od stężenia użytego roztworu przędzalniczego.

Włókna z DBC wytworzone metodą mokrego przędzenia były wykorzystane, jako surowiec do wytwarzania włókien. Technikę wytwarzania włókien z DBC opracowano w Katedrze Metrologii Włókienniczej Politechniki Łódzkiej w końcu lat 90. XX w [71]. Włókno w postaci kabła było cięte na odcinki o długości 6 cm, z których wytwarzano runo systemem mechanicznym na zgrzeblarkach, a następnie przeprowadzano łączenie włókien w runie techniką igłowania i kalandrowania. Włóknina taka w postaci wysterylizowanych opatrunków o rozmiarach 5 x 5 cm została z powodzeniem użyta w badaniach klinicznych [72].

Metoda wytwarzania opatrunków z DBC i z chityny regenerowanej z DBC jest przedmiotem zgłoszenia patentowego PL 367163 (2004), dokonanego przez Politechnikę Łódzką [73].

Włókninowe materiały z DBC otrzymano również, stosując technikę elektroprzędzenia w polu elektrostatycznym bezpośrednio z roztworu polimeru w etanolu o stężeniu od 5 do 10% lub technikę natrysku tego roztworu [74,75]. Otrzymane wyroby o strukturze siatki wykazały dobre właściwości biologiczne.

Z udziałem ciągłych włókien z DBC utworzonych metodą mokrego przędzenia wykonano prototypowe implanty siatkowe przy zastosowaniu techniki dziewiarskiej [76].

Dibutyrylochitynę z powodzeniem użyto do formowania mikrosfer o wymiarach kulek od 5 do 45 μm , stosując metodę „suszenia emulsji” [63]. 10% roztwór DBC w metanolu (faza rozproszona emulsji) przy intensywnym mieszaniu wkrapłano do oleju silikonowego zawierającego rozpuszczony środek

powierzchniowoczynny (faza ciągła emulsji), a po usunięciu rozpuszczalnika pod próżnią przy ciągłym mieszaniu otrzymano zestalone mikrosfery, które odmywano od oleju silikonowego n-heptanem i suszono. Mikrosfery zastosowano jako nośniki substancji leczniczych i zbadano kinetykę ich wydzielania.

Dibutyrylochitynę zastosowano z powodzeniem do wstępnych prób wytworzenia scaffoldów metodą odparowania rozpuszczalnika z układu dwufazowego roztwór polimeru – sól nieorganiczna o odpowiednich wymiarach ziarna [77].

4.7. Zastosowanie chityny i jej pochodnych do wytwarzania wyrobów medycznych

Chityna i jej pochodne w postaci kopolimerów znalazły zastosowanie w następujących wyrobach medycznych: sztuczne ścięgna, więzadła, opatrunki, siatki urologiczne i chirurgiczne. Materiały otrzymane z chityny i jej pochodnych są: biokompatybilne, biodegradowalne, wykazują aktywność hemostatyczną, antybakteryjną, przyspieszają proces gojenia się ran oraz charakteryzują się niskim kosztem wytwarzania. [78,79]. Poza chityną, która jest substancją trudno rozpuszczalną i dla rozpuszczania której konieczne jest stosowanie np. silnie agresywnych substancji bądź ograniczonej ilości rozpuszczalników organicznych, podjęto prace nad substancjami, które zachowują właściwości biologiczne chityny, wykazując jednocześnie zmodyfikowane właściwości fizyczne i chemiczne, w tym lepszą rozpuszczalność w rozpuszczalnikach organicznych. Do takich pochodnych należą: częściowo deacetylowana chityna w postaci chlorowodoru, chitozanu, połączenia chitozanu i alginianów bądź chitozanu i kwasu hialuronowego oraz dibutyrylochityna.

Częściowo deacetylowany chlorowodorek chityny posiada interesującą właściwość przechodzenia w stan żelu pod wpływem wody czy też po kontakcie z płynami tkankowymi (wysięk z rany, krew). Prowadzone są badania, czy wykazuje on właściwości biologiczne podobne do właściwości chityny. Stwierdzono, że chlorowodorek chitozanu pochłania krew, powoduje uwalnianie substancji działających prozakrzepowo, jak np. beta tromboglobulina i czynnik płytek nr 4. Ponieważ dodatkowo wykazuje działanie nasilające proces gojenia się ran, jest on rozpatrywany jako potencjalny materiał hemostatyczny [80,85].

Chitozan, zawierający grupy aminowe obok grup amidowych, jest znacznie bardziej reaktywny chemicznie i lepiej rozpuszczalny od chityny. Ujemną stroną chitozanu w porównaniu z chityną jest jego mniejsza biokompatybilność, wywołana mniejszą zawartością wiązań amidowych, które naturalnie występują np. w białkach organizmu zwierzęcego.

Chitozan, zawierający wolne grupy aminowe, tworzy sole z kwasami organicznymi i nieorganicznymi, które są rozpuszczalne w wodzie [83]. Chitozan o stopniu deacetylacji 75% w postaci wyrobu o grubości 10 μm został skutecznie zastosowany jako materiał opatrunkowy oraz jako materiał zastępujący skórę. Postęp procesu gojenia rany oceniano histologicznie i klinicznie [84]. Świąd

i wrażliwość na ból były oceniane za pomocą skali analogii wizualnej. Stwierdzono, że proces gojenia postępował szybciej w ranach pokrytych chitozanem niż dostępnym w sprzedaży opatrunkiem Bactigras [84].

Znane są również opatrunki złożone z chitozanu i kwasu hialuronowego. Z obu materiałów uformowano film o wysokiej przejrzystości. Stwierdzono, że opatrunek z kwasu hialuronowego i chitozanu przyspiesza proces gojenia rany [81].

Chitozan był również łączony z kompleksem polielektrolitowym soli kwasu alginowego. W porównaniu z konwencjonalnymi opatrunkami opatrunek złożony z chitozanu i soli kwasu alginowego okazał się bardziej skuteczny w leczeniu ran u zwierząt doświadczalnych. Stwierdzono, że zamknięcie rany następowało w 14 dniu po operacji, zaś wyniki badań histologicznych wykazały zróżnicowaną strukturę naskórka z warstwą zrogowaciałą o normalnej grubości. W 21 dniu po operacji nastąpiła bardzo wydajna faza remodelowania rany ze zorganizowanymi i grubszymi włóknami kolagenu oraz zróżnicowanymi fibroblastami. W opatrunku kontrolnym w 21 dniu po operacji stwierdzono nadal fazę zapalną pod zastalonym wysiękiem z rany. Nie stwierdzono efektu cytotoksycznego, jednak opatrunki zawierające alginiany powinny być dokładnie przebadane pod względem zawartości endotoksyn [82].

Zbliżonym do chityny, jednak zupełnie innym pod względem pochodzenia materiałem, jest sacchachitin, otrzymywany z grzyba huby (*Ganoderma tsugae*), rosnącego na pniach drzew [85]. Badania cytotoksyczności, immunogenności i odpowiedzi alergicznej wykazały, że materiał ten jest odpowiedni dla zastosowania jako warstwa aktywna opatrunku. Efekty cytotoksyczne pojawiają się przy stężeniach 0,1% i większych, niższe stężenia nie są cytotoksyczne. Produkt posiada porównywalne właściwości promowania gojenia ran jak znany na rynku Beschitin, otrzymany w Japonii z chityny kraba na początku lat 80. XX wieku.

Perspektywnym biologicznie czynnym materiałem pochodzenia chitynowego jest dwupodstawiony ester chityny – dibutyrylochityna (DBC).

W pracach dotyczących badań właściwości biologicznych DBC stwierdzono, że polimer ten nie wykazuje cytotoksyczności, efektu drażniącego, jest biozgodny i spełnia wszystkie wymagania normy PN-EN ISO 10993 (Biologiczna ocena wyrobów medycznych) przy wykazanym efekcie przyśpieszania gojenia się ran [86-101]. Włókninowe opatrunki wytworzone z DBC zostały klinicznie przebadane w latach 2003-2005 w Klinice Chirurgii i Urologii Dziecięcej Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi na ranach oparzeniowych, pourazowych, pooperacyjnych oraz szeregu innych [102]. Badania te wykazały samoistne działanie tych opatrunków jako przyśpieszających gojenie się ran z wytworzeniem zdrowego naskórka bez blizny. W trakcie leczenia opatrunek ulegał powolnej biodegradacji i resorpcji do całkowitego jego zaniku, co eliminowało bolesną operację jego zmiany. Odnotowano również samoistne anty-bólowe działanie opatrunku [103,104].

5. KOMPOZYTY POLIMEROWO-WŁÓKNISTE JAKO BIOMATERIAŁY STOSOWANE W REGENERACJI TKANKI KOSTNEJ

Rozwój nowoczesnej implantologii stymuluje poszukiwanie nowych, coraz to doskonalszych biomateriałów spełniających wyższe kryteria, lepiej dostosowanych do roli jaką mają spełniać w organizmie.

Doprecyzowaniu i udoskonaleniu uległa definicja biomateriału, jak i zmodyfikowano cechy, jakimi powinny się odznaczać poszczególne grupy biomateriałów. Aktualnie pod ogólnym pojęciem biomateriału rozumiany jest materiał przeznaczony do współistnienia z biologicznymi systemami, przeznaczony do leczenia, diagnozowania, poprawiania lub zastąpienia częściowego lub całkowitego tkanki narządu, lub spełnienia ich funkcji w organizmie [105]. Zaostrzenie kryteriów stawianych poszczególnym grupom biomateriałów było możliwe w wyniku ogólnego rozwoju nauki, metod instrumentalnych stosowanych do charakterystyki biomateriałów oraz współpracy interdyscyplinarnych zespołów badawczych. Od pierwszej generacji biomateriałów wymagano, aby oprócz spełniania zaplanowanej funkcji biologicznej były obojętne w stosunku do otaczających je tkanek, tzn. aby nie wywoływały niekorzystnych reakcji w organizmie, takich jak działanie alergizujące, kancerogenne, trombogenne, ani nie wykazywały toksyczności. Kryteria te spełniają stosowane w ortopedii implanty metaliczne, w szczególności tytanowe. W tej grupie biomateriałów, Błazewicz i Stoch [105] uogólniając ich specyficzne właściwości oraz włączając do rozważań poziom struktur submolekularnych i bioelektronicznych, wyróżnili następujące cechy jakimi powinny odznaczać się biomateriały metaliczne. Powinny one wykazywać zdolność bioelektroniczną (rozumianą jako odpowiednie właściwości półprzewodnikowe, piezoelektryczne i magnetyczne), która minimalizować będzie niekorzystną inicjację; rozwój procesów korozyjnych, a w konsekwencji niekorzystnych reakcji w organizmie. Biomateriały metaliczne powinny także wykazywać zespół właściwości zapewniających bezpieczną i niezawodną współpracę układu implant-tkanka-płyn ustrojowy, w którym realizowany będzie biofizyczny mechanizm przenoszenia obciążeń. Zdaniem Marciniaka, w takim zdefiniowaniu cech w grupie biomateriałów metalicznych, zostały uwzględnione czynniki biochemiczne, biomechaniczne i bioelektroniczne [106]. Rzutują one bezpośrednio na zachodzące w organizmie procesy metaboliczne, bakteriologiczne i onkogeniczne. Powinna być zachowana funkcjonalna jedność układu implant-tkanka-płyn ustrojowy, a właściwości fizyko-chemiczne biomateriałów powinny być odmienne od dotychczas przyjmowanych. Biomateriały wszystkich grup powinny przede wszystkim wykazywać biogodność. Aktualnie przez biogodność rozumiana jest zdolność materiału do spełniania zadania lub określonych funkcji biologicznych z akceptowalną odpowiedzią gospodarza [107]. Oznacza to, iż jego oddziaływanie z tkanką, z którą pozostaje w kontakcie, powinno wykazywać pozytywny efekt.

Biomateriały drugiej generacji, obejmujące głównie materiały przeznaczone do regeneracji tkanki kostnej, określane były mianem bioaktywnych. Wykazują one zdolność powierzchni do przylegania bezpośrednio do tkanki, przeważnie bez tworzenia warstwy pośredniej. Największe znaczenie ma ceramika hydroksyapatytowa, ceramika whitlockitowa (TCP), bioaktywne szkła oraz materiały szkło-ceramiczne. Cechą charakterystyczną tych materiałów jest zdolność do łączenia się z tkanką kostną bądź inicjowanie jej wzrostu. Bioceramika hydroksyapatytowa uważana jest za materiał osteokondukcyjny. Jej skład chemiczny i struktura umożliwiają tworzenie nowej kości w obrębie już istniejącej. W zależności od budowy krystalicznej HAp powstawanie nowej kości in situ przebiega równolegle z procesami resorpcyjnymi. Nawet wówczas, gdy pojawi się otoczka okołointplantowa to z uwagi na bioaktywny charakter materiału i jego dużą biozgodność jest ona cienka i zwykle nieciągnąca. Bioceramika whitlockitowa – β -TCP pod względem biozgodności dorównuje hydroksyapatytowej i zaliczana jest także do materiałów bioaktywnych, wykazuje jednak wyższe rozpuszczalności i po wszczępieniu do żywego organizmu wyższy stopień resorpcji. Jeżeli jednak proces resorpcji będzie zachodził szybciej niż przebiega tworzenie się kości, może to utrudniać powstawanie wiązań na granicy implant-kość. Duże znaczenie w implantologii mają materiały kompozytowe, w których obok HAp bądź TCP znajdują się inne fazy nadające takiemu biomateriałowi lepsze właściwości mechaniczne. Fazę stanowią przeważnie różnego rodzaju polimery. Do grupy biomateriałów omawianej generacji zaliczane są także polimery bioresorbowalne zarówno pochodzenia naturalnego, jak i syntetyczne, takie jak np. poliglikolid, polilaktyd, bądź ich kopolimery lub kaprolakton. Ich cechą charakterystyczną jest to, iż w środowisku tkankowym ulegają hydrolizie i rozpadowi do związków występujących w żywych komórkach. Związki te wchodzą następnie w cykl przemian metabolicznych i usuwane są z organizmu. Wymogi stawiane polimerom biomedycznym stają się coraz bardziej rygorystyczne. Wymogi te odnoszą się nie tylko do procesu otrzymywania polimerów i ich przetwarzania na wyroby końcowe, ale także do monomerów, które powinny być wysokiej czystości. Proces syntezy musi być powtarzalny, a struktura chemiczna i molekularna polimeru nie powinny ulegać zmianom w wyniku przetwarzania i sterylizacji. W zależności od przeznaczenia i funkcji, jaką mają spełniać w organizmie polimery biomedyczne muszą odznaczać się określonymi właściwościami. O zastosowaniu implantów polimerowych w ortopedii i chirurgii urazowej decyduje optymalny moduł Younga, wysoka wytrzymałość na rozciąganie i zginanie, odporność zmęczeniowa, odporność na zużycie ścieranie oraz wysoka udarność. W zastosowaniach polimerów jako składnika kompozytów, a także kompozytów polimerowo-włóknistych często pożądana jest ich bioresorbowalność oraz zdolność do procesów biodegradacji.

Inne i jeszcze wyższe wymagania są stawiane biomateriałom trzeciej generacji, które pełnią rolę struktur podporowych nazywanych rusztowaniami,

nośnikami, matrycami lub skafoldami [108]. Podczas projektowania tego rodzaju materiałów należy uwzględnić fakt, iż powinny one wykazywać aktywność biologiczną. Oznacza to, że na poziomie molekularnym powinny reagować w pożądanym ściśle określony i zaprogramowany sposób z białkami i komórkami. Wymagania odnośnie powierzchni są ściśle sprecyzowane. Powinna być ona odpowiednio ukształtowana, tak aby było możliwe przekazywanie informacji pomiędzy komórkami w sposób analogiczny jak w żywej tkance. Materiały takie muszą także wykazywać odpowiednią budowę przestrzenną oraz strukturę porowatą o zróżnicowanej porowatości. Ich struktura musi umożliwić prawidłową regenerację tkanek o właściwościach tkanek pierwotnych. Najważniejszą funkcją biomateriałów najnowszej generacji jest więc stymulowanie regeneracji odpowiednich tkanek i ich wzrostu [109-112].

Do grupy materiałów najnowszej generacji zaliczyć można także kompozyty polimerowo-włókniste wytworzone z udziałem dwóch różnych polimerów o różnym czasie resorpcji. Koncepcja budowy oraz działania takiego kompozytu była przedmiotem niniejszej pracy realizowanej w ramach projektu rozwojowego N R08 0017 06. Składnik włóknisty tego kompozytu stanowiły włókna z nowego tworzywa – kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny zawierające dodatkowo ceramiczne nanododatki HAp bądź TCP. Istotnym argumentem za zastosowaniem takich włókien w kompozycie jest możliwość nadania układowi dodatkowych cech związanych ze specyficznymi właściwościami tworzywa włókien. Kopolioester ten, wykazuje bowiem zdolność do przyspieszania procesu gojenia się ran, a obecne w włóknach nanododatki działają będą stymulująco na proces wzrostu tkanki kostnej. W wyniku hydrolizy kopoliestru wydzielają się reszty kwasu masłowego, których obecność może prowadzić do lokalnego pobudzenia systemu immunologicznego w otoczeniu materiału implantacyjnego [124]. Natomiast reszty kwasu octowego stanowią czynnik trombogeny. Korzystny jest również fakt, iż zachodzący pod wpływem enzymów proces degradacji tworzywa włókien przebiega do wytworzenia glukozamidów, czyli cukrów prostych łatwo przyswajalnych przez organizm.

Włókniste materiały kompozytowe, zgodnie z ich definicją i sformułowaniem prezentowanym w monografii [107] należą do grupy materiałów, które ze względu na podobieństwo budowy i właściwości do niektórych żywych tkanek mogą spełniać rolę implantów zdolnych do ich zespolenia, wypełnienia lub zastępowania. Możliwość otrzymania przestrzennych wielokierunkowych podłoży warunkuje ich przydatność w inżynierii tkankowej do sterowanej regeneracji tkanek. Zastosowanie tego typu kompozytów w ortopedii do spełnienia funkcji biomechanicznych jest związane z dobrymi właściwościami mechanicznymi tego typu kompozytów umożliwiającymi ich działania jako implantów przenoszących naprężenia. W materiale kompozytowym o jednokierunkowym ułożeniu włókien, za przenoszenie naprężeń odpowiedzialny jest składnik włóknisty, o wyższej wytrzymałości w porównaniu do matrycy, która spełnia rolę spoiwa oraz przenosi naprężenia. Istnieje także możliwość mode-

lowania i odpowiedniego programowania struktur zarówno jednokierunkowych, jak i wielokierunkowych. Można w ten sposób decydować zarówno o kierunkach przenoszenia naprężeń i oddziaływaniu ze środowiskiem biologicznym [113,114].

Spełnienie przez kompozyt funkcji biomechanicznych jest uwarunkowane właściwościami mechanicznymi oraz jego zachowaniem biologicznym. O właściwościach mechanicznych kompozytu polimerowo-włóknistego decyduje rodzaj tworzywa włókien, ich udział ilościowy, adhezja na granicy faz oraz orientacja włókien w kompozycie. Za zachowanie biologiczne całego materiału kompozytowego odpowiadają zarówno właściwości chemiczne tworzywa włókien, jak i stosowanej matrycy polimerowej. Istotne znaczenie ma także adhezja na granicy faz składnik włóknisty-matryca polimerowa. Kompleks tych czynników jest odpowiedzialny za biokompatybilność i biogodność kompozytu polimerowo-włóknistego. Adhezja występująca na granicy faz: materiał implantacyjny-komórki tkanki oraz procesy biologiczne zachodzące w tej przestrzeni są uzależnione od topografii powierzchni oraz jej składu chemicznego. Dotychczas nie ustalono jednoznacznych kryteriów, które opisują optymalne cechy powierzchni ze względu na wzrost i proliferację określonego typu komórek [115]. Problem ten jest zarówno istotny w przypadku stosowanych materiałów tytanowych, jak również w odniesieniu do kompozytów polimerowych [116] bądź polimerowo-włóknistych. W tym ostatnim przypadku decydująca jest także adhezja na granicy faz polimer-włókna, możliwość występowania wiązań drugorzędowych pomiędzy obydwooma składnikami oraz topografia powierzchni składnika włóknistego kompozytu. Od dobrego „zespolenia” obu składników uzależnione są również właściwości wytrzymałościowe całego materiału. Natomiast podstawowym czynnikiem decydującym o właściwościach sprężystych kompozytu jest sposób ułożenia składnika włóknistego. W zależności od sposobu ułożenia dla kompozytów wytworzonych z udziałem włókien węglowych moduł Younga może się zmieniać w szerokich granicach od 1 do 300 GPa. Najniższa wartość modułu Younga, do 10 GPa, obserwowana jest w przypadku rozproszenia włókien odcinkowych w matrycy – typ MD. Ułożeniu przestrzennemu typu 3D odpowiadają wartości rzędu 10-20 GPa, a najwyższym poziomem w granicach 50-300 GPa odznaczają się kompozyty o jednokierunkowym ułożeniu fazy włóknistej. Wartość ta okazuje się jednak zbyt wysoka, podobnie jak w przypadku materiałów konwencjonalnych, takich jak metale (o wysokiej wytrzymałości i module). Tworzywa ceramiczne wykazują natomiast zbyt niskie wartości obu tych wskaźników. Właściwą kombinację (zgodnie z przeznaczeniem materiału implantacyjnego do regeneracji tkanki kostnej) takich właściwości mechanicznych, jak: wysoka wytrzymałość, dobra odporność na pękanie oraz niski, zbliżony do kości, moduł sprężystości zapewnić mogą tylko materiały kompozytowe włóknisto-polimerowe. Znaczącą rolę odgrywają przy tym kompozyty węgiel-węgiel oraz kompozyty włókna węglowe-polimer. Ich podstawową zaletą jest zdolność do tworzenia połączeń z tkanką kostną.

Oprócz chropowatości powierzchni i jej rozwinięcia czynnikiem decydującym o zespoleniu implantu i przerastaniu tkanką kostną jest struktura porowata implantu [117-119]. Możliwość regulowania porowatości włókien węglowych stwarza odpowiednio ukierunkowana modyfikacja sposobu wytwarzania włókien prekursorowych [121-123], skutkująca zwiększeniem porowatości oraz wytworzeniem struktury makroporowatej przy zachowaniu właściwości odpowiednich dogodnych do dalszego ich przetwarzania w procesie karbonizacji. Istotną zaletą, stanowiącą o przewadze kompozytów polimerowo-włóknistych nad innymi typami biomateriałów stosowanych w implantologii jest możliwość różnorodnych kombinacji zarówno rodzaju polimeru (pod względem jego budowy chemicznej oraz właściwości) jak również odpowiedniego doboru tworzywa włókien. Odpowiedni dobór uzależniony od przeznaczenia oraz właściwa konstrukcja umożliwia także dużą różnorodność materiałów kompozytowych wzmacnianych fazą włóknistą. Ich konstrukcja może być jednowarstwowa bądź wielowarstwowa – w przypadku stosowania jako fazy włóknistej laminatów, włóknin bądź materiałów hybrydowych. Kompozyty jednowarstwowe mogą być wzmacniane włóknami ciągłymi bądź odcinkowymi. Zastosowanie włókien ciągłych prowadzi do uzyskania kompozytów wzmocnionych jedno bądź dwukierunkowo. Zastosowanie fazy włóknistej w postaci włókien odcinkowych jest związane z reguły z przypadkowym ich ułożeniem w matrycy polimerowej. Możliwe jest jednak uzyskanie założonej orientacji fazy włóknistej.

Do zalet kompozytów polimerowo-włóknistych zaliczyć należy także możliwość nadawania im sterowanej porowatości w wyniku działania środków porotwórczych. Charakter porowatości oraz obecność por o zróżnicowanych rozmiarach jest czynnikiem warunkującym prawidłowy wzrost tkanki kostnej.

Zastosowanie nanotechnologii w wytwarzaniu kompozytów polimerowo-włóknistych stwarza dalsze możliwości modyfikacji ich właściwości. Efekt zwiększenia funkcyjności kompozytu jest związany z wprowadzeniem do składnika włóknistego (w procesie jego wytwarzania) różnego typu bioaktywnych nanododatków. Tworzywem takich nanokompozytowych włókien są przeważnie polimery biodegradowalne. Efekt zróżnicowanej porowatości można uzyskać także poprzez stosowanie jako składnika włóknistego nanowłókien otrzymanych metodą elektroprzędzenia. Sterowanie parametrami procesu ich wytwarzania umożliwia nadanie włókninie założonej porowatości, wynikającej z przestrzeni pomiędzy nanowłóknami o zróżnicowanej średnicy.

Przykładem kompozytów polimerowo-włóknistych wykazujących cechy wielofunkcyjności, w których jako składnik włóknisty wykorzystano włókna alginianowe zawierające ceramiczne nanododatki jest kompozyt uzyskany na ich bazie oraz poli (ϵ -kapolaktonu) jako matrycy polimerowej. Oryginalna konstrukcja takiego kompozytu oraz mechanizm jego działania został podany w pracy [119]. Kompozyt ten odznaczał się dwuzakresową porowatością powstającą w wyniku wcześniejszej resorpcji składnika włóknistego (odpowiadającą

średnicy stosowanych włókien oraz ich skupisk) oraz porowatością wynikającą ze struktury włókien alginianowych.

Możliwe jest także nadanie porowatości matrycy kompozytu wykonanej na przykład z PGLA w wyniku działania środków porotwórczych bądź stosowania różnych innych technik. Rusztowanie trójwymiarowe typu 3D metodą spieniania gazem na bazie nanokompozytowych włókien alginianowych oraz PGLA uzyskano w efekcie badań zrealizowanych w pracy [113].

Działanie kompozytu opisane w pracy [119] polegające na inicjowaniu i przyspieszaniu procesu wzrostu komórek kostnych było związane z obecnością we włóknach alginianowych takich nanododatków, jak: HAp, TCP, krzemionka, bioszkieło o zróżnicowanym działaniu osteokonduktywnym. Z obecnością montmorylonitu wiązała się możliwość: wzrostu właściwości wytrzymałościowych kompozytu, zwiększenia porowatości włókien oraz wpływu na czas biodegradacji.

Skuteczność działania takiego kompozytu polimerowo-włóknistego została potwierdzona w warunkach *in vitro*. Stwierdzono prawidłowy wzrost komórek kostnych. Zaletą uzyskanego w pracy [123] biokompozytu polimerowo-włóknistego jest także możliwość wpływania na rodzaj jego powierzchni oraz modyfikowania całej jego objętości, czyniąc go atrakcyjnym biologicznie. Kompozyt przedstawiony w pracy [119] spełnia warunki nowej generacji wielofunkcyjnego materiału implantacyjnego przeznaczonego do regeneracji tkanki kostnej.

6. CEL PRACY JEJ HIPOTEZA I PROGRAM PRACY

Modyfikacja chemiczna polimerów na drodze reakcji bocznych grup funkcyjnych polimerów wzbudza duże zainteresowanie w literaturze naukowej ze względu na możliwość kreowania nowych materiałów polimerowych niemożliwych do uzyskania na drodze klasycznych procesów polireakcyjnych. W Katedrze Chemii Fizycznej Polimerów Politechniki Łódzkiej oraz obecnym Zespole Chemii Fizycznej Polimerów Katedry Materiałoznawstwa, Towaroznawstwa i Metrologii Włókienniczej Politechniki Łódzkiej od wielu lat badane są procesy syntezy nowych polimerów uzyskiwanych zarówno na drodze klasycznych procesów polimeryzacji, jak i na drodze reakcji grup funkcyjnych polimerów naturalnych i syntetycznych. Jednym z rozwiązywanych zagadnień była modyfikacja chityny ukierunkowana na estryfikację grup hydroksylowych chityny przy atomach C3 i C6 meru N-acetylo-D-glukozaminy. W wyniku przeprowadzonych badań szczególnie ciekawym produktem estryfikacji okazała się dwu-podstawiona estrowa pochodna – dibutyrylochityna (DBC), otrzymana w wyniku reakcji chityny pochodzącej od skorupiaków, prowadzonej w układzie heterogenicznym, z bezwodnikiem kwasu masłowego w obecności kwasu nadchlorowego. Polimer ten okazał się produktem łatwo rozpuszczalnym w popularnych rozpuszczalnikach organicznych i łatwo przetwarzanym na włókna, folie i mikrosfery. Wytworzone z niej materiały charakteryzują się doskonałymi właściwościami biologicznymi, szczególnie w aplikacjach w postaci opatrunków przyspieszających gojenie ran. Jej właściwości biologiczne wielokrotnie potwierdzono w licznych badaniach *in vitro* oraz *in vivo*. Jednak niezbyt wysoka wytrzymałość mechaniczna włókien z DBC ogranicza asortyment wytwarzanych z niej materiałów o bioaktywnych właściwościach.

Podstawowa hipoteza pracy polega na założeniu, iż wprowadzenie do makrocząsteczki chityny oprócz grup butyrylowych dodatkowych octanowych o krótszym łańcuchu alifatycznym, spowoduje zwiększenie podatności tego tworzywa na deformację w trakcie formowania włókien przy zachowaniu ich właściwości biologicznych. Modyfikacja procesu syntezy prowadzić powinna do nowej pochodnej estrowej chityny – kopoliestru butyrylo-acetylowego o założonej budowie chemicznej, posiadającej zdolność do formowania włókien z roztworu na mokro o wytrzymałości rzędu 20 cN/tex przy jednocześnie wysokiej porowatości. Włókna o wytrzymałości na tym poziomie stanowić mogą bazę do wytwarzania kompozytów polimerowo-włóknistych typu MD i 3D.

Tak sformułowana hipoteza badawcza przyczyniła się do sprecyzowania głównego celu badawczego niniejszej pracy, którym jest otrzymanie bioaktywnych materiałów polimerowo-włóknistych opartych na estrowych pochodnych chityny przeznaczonych do regeneracji tkanki kostnej.

W związku z powyższym podjęto się badań, prowadzących do zastosowania reakcji estryfikacji grup hydroksylowych chityny do wprowadzenia obok reszty

kwasu masłowego reszt innych kwasów organicznych, nadających produktom nowych interesujących właściwości fizyko-chemicznych, między innymi większej wytrzymałości mechanicznej.

Za następne zagadnienie do rozwiązania uznano możliwość rozszerzenia bazy surowcowej do otrzymywania rozpuszczalnych estrów chityny, a mianowicie opracowanie metody wyodrębniania pełnowartościowej chityny z nowego, dotychczas nieeksploatowanego, krajowego źródła: z ciał pszczoł miodnych – tak zwanego „osypu zimowego”. Znaną i powszechnie stosowaną w świecie bazą surowcową chityny są odpady powstające po spożyciu mięsa skorupiaków (krabów, krewetek, homarów itd.), głównie w postaci pancerzy krewetek i krabów. Główni producenci chityny lokalizują swoje zakłady w pobliżu wybrzeża, gdzie występują morskie skorupiaki. Jedynym krajowym naturalnym źródłem chityny na dzień dzisiejszy jest chityna z owadów, głównie z hodowlanych pszczoł miodnych. Szacuje się, że w Polsce każdego roku na wiosnę pszczelarze likwidują około 100 ton „osypu zimowego”, z którego można pozyskać do 10 ton chityny.

Następnym celem niniejszej pracy było wytworzenie estrów chityny o różnej budowie chemicznej z chityn różnego pochodzenia o optymalnych właściwościach, uformowanie z nich włókien oraz włókien zawierających ceramiczne nanododatki, a następnie wytworzenie materiałów o bioaktywnych właściwościach w postaci kompozytów polimerowych o strukturze 3D.

W związku z tak sprecyzowanymi szczegółowymi celami pracy jej zakres obejmował:

- opracowanie metody wyodrębniania chityny z ciał pszczoł miodnych „osypu zimowego” oraz sposobów jej oczyszczania, potwierdzenie budowy chemicznej chityny pochodzącej z pszczoł miodnych i oznaczenie masy molowej partii otrzymanej chityny,
- opracowanie i optymalizacja warunków syntezy nowych rozpuszczalnych kopoliestrów chityny o różnym udziale bocznych grup butyrylowych i acetylowych,
- potwierdzenie budowy chemicznej otrzymanych kopoliestrów metodami instrumentalnymi,
- opracowanie i optymalizacja metody formowania z alkoholowego roztworu na mokro włókien z kopoliestru chityny,
- formowanie włókien zawierających dodatki trójfosforanu wapnia i hydroksyapatytu w postaci nanocząstek,
- wytworzenie kompozytów polimerowo-włóknistych zawierających kopoliestry butyrylowo-acetylowe chityny o strukturze 3D do zastosowań implantacyjnych,
- potwierdzenie właściwości biologicznych syntezowanych kopoliestrów chityny w postaci kompozytów polimerowo-włóknistych typu 3D.

7. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

7.1 Przemysłowe źródła chityny

Produkcja chityny w skali przemysłowej oparta jest głównie na odpadach powstałych w przemyśle spożywczym. Głównym źródłem chityny w procesach przemysłowych są pancerze krewetek, krabów, kryla (chityna typu α) oraz w mniejszym stopniu odnogi kałamarnic (chityna typu β). Chityna, jako produkt handlowy w zależności od źródła pochodzenia charakteryzować się może różnymi właściwościami fizykochemicznymi. Różnice obserwowane są głównie w wartościach stopnia acetylacji oraz w wartościach masy molowej. W przeważającej części produkt handlowy, jeśli nie jest poddany specjalnym procesom oczyszczania, zwykle zawiera znaczące ilości soli mineralnych w tym nierozpuszczalnych w wodzie soli węglanowych. W zależności od producenta te ilości mogą zawierać się w granicach od kilku do kilkunastu procent masowych. Również zawartość części nierozpuszczalnej w układzie DMAc/5%LiCl, identyfikowanej jako chityna o niskim stopniu acetylacji oraz jako chityna związana wiązaniami międzycząsteczkowymi z białkami może wahać się od kilku do kilkunastu procent. W procesach chemicznej modyfikacji właściwym jest stosowanie surowca pozbawionego tych zanieczyszczeń.

W niniejszej pracy postanowiono skorzystać z następujących partii chityn dostępnych, jako produkty handlowe:

- próbka chityny krylowej produkcji Morskiego Instytutu Rybackiego MIR, Gdynia (MIR61),
- próbka chityny krabowej SIGMA produkcji firmy Sigma-Aldrich (SIGMA),
- próbka chityny krewetkowej produkcji firmy Everest Biotech (IND).

Badane próbki charakteryzowały się wartościami lepkości istotnej $[\eta]$ oznaczonymi w dwumetyloacetamidzie, zawierającym 5% chlorku litu (DMAc+5%LiCl) w temp. 25°C oraz odpowiadającymi im obliczonymi wiskozymetrycznie średnimi masami molowymi. Obliczenia masy molowej przeprowadzono zgodnie z metodyką przedstawioną w pracy [37], przyjmując wartości $K = 2,1 \times 10^{-4}$, $a = 0,88$ w równaniu Marka-Howinka-Sakurady $[\eta] = K M_v^a$. Wyniki badań przedstawiono w tabeli 7.1.

Tabela 7.1. Wartości lepkości istotnej oraz odpowiadające im obliczone wartości wiskozymetrycznie średnie masy molowe chityn handlowych.

Próbka chityny	$[\eta]$	M_v
	[dL/g]	[kDa]
MIR61	27,20	645
SIGMA	23,10	536
IND	13,97	307

Stopień zanieczyszczenia badanych próbek solami mineralnymi, głównie węglanem wapnia, określono, stosując znane z literatury naukowej procedury obróbki 1M kwasem solnym w temperaturze otoczenia w ciągu 1 godziny. Podczas tej operacji z chityny są usuwane pozostałości węglanu wapnia oraz inne substancje nieorganiczne rozpuszczalne w kwasie solnym. Obróbkę chityny kwasem solnym przeprowadzono w ustalonych uprzednio warunkach, stosując chitynę i kwas solny w proporcji: 100g chityny/2L 1M kwasu solnego. Po 1 godzinie chitynę odsączano, przemywano wodą do zaniku w przesączu jonów Ca^{+2} i Cl^{-1} . Wyznaczono całkowitą zawartość zanieczyszczeń, usuniętych z chityny podczas jej obróbki kwasem solnym, jako różnicę pomiędzy ogólną utratą masy próbki i oznaczonym w niej udziale węglanu wapnia. Wyniki uzyskane dla badanych 10-gramowych próbek chityny są zestawione w tabeli 7.2.

Tabela 7.2. Wyniki oznaczeń zawartości zanieczyszczeń usuniętych podczas obróbki chityny 1M roztworem HCl

Symbol próbki	Pochodzenie chityny	Ubytek masy próbki po obróbce 1M HCl	Ogółem zanieczyszczenia usunięte z chityny	
			Węglan wapniowy (wynik analizy ilościowej)	Inne zanieczyszczenia
		[%]	[%]	[%]
MIR61	krylowa	7,73	6,22	1,51
SIGMA	krabowa	blisko 0	nieoznaczalna	brak
IND	krewetkowa	3,00	3,00	brak

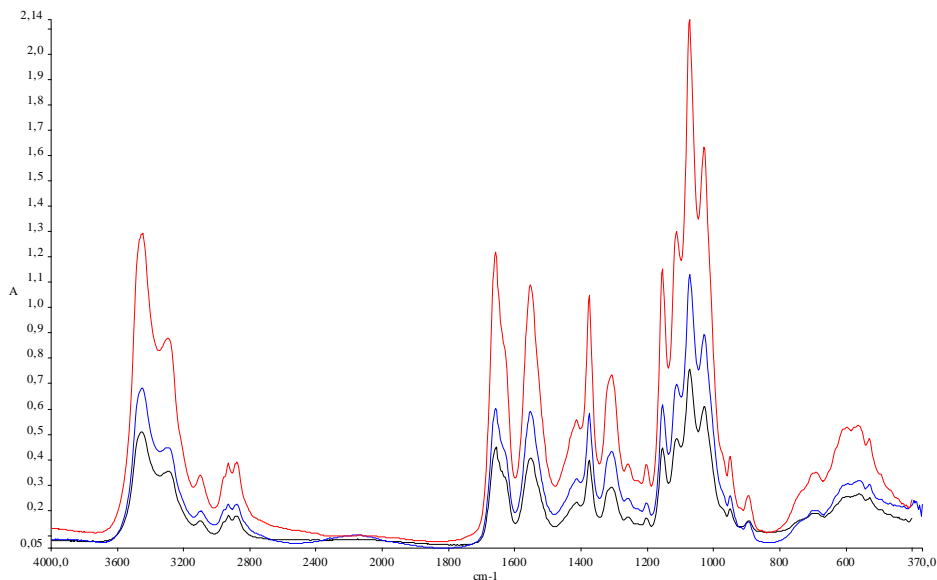
Z danych zamieszczonych w tabeli 7.2 wynika, że poszczególne partie chityny mogą różnić się pod względem zawartości w nich zanieczyszczeń. Oznacza to, że przed użyciem ww. chityny do syntezy jej estrów należy poddać ją badaniom i ewentualnym operacjom oczyszczania w celu znormalizowania jej charakterystyki chemicznej.

Widma FTIR próbek chityny handlowej poddanej obróbce roztworem HCl nie wskazują zmian ilościowych mogących identyfikować zmianę budowy chemicznej produktów po obróbce HCl.

Stopień acetylacji dla próbek chityny niepoddanych procesowi rozpuszczenia określano na podstawie widm FTIR sporządzonych w postaci drobin rozproszonych w kryształach KBr. Do wyznaczania stopnia acetylacji stosowano zależność intensywności pasm grup amidowej i hydroksylowej chityny. Natomiast dla próbek rozpuszczonych w DMAc/5%LiCl stopień acetylacji oznaczano na podstawie widm FTIR folii uzyskanych w wyniku koagulacji chityny z roztworu pod wpływem wody. Pozwala to na dokładne oznaczenie stopnia acetylacji wg zależności:

$$DA [\%] = A_{1655}/A_{3450} \times 115\% \quad (4)$$

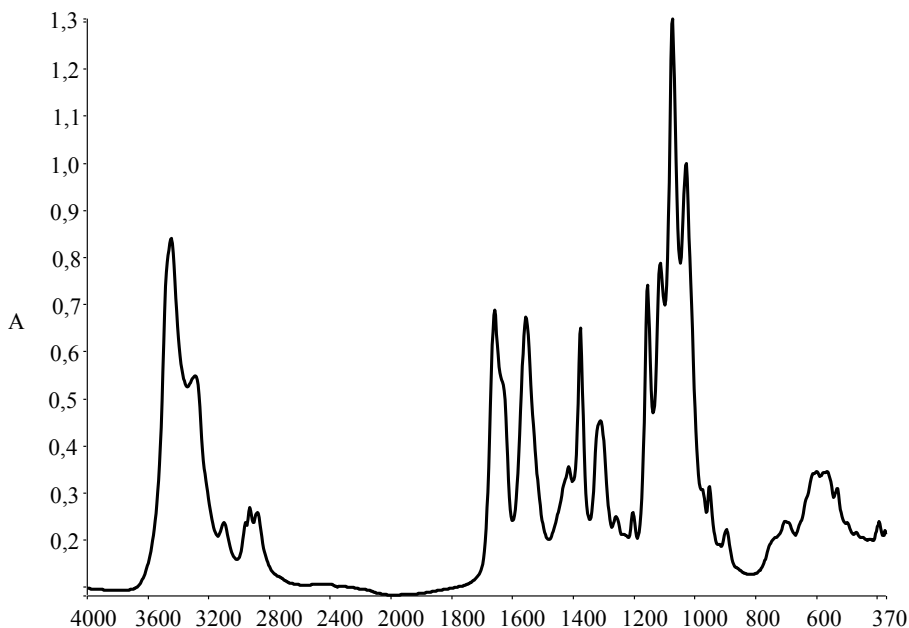
gdzie: A_{1655} – pole powierzchni pod sygnałem grupy amidowej,
 A_{3450} – pole powierzchni pod sygnałem grupy hydroksylowej.



Rysunek 7.1. Widma FTIR chityny rejestrowanych dla drobin rozproszonych w KBr – krylowej MIR 61 (czerwona), chityna krabowej SIGMA (niebieska), chityna krewetkowa IND (czarna)

Typowa procedura sporządzania folii przedstawiała się następująco: z przefiltrowanego roztworu chityny wylewano odpowiednią objętość na szalkę Petriego i pozostawiano ją w wilgotnej atmosferze na okres 24 godzin w celu wstępnej koagulacji chityny pod wpływem wilgoci z powietrza. Otrzymany żel, przemywano kilkakrotnie wodą destylowaną do momentu, gdy w przesączu nie stwierdzono obecności jonów chlorkowych (test z roztworem AgNO_3). Otrzymałą folię przemywano etanolem i suszono w eksykatorze do stałej masy. Przed wykonaniem widma FTIR, przygotowane folie dodatkowo suszono przez 10 minut w 110°C .

W przykładowym widmie chityny krylowej rejestrowanej dla folii (rys. 7.2), można zidentyfikować sygnały z maksimum przy 3443 cm^{-1} odpowiadające występującym w chitynie grupom $-\text{OH}$, z maksimum przy 3280 cm^{-1} , odpowiadające głównie grupie $-\text{NH}-$ występującej w chitynie, szerokie pasmo w zakresie $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ sygnałów grup $>\text{CH}-$, $-\text{CH}_2-$ i $-\text{CH}_3$ obecnych w chitynie. W przedstawionym widmie występują również charakterystyczne dla chityny intensywne sygnały grup amidowych: pasmo z maksimum przy 1656 cm^{-1} grupy amidowej I oraz przy 1554 cm^{-1} grupy amidowej II.



Rysunek 7.2. Widmo FTIR chityny pochodzenia krylowego MIR 61 w postaci folii

Przechowywana na powietrzu chityna będąca polimerem o właściwościach hydrofilowych zawiera pewną ilość zaadsorbowanej wody, której obecność ujemnie wpływa na proces estryfikacji. Oznaczenie ilości wody usuniętej podczas suszenia chityny w temperaturze około 90°C w suszarce próżniowej w ciągu 3 godzin dało następujące wyniki:

<u>Próbka chityny</u>	<u>Ilość usuniętej wody</u>
MIR61	6,4%
SIGMA	4,7%
IND	5,5 %

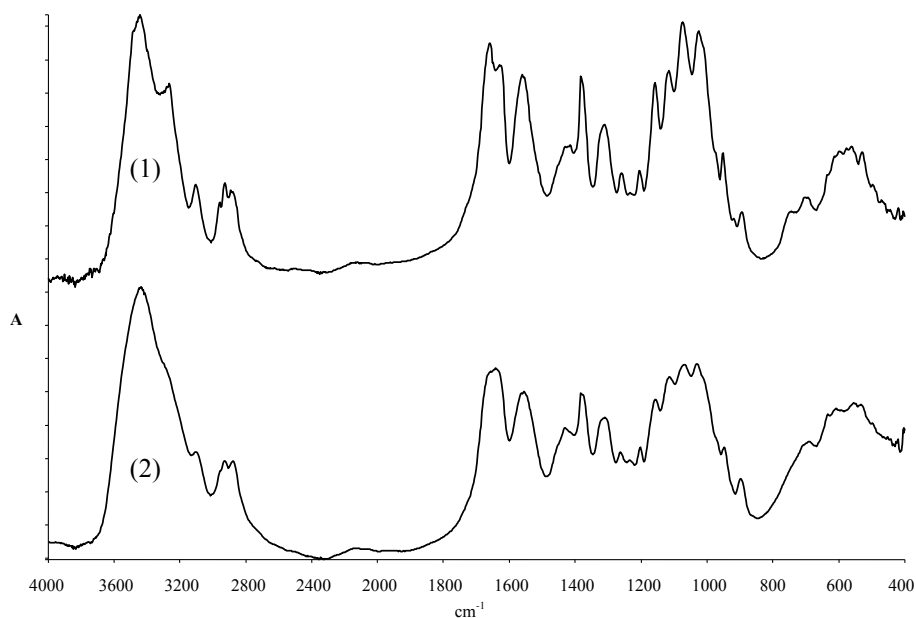
Jednym z testów czystości używanej chityny stosowanym w pracy był test rozpuszczalności w typowym rozpuszczalniku chityny mieszaninie DMAc/5% LiCl. Oznaczenie tego parametru pozwala w sposób dokładny, określić ilościowo zawartość chityny o wysokim stopniu acetylacji w badanej partii produktu. Ponadto na podstawie pomiarów lepkości istotnej można oznaczyć wartość masy molowej używanej chityny. Typowa procedura oznaczania ilości frakcji rozpuszczalnej w DMAc/5%LiCl przedstawiała się następująco: wysuszoną do stałej masy próbkę chityny w 90°C, przenoszono do kolby stożkowej i zalewano roztworem DMAc/5%LiCl. Ilość rozpuszczalnika dobierano tak, aby uzyskać stężenie 2%. Po 24 godzinach intensywnego mieszania roztwór filtrowano przez lejek Schotta G5 o znanej masie. Ilość nierozpuszczalnej frakcji określano na

podstawie suchej masy próbki pozostałej na lejku. Stosowane w pracy chityny handlowe charakteryzowały się udziałem frakcji rozpuszczalnej w DMAc/5% LiCl na poziomie $93\% \pm 3\%$.

7.1.1. Porównanie właściwości fizyko-chemicznych chityn handlowych różnego pochodzenia

W trakcie realizacji wstępnych badań możliwości estryfikacji chityn różnego pochodzenia bezwodnikiem kwasu organicznego zaobserwowano różnice przebiegu temperatur oraz różnice we właściwościach fizykochemicznych otrzymanych produktów.

Dokonana analiza widm FTIR chityn pochodzących z różnego źródła nie wskazała na występowanie istotnych różnic w budowie chemicznej, pozwalających na wyjaśnienie różnic w przebiegu procesu estryfikacji. Porównanie widm FTIR chityn różniących się strukturą krystaliczną przedstawiono na rysunku 7.3.



Rysunek 7.3. Widma FTIR: chityny α - (1) i chityny β (2)

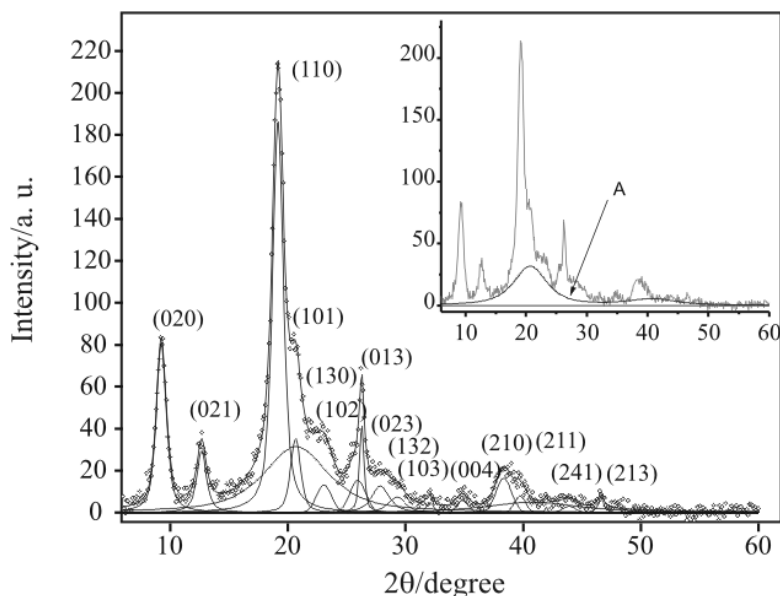
W widmach tych występują: silne pasmo drgań rozciągających wiązanie grupy -OH z maksimum przy 3443 cm^{-1} , pasmo przy 3280 cm^{-1} odpowiadającego głównie drganiom grupy >NH- , oraz silne pasma w zakresie $3000\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ odpowiadające drganiom grup >CH- , $\text{-CH}_2\text{-}$ i -CH_3 występujących w chitynach różniących się siecią krystaliczną. Potwierdzeniem podobieństwa budowy chemicznej tych dwóch rodzajów chityn jest również występowanie inten-

sywnych podwójnych pasm absorpcyjnych w zakresie $1696-1607\text{ cm}^{-1}$ amidu I, oraz izolowanego pasma przy 1554 cm^{-1} amidu II.

Oznaczone na podstawie widm FTIR stopnie acetylacji chityn różnego pochodzenia zawierają się w przedziale od 68% do 93% w zależności od źródła pochodzenia. W tabeli 7.3 przedstawiono zestawienie wyznaczonych stopni acetylacji dla chityn handlowych pozyskiwanych z różnych źródeł.

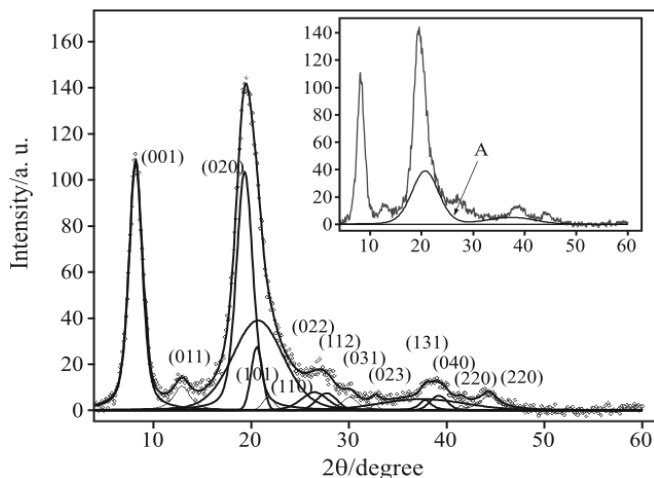
Tabela 7.3. Wyznaczone stopnie acetylacji dla handlowych chityn różnego pochodzenia

Chityna	DA %
Kryl	89
Krewetka	93
Krab	85
Kalmar	68



Rysunek 7.4. Dyfraktogram α -chityny pochodzenia krylowego z wyodrębnionymi pikami fazy krystalicznej i amorficznej

Analiza budowy krystalicznej chityn różnego pochodzenia, potwierdziła występowanie różnic pomiędzy chitynami posiadającymi sieć krystaliczną typu α i typu β , jak również nieznaczne różnice w budowie nadcząsteczkowej chityn różnego pochodzenia. Analiza dyfraktogramu dla chityny typu β wskazuje na występowanie komórek elementarnych o znacznie mniejszych rozmiarach w porównaniu do komórek chityny o strukturze typu α (rysunki 7.4, 7.5).



Rysunek 7.5. Dyfraktogram β -chityny z odnoży kalmara z wyodrębnionymi pikami fazy krystalicznej i amorficznej

Wykonana analiza stopnia krystaliczności chityn różnego pochodzenia o strukturze krystalicznej typu α i strukturze typu β , wskazuje na zbliżony udział fazy krystalicznej (tabela 7.4).

Tabela 7.4. Wyniki analizy XRD oraz oznaczone wartości energii aktywacji rozkładu termicznego dla chityn różnego pochodzenia

Próbka chityny	Krystaliczność	Rozmiar krystalitu							E_A kJ/mol
		D_{020}	D_{001}	D_{110}	D_{020}	D_{021}	D_{013}	D_{ave}	
kryl	0,66	8,7		8,7		9,3	19,3	11,5	102
krewetka	0,75	8,7		7,0		6,8	17,1	9,9	87
krab	0,74	9,7		8,1		6,8	14,2	9,7	73
kałamarnica	0,68		5,5		4,5	4,5		4,8	54

Analiza odległości płaszczyzn sieciowych prostopadłych do łańcucha polimerowego, tj. (020) i (110) dla chityn typu α , nie wskazują istotnych różnic w przypadku chityn różnego pochodzenia. Natomiast obserwuje się znaczącą różnicę w odległości płaszczyzn (013), która jest zbliżona do osi łańcucha, dla chityn różnego pochodzenia, gdzie największą wartość uzyskuje chityna kryłowa. Wartość ta przekłada się na zwiększenie wielkości średniej komórki krystalicznej. Najwyższe wartości dla sygnałów w płaszczyznach (021) i (013) występujące w dyfraktogramie próbki chityny kryłowej wskazują dodatkowo na strukturę z najmniejszą ilością defektów w sieci krystalicznej. Występowanie

tych defektów jest związane prawdopodobnie z warunkami wzrostu oraz od tego, z której części ciała skorupiaka jest pozyskiwana chityna.

Zestawione wyniki analizy dyfraktogramów oraz wyznaczonej metodą termogravimetrii energii aktywacji procesu termicznej degradacji chityn różnego pochodzenia zestawiono w tabeli 7.4.

Przeprowadzona analiza termicznego rozkładu chityn wskazuje na zależność pomiędzy ilością defektów sieci krystalicznej i rozmiarami komórek elementarnych a jej odpornością termiczną. Najwyższą odpornością termiczną odznacza się chityna krylowa o największych średnich rozmiarach krystalicznej komórki elementarnej oraz o najmniejszej ilości defektów sieci krystalicznej, natomiast najniższą odporność termiczną posiada chityna o najmniejszych rozmiarach komórki elementarnej [125].

7.2. Nowe źródło chityny

W przeprowadzonych badaniach stosowano chitynę pozyskiwaną z różnych źródeł. Jednym z nich są owady, ciała pszczoł miodnych. Opracowane w pracy procesy wyodrębniania i oczyszczania chityny mogą stanowić podstawę do upowszechnienia tego źródła w celu pozyskiwania chityny na skalę przemysłową.

Chityna z ciał pszczoł zwanych „osypem zimowym”, używana w pracy, była pozyskiwana według opracowanego, opublikowanego [21] wieloetapowego procesu obróbki chemicznej surowca dostarczonego przez pszczelarzy zrzeszonych w Związku Pszczelarzy Polskich. Dobór warunków prowadzenia każdego z tych etapów ma istotny wpływ na ilość oraz właściwości fizykochemiczne uzyskanej ostatecznie chityny. Na podstawie przeprowadzonych badań wstępnych zaproponowany typowy proces pozyskiwania chityny z tego źródła, można podzielić na następujące po sobie etapy:

- usuwanie wosków,
- usuwanie soli mineralnych,
- usuwanie substancji białkowych,
- usuwanie melaniny, naturalnego pigmentu.

7.2.1. Usuwanie wosków z powierzchni ciała pszczoł

Ze względu na właściwości hydrofobowe wosków pokrywających ciało pszczoły przed procesami prowadzonymi w środowisku wodnym ciała pszczoł należy oczyścić z wosków. Odbywa się to w procesie ekstrakcji w rozpuszczalniku organicznym. Pozyskane w ten sposób woski można w dalszych procesach zagospodarować w celu wytworzenia nowych asortymentów o specyficznym działaniu. Usuwanie wosków z ciał pszczoł można przeprowadzić wieloma sposobami np. prostą ekstrakcją w operacjach mycia surowca w rozpuszczalniku, ekstrakcją z użyciem aparatu Soxhleta, czy też ekstrakcją

CO₂ w stanie nadkrytycznym. W pracy zaproponowano pierwszą wymienioną metodę, używając alkoholu etylowego jako rozpuszczalnika. Przed każdą ekstrakcją ciała pszczoł oddzielano mechanicznie od zanieczyszczeń fizycznych. Ekstrakcję każdej partii surowca prowadzono do uzyskania czystego rozpuszczalnika pod gilzą aparatu. Wydzieloną po procesie substancję pozbawioną wosków w pierwszym etapie suszono na wolnym powietrzu, a następnie w suszarce próżniowej w temp. 25°C pod zmniejszonym ciśnieniem, aż do uzyskania stałej masy. Z ekstraktu oddestylowano alkohol etylowy i otrzymano produkt w postaci stałej masy woskowej. W tabeli 7.5 zestawiono uzyskane wyniki procentowego ubytku masy w procesie usuwania wosków z ciał kolejnych partii pszczoł „osypu zimowego”.

Tabela 7.5. Zawartość wosków w ciele pszczoł miodnych „osypu zimowego”

Nr partii	Masa próbki [g]	Zawartość wosków [%]
1	100,00	17,01
2	98,00	18,34
3	95,00	17,35
4	10,01	17,30
5	9,80	18,00
6	9,50	18,01
7	10,3	17,75
8	11,00	17,50
9	10,01	17,40
10	9,75	17,35

Jak wynika z danych przedstawionych w tabeli 7.5 średnia zawartość wosków pokrywających ciała pszczoł miodnych „osypu zimowego” rozpuszczalnych w alkoholu etylowym jest znacząca i oscyluje w granicach 17,6%.

7.2.2. Usuwanie soli mineralnych

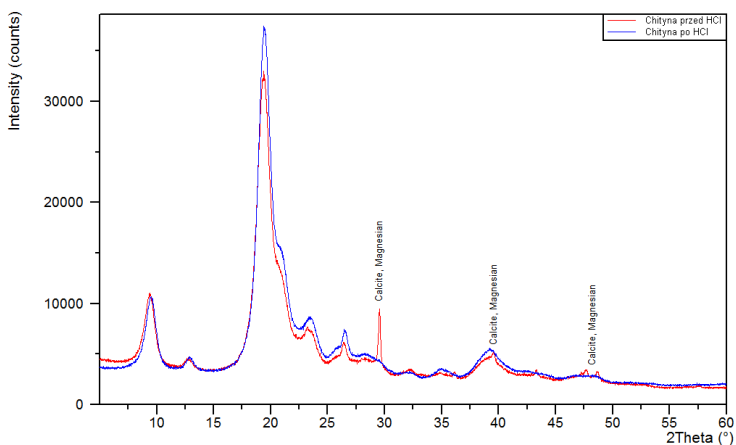
Ważnym i nieodłącznym składnikiem budowy ciała pszczoły miodnej są sole mineralne, głównie są to sole wapnia. Ich udział w ogólnej masie owada jest niewielki i wg doniesień literaturowych wynosi od 3 do 5% [19]. Typowa procedura usuwania soli mineralnych z ciał pszczoł zaproponowana w pracy przedstawiała się następująco: partię ciał pszczoł pozbawionych wosków o masie

około 100 g umieszczono w szklanym reaktorze zaopatrzonym w mieszadło mechaniczne. Następnie do reaktora wprowadzono 1M HCl, zachowując 10-krotny nadmiar roztworu do masy pszczoł. Przy ciągłym intensywnym mieszaniu, proces prowadzono w temp. 25°C przez okres 2 godzin. Po tym czasie roztwór sączono, zbierając masę na sączku. Uzyskaną masę następnie kilkakrotnie prze- mywano wodą destylowaną, do uzyskania przesączu o neutralnym odczynie. Otrzymany produkt w postaci ciemnej masy suszono w 90°C. Na podstawie uzyskanych wyników pomiaru ubytku masa próbki obliczono ilość soli mineralnych rozpuszczalnych w postaci chlorków. Przedstawione dane (tabela 7.6) wskazują, że ciała pszczoł miodnych „osypu zimowego” zawierają przeciętnie 4% soli mineralnych.

Tabela 7.6. Zawartość soli mineralnych w ciele pszczoł miodnych „osypu zimowego”

Nr partii	Masa próbki [g]	Masa soli rozpuszczalnych w HCl [%]
1	83,00	4,10
2	80,00	3,90
3	78,00	3,95
4	8,01	4,10
5	7,99	3,90
6	7,89	3,95
7	7,67	4,02
8	8,25	4,03
9	6,78	3,91
10	7,01	4,10

Analiza XRD próbek chityny przed usunięciem soli mineralnych i po obróbce kwasem solnym wskazuje na całkowite usunięcie występujących soli wapniowych i magnezowych (rys. 7.6).



Rysunek 7.6. Dyfraktogram próbek chityny przed obróbką i po obróbce roztworem HCl

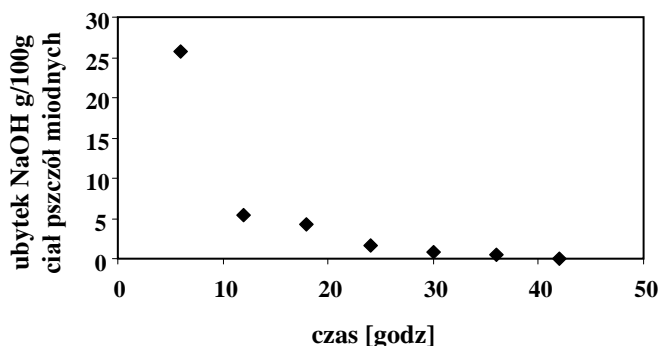
7.2.3. Usuwanie substancji białkowych

Ciało pszczoły miodnej jest bardzo skomplikowanym układem biologicznym, w którym łańcuchy białkowe, chitynowe jak i również cząsteczki melaniny – naturalnego pigmentu, oddziałują ze sobą poprzez wiązania chemiczne i oddziaływanie fizyczne, tworząc skomplikowane kompleksy intermolekularne. Usunięcie białek z tych kompleksów może odbywać się między innymi poprzez zniszczenie struktury pierwszo i drugorzędowej białka. Cel ten może być osiągnięty na przykład poprzez obróbkę chemiczną np. alkaliczną, enzymatyczną lub biologiczną, np. stosując bakterie.

W pracy do usunięcia białek, zaproponowano obróbkę alkaliczną roztworem NaOH o stężeniu 1M w temp. 80°C, bez mieszania z zachowaniem stosunku ciecz-próbka ciał pszczoł 1,5 dm³/100g. Ustalenie optymalnego czasu obróbki jest ważne z punktu widzenia ekonomicznego, jak i również może mieć istotny wpływ na właściwości fizykochemiczne pozyskanej chityny. Zbyt długie oddziaływanie czynnika alkalicznego w podwyższonej temperaturze może wpływać na zmianę stopnia acetylacji chityny. Czas oddziaływania roztworu NaOH został ustalony wstępnie na zakres od 6 godzin do 64 godzin. Po założonym okresie czasu z mieszaniny reakcyjnej pobierano próbkę roztworu i określano ilościowy ubytek NaOH. Na podstawie uzyskanych danych, można było określić optymalny czas oddziaływania NaOH na próbkę, po którym nie następuje dalsze wymywanie białek. Drugim sposobem określania optymalnego czasu deproteinizacji było oznaczanie grawimetryczne ilości rozpuszczalnej części, to jest czystej chityny oraz kompleksu chityna-melanina, w mieszaninie rozpuszczalnika organicznego/sól nieorganiczna, tj. dimetyloactamid z 5% chlorku litu (DMAc/5%LiCl). Badania wstępne oraz dane literaturowe wskazały, że część

rozpuszczalna w tym układzie charakteryzuje się wysokim stopniem acetylacji powyżej 0,90. Chityna o niższych stopniach acetylacji traci zdolność do rozpuszczania się w tej mieszaninie. Dodatkowo druga wymieniona metoda pozwala równocześnie określić lepkość istotną uzyskanych chityn po różnym czasie oddziaływania roztworu NaOH.

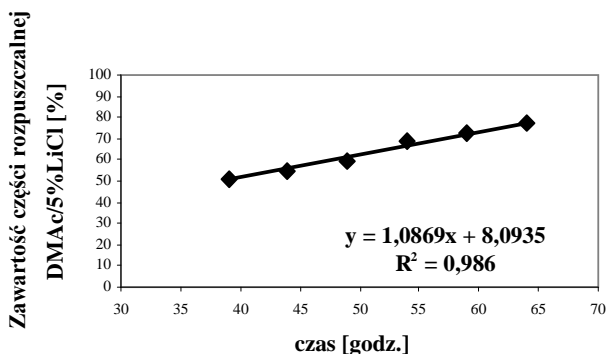
Analiza wyczerpywania NaOH użytego w znaczącym nadmiarze z roztworu, przedstawiona na rysunku 7.7 wskazuje, że po około 40 godzinach oddziaływania roztworu alkalicznego nie zaobserwowano dalszego ubytku ilości NaOH, co świadczyć może o zakończeniu procesu deproteinizacji.



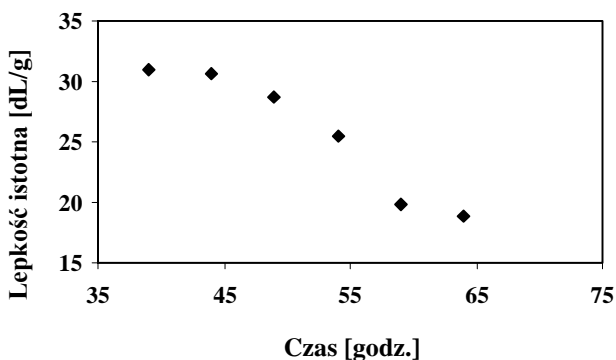
Rysunek 7.7. Ubytek masy NaOH z roztworu podczas obróbki 100 g masy pszczelej wolnej od wosków i soli mineralnych w 80°C 1 M NaOH

Pomiar ilości rozpuszczalnej frakcji w typowym rozpuszczalniku chityny pozwolił określić wpływ oddziaływania roztworu alkalicznego na proces rozrywania wiązań w kompleksie chityna-białko.

Jak widać z danych przedstawionych na rysunku 7.8, zwiększenie czasu oddziaływania roztworu NaOH na badaną próbkę wpływa na zwiększenie ilości uzyskiwanej frakcji chityny skompleksowanej z melaniną w użytym rozpuszczalniku. Po 64 godzinach oddziaływania roztworu NaOH uzyskano 77,2% produktu rozpuszczalnego w układzie DMAc/5%LiCl. Pomiar lepkości istotnej dla frakcji rozpuszczalnej w DMAc/5% LiCl wskazuje (rys. 7.9) na postępujące obniżenie się wartości lepkości istotnej po 40 godzinach obróbki. Może to być związane ze zwiększeniem intensywności procesu hydrolizy wiązań glikozydowych w produkcie pozbawionym części białkowych.



Rysunek 7.8. Zależność zawartości frakcji rozpuszczalnej w rozpuszczalniku chityny od czasu obróbki masy pszczelej roztworem 1M NaOH w 80°C



Rysunek 7.9. Zależność wartości lepkości istotnej od czasu obróbki kompleksu chityna/melanina pozyskanych z ciał pszczoł poddanych obróbce roztworem 1M NaOH w 80°C

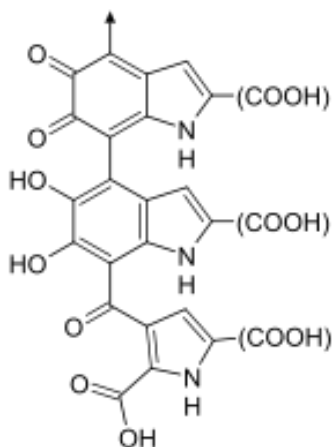
Analizując powyższe zależności do dalszych badań, jako optymalne do usuwania białek z ciał martwych pszczoł zaproponowano następujące warunki:

- roztwór NaOH o stężeniu 1 mol/dm³,
- temperatura procesu 80°C,
- czas prowadzenia procesu 40 godzin,
- stosunek ciecz-masa pszczela 1,5 dm³/100 g.

Uzyskany po obróbce w ww. warunkach produkt będący kompleksem chityny z melaniną o ciemno brązowym zabarwieniu charakteryzuje się wysoką zawartością części rozpuszczalnej w typowym rozpuszczalniku chityny (DMac/5% LiCl) przy jednocześnie zachowaniu dostatecznie wysokich wartościach lepkości istotnej chityny.

7.2.4. Usuwanie melaniny – pigmentu z kompleksu chityna-melanina

Pod ogólną nazwą melaniny kryje się grupa pigmentów, odpowiadających za pigmentację organizmów. Melaniny chronią głębsze warstwy organizmów przed szkodliwym działaniem promieni ultrafioletowych, które wchodzą w skład promieniowania słonecznego. Melaniny są polimerami, których skład chemiczny zależy przede wszystkim od natury organizmu i warunków lokalnych, w jakich te substancje powstają. Wśród melanin wyróżnia się m.in. eumelaninę, feomelaninę i neuromelaninę. Udowodniono, że w ciałach pszczelich występuje eumelanina – ciemnobrązowy barwnik o następującej strukturze:



Rysunek 7.10. Schemat budowy cząsteczki eumelaniny

Końcowa obróbka otrzymanego kompleksu chityna-melanina, o ciemno brązowym zabarwieniu, prowadzona była w układzie heterogenicznym utleniająco-redukującym. Zastosowanie utleniających właściwości rozcieńczonych wodnych roztworów manganianu (VII) potasu (KMnO_4) o stężeniu 1%, 0,5% i 0,1% pozwoliło na usunięcie pigmentu (melaniny) poprzez utlenienie do formy rozpuszczalnej w wodzie. Do obróbki utleniającej zastosowano nadmiar roztworu manganianu (VII) potasu w stosunku $1 \text{ dm}^3/100 \text{ g}$, badając różne czasy jego oddziaływania. Po procesie utleniania zastosowano końcową obróbkę redukującą, stosując rozcieńczony roztwór kwasu szczawiowego o stężeniu 1%.

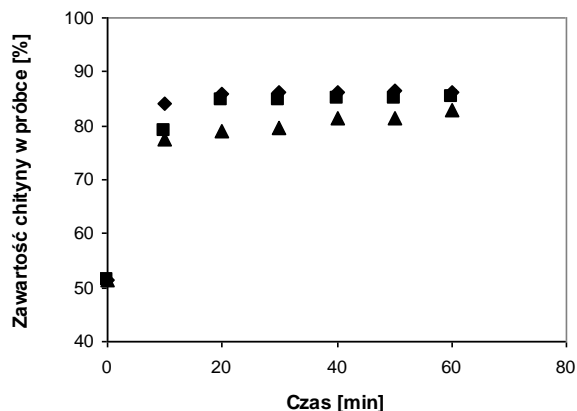
Badania wstępne prowadzone dla próbek pozbawionych soli mineralnych i białek wskazały, że obróbka wodnym roztworem 1% KMnO_4 w wodzie, istotnie wpływa na obniżenie lepkości istotnej chityny wyznaczanej w $\text{DMAc}/5\% \text{ LiCl}$, przy jednoczesnym braku poprawy wydajności procesu. Podobnego efektu degradacji łańcucha chityny nie zaobserwowano po obróbce 1% kwasem szczawiowym. Na podstawie tych badań (tabela 7.7) stwierdzono, że głównym czynnikiem wpływającym na wartości mas molowych uzyskiwanych chityn jest oddziaływanie roztworów KMnO_4 .

Tabela 7.7. Wartości lepkości istotnej chityny po obróbce układem redukująco-utleniającym

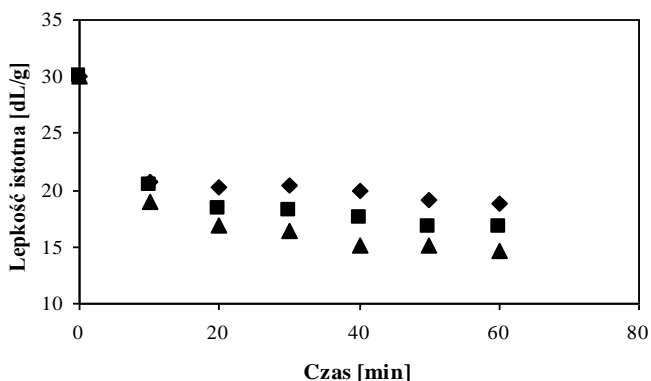
Próbka wstępna po obróbce usunięcia soli mineralnych i białek		Próbka wstępna po obróbce 1% KMnO ₄ w 20°C w czasie 5 godzin		Próbka wstępna po obróbce 1% H ₂ C ₂ O ₄ w 60°C w czasie 5 godzin	
Frakcja rozpuszczalna w DMAc/5%LiCl (chityna)	Lepkość istotna	Frakcja rozpuszczalna w DMAc/5%LiCl (chityna)	Lepkość istotna	Frakcja rozpuszczalna w DMAc/5%LiCl (chityna)	Lepkość istotna
[%]	[dL/g]	[%]	[dL/g]	[%]	[dL/g]
51,4	30,1	55,5	11,9	53,1	27,1

Badania wpływu czasu obróbki układem redox, manganian (VII) potasu/kwas szczawiowy, na właściwości chityn otrzymanych z próbek ciał pszczół wskazały, że degradacja pozyskiwanych chityn zachodzi w początkowym etapie obróbki. Efekt degradacji objawiający się obniżeniem wartości lepkości istotnej chityn głównie w początkowym etapie jest obserwowany niezależnie od stężenia stosowanego manganianu (VII) potasu w zakresie 0,1% do 1%. Przy wyższych jego stężeniach również jest obserwowana dalsza degradacja łańcucha polisacharydowego chityny w czasie jej obróbki.

Zaobserwowano wzrost zawartości części rozpuszczalnej chityny z poziomu 50% do poziomu bliskiego 80% już po 10 min oddziaływania manganianu (VII) potasu (rys. 7.11), równocześnie zaobserwowano wyraźne zmniejszenie wartości lepkości istotnej uzyskiwanego produktu od 30 dL/g do poziomu 20 dL/g. Dalsze oddziaływanie roztworu utleniającego na materię powoduje postępującą degradację łańcucha polisacharydowego objawiającego się obniżeniem wartości lepkości istotnej na poziomie 50% wyjściowej wartości dla stężenia 0,1 mol/dm³ po czasie 60 min.



Rysunek 7.11. Zależność zawartości rozpuszczalnej chityny w układzie DMAc/5%LiCl po obróbce KMnO₄ o stężeniu: ▲ 1% KMnO₄, ■ 0.5% KMnO₄, ◆ 0.1% KMnO₄



Rysunek 7.12. Wpływ stężenia KMnO₄ i czasu obróbki na wartość lepkości istotnej chityny po procesie usuwania melaniny: ▲ 1% KMnO₄, ■ 0.5% KMnO₄, ◆ 0.1% KMnO₄

Wyznaczone wartości lepkości istotnej i obliczone dla nich wartości masy molowej dla próbek chityny poddanych obróbce usuwania melaniny zestawiono w tabeli 7.8. Dążenie do całkowitego usunięcia melaniny z kompleksu melanina-chityna skutkuje ubytkiem masy wyjściowej próbki na poziomie 19%. Jednakże całkowite usunięcie melaniny wpływa istotnie na obniżenie wartości lepkości istotnej uzyskiwanej chityny.

Zestawienie wpływu stężenia czynnika utleniającego oraz czasu jego oddziaływania na próbki kompleksu chityna-melanina zestawiono w tabeli 7.8.

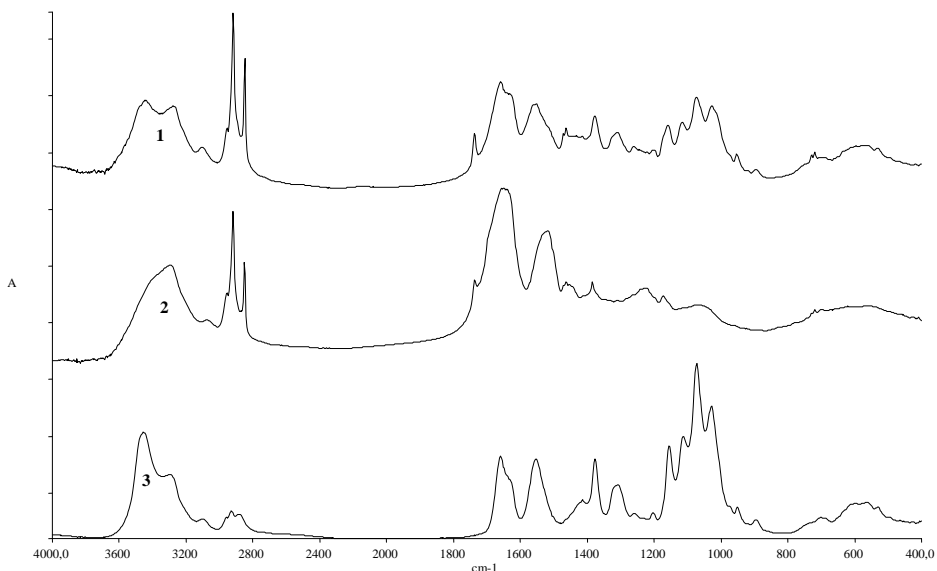
Tabela 7.8. Masy molowe oczyszczonych od soli mineralnych, białek i melaniny próbek chityny pochodzenia pszczelego

Nr	Czas Obróbki	Stężenie KMnO ₄	Frakcja rozpuszczalna w DMAc/5%LiCl	Lepkość istotna w 25°C	M _v ze wzoru [η] = 0,0024 M _v ^{0,69}
	[min]	[%]	[%]	[dL/g]	[g/mol]
1	0	–	51,4	30,1	723 584
2	10	1%	84,2	18,9	426 407
3	20	1%	85,8	16,9	375 514
4	30	1%	86,2	16,4	362 914
5	40	1%	86,1	15,2	332 893
6	50	1%	86,5	15,1	330 405
7	60	1%	86,3	14,6	318 000
8	10	0,5%	79,0	20,4	465 068
9	20	0,5%	84,6	18,3	411 058
10	30	0,5%	84,6	18,2	408 507
11	40	0,5%	85,1	17,5	390 700
12	50	0,5%	85,0	16,7	370 468
13	60	0,5%	85,4	16,7	370 468
14	10	0,1%	77,6	20,8	475 444
15	20	0,1%	78,9	20,2	459 890
16	30	0,1%	75,7	20,4	465 068
17	40	0,1%	81,5	20,0	454 719
18	50	0,1%	81,4	19,1	431 539
19	60	0,1%	82,9	18,8	423 845

7.2.5. Potwierdzenie budowy chemicznej chityny pozyskiwanej z ciał pszczoł miodnych

Metody spektroskopowe w podczerwieni (FTIR) oraz jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR) są najczęściej stosowanymi metodami dla potwierdzenia budowy chemicznej polimerów.

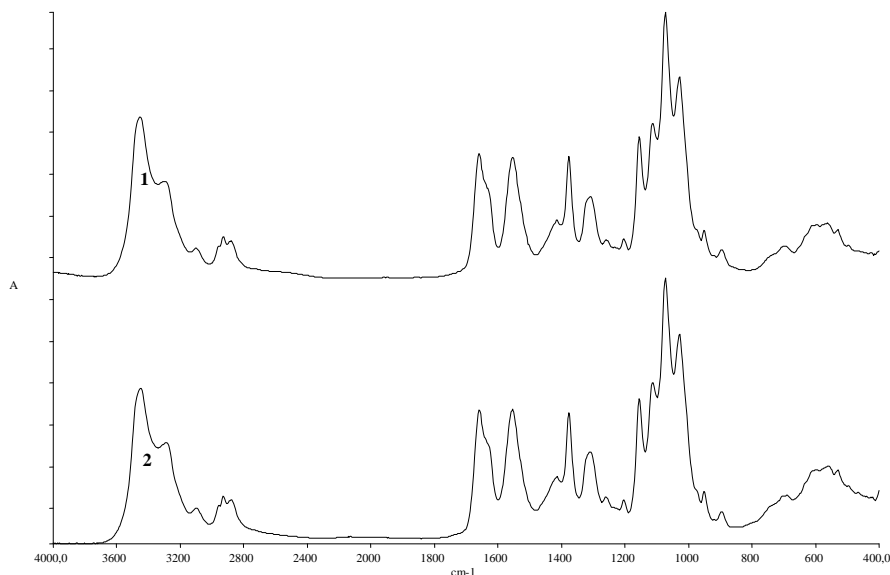
Wykonane widma FTIR dla produktów otrzymanych na poszczególnych etapach procesu pozyskiwania chityny zestawiono na rysunku 7.12.



Rysunek 7.13. Widma FTIR: (1) kompleksu chityna-melanina, (2) kompleksu białko-melanina i (3) czystej chityny pszczelej

Przedstawione zestawienie widm FTIR kompleksu chityna-melanina, kompleksu białko-melanina i czystej chityny pszczelej wskazują na występowanie istotnych różnic w ich budowie. W widmie kompleksu chityna-melanina obecne są następujące sygnały: maksimum przy 3443 cm^{-1} odpowiada grupom $-\text{OH}$ występującym w chitynie, melaninie i białku, maksimum przy 3280 cm^{-1} odpowiada grupom $-\text{NH}_2$ obecnym w kompleksie melanina-chityna i grupie $-\text{NH}$ -występującej w łańcuchu chityny, szerokie pasmo w zakresie $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ pochodzi od grup $>\text{CH}$ -, $-\text{CH}_2$ - i $-\text{CH}_3$ występujących w kompleksie białko-melaminowym. Sygnał absorpcji z maksimum przy 1737 cm^{-1} odpowiada grupie karboksylowej ($>\text{C}=\text{O}$) występującej w cząsteczkach melaniny i białka.

W widmie czystej chityny pszczelej (rysunek 7.13 – (3)), wolnej od kompleksu białko-melanina, występują sygnały pochodzące od grup $-\text{OH}$ -, $-\text{NH}$ -, $-\text{CH}_2$ - i $-\text{CH}_3$ w łańcuchu chityny. W przedstawionym widmie występują charakterystyczne dla chityny intensywne sygnały grup amidowych: podwójne pasmo z maksimum przy 1626 cm^{-1} i 1656 cm^{-1} drgań grupy amidowej I oraz izolowane pasmo z maksimum przy 1554 cm^{-1} drgań grupy amidowej II.

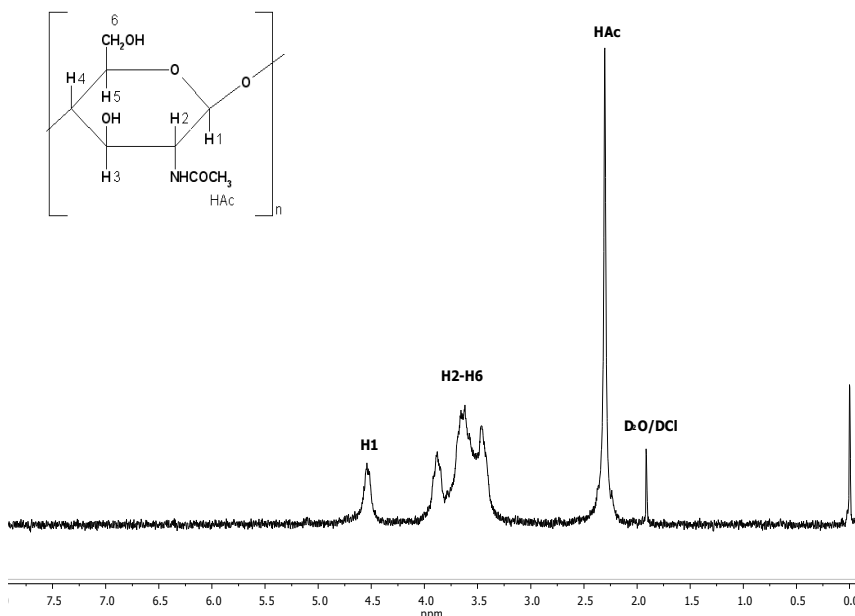


Rysunek 7.14. Widma FTIR (1) chityny pszczelej i (2) chityny krewetkowej (produkt handlowy)

Przedstawione zestawienie widm FTIR uzyskanej chityny pszczelej oraz handlowej chityny krewetkowej firmy France Chitin pokazuje, że chityna otrzymana z pszczoł miodnych charakteryzuje się identyczną budową chemiczną z chityną krewetkową.

Bardzo dokładną metodą analizy jakościowej budowy chemicznej związków chemicznych jest metoda protonowego rezonansu magnetycznego $^1\text{H-NMR}$. Uzyskane wyniki analizy widm NMR są jednoznaczne i w sposób bezpośredni wskazują na występowanie danych grup chemicznych. Analiza ta pozwala również w sposób ilościowy oznaczać poszczególne grupy chemiczne posiadające atomy wodoru. Wykorzystując zależność proporcjonalności intensywności sygnału do zawartości protonów w grupie chemicznej, można w sposób dokładny potwierdzić budowę chemiczną danej substancji.

Jednym z większych problemów napotykanym przy sporządzaniu dobrych preparatów do analizy NMR jest przygotowanie roztworu próbki o założonym stężeniu. Chityna ze względu na specyficzną budowę chemiczną jest polimerem nierozpuszczalnym w typowych rozpuszczalnikach deuterowanych. W pracy wykorzystano zdolność kwasu solnego do kontrolowanej degradacji wiązań glikozydowych w stężonych roztworach chityny. Wykonano szereg prób wstępnych mających na celu dobór czasu oddziaływania 20% deuterowanego kwasu solnego DCl , na jakość i czytelność uzyskiwanych widm $^1\text{H-NMR}$. Widmo $^1\text{H-NMR}$ próbki chityny rozpuszczonej w DCl po 30 min oddziaływania kwasu, ma w dalszym ciągu charakter polimeru bez widocznych udziałów grup oligomerycznych oraz małowcząsteczkowych grup chemicznych powstałych w wyniku degradacji chityny.



Rysunek 7.15. Widmo $^1\text{H-NMR}$ chityny rozpuszczonej w 20% $\text{DCI/D}_2\text{O}$ po 30 minutach

Na przedstawionym widmie $^1\text{H-NMR}$ chityny pszcejlej można wyodrębnić następujące sygnały protonów grupy Ac-H w zakresie 2,00-2,50 ppm, protonów pierścienia glukozy H2, H3, H4, H5, i H6 w zakresie 3,2-4,2 ppm oraz H1 w przedziale 4,4-4,8 ppm.

Stoień acylacji, oznaczony dla próbek rozpuszczalnych w DMAc/5\% LiCl , na podstawie widma $^1\text{H NMR}$ po każdym etapie obróbki jest niezmienny i wynosi $96 \pm 2\%$.

Na podstawie uzyskanych widm $^1\text{H NMR}$ dla próbek chityn po zastosowanych obróbkach chemicznych wyznaczono stopień acylacji na podstawie następującej zależności:

$$DA_{^1\text{H-NMR}} (\%) = \left(\frac{6 \times \text{HAc}}{3 \times (\text{H2} - \text{H6})} \right) \times 100 \quad (6)$$

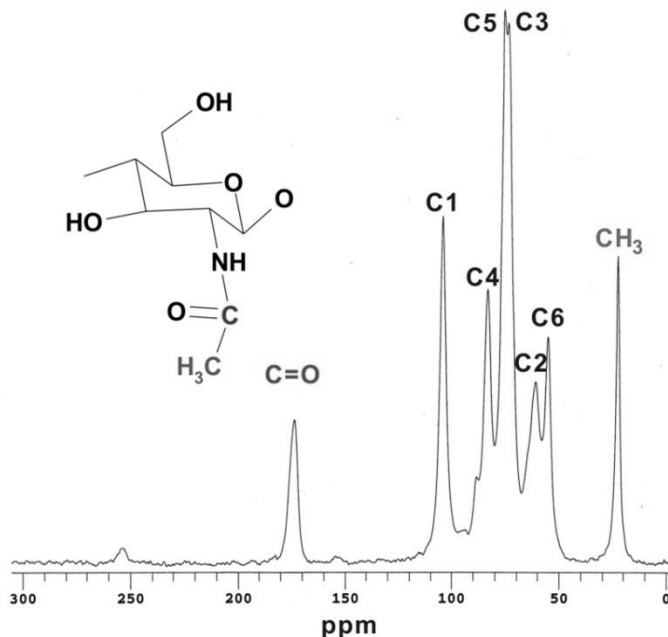
gdzie: DA – stopień acylacji,

HAc – pole powierzchni pod pikiem sygnału protonów grupy acetylowej,

H2-H6 – pole powierzchni pod pikiem sygnału protonów pierścienia glukozy H2,H3,H4,H5,H6.

Komplementarną do analizy protonowego magnetycznego rezonansu jądrowego jest analiza NMR próbek w postaci ciała stałego. Technika, w której wykorzystuje się zjawisko cross polaryzacji nosi nazwę CP-MAS (ang. *Cross Polarization Magic Angle Spinning*). Ze względu na to, że w postaci stałej każdy atom znajduje się w nieco innym otoczeniu chemicznym jest to technika, która

wnosi informacje o budowie chemicznej związku i o zawartości w nim atomów węgla. Na rysunku 7.15 przedstawiono widmo ^{13}C CP-MAS chityny pszczelej.



Rysunek 7.16. Widmo ^{13}C CP MAS NMR chityny pszczelej

Na widmie ^{13}C CP MAS NMR chityny wykonanej na aparacie Bruker 800 MHz (rys. 7.16) można wyodrębnić sygnały pochodzące od atomów węgla pierścienia glukozy, grupy acetylowej oraz karbonylowej, co potwierdza dodatkowo strukturę chemiczną otrzymanej chityny. W widmie można zidentyfikować nakładające się sygnały atomów węgla C3 i C5 przy δ 77 ppm, oraz sygnały przy δ 174 ppm (C=O), 104 ppm (C1), 84 ppm (C4), 61 ppm (C2), 56 ppm (C6) i przy 23 ppm (CH₃).

Podsumowując ten etap pracy, można wysnuć, iż: ciała pszczoł miodnych pozyskiwane z pasiek, jako martwe ciała tzw. „osypu zimowego”, mogą stanowić doskonałe alternatywne źródło chityny handlowej. Chityna z tego źródła, poprzez odpowiednie prowadzenie procesów oczyszczania, charakteryzuje się budową chemiczną oraz właściwościami fizycznymi zgodną z chitynami pozyskiwanymi z klasycznych źródeł. Opracowane w niniejszej pracy warunki pozyskiwania chityny mogą w perspektywie przyczynić się do uruchomienia w kraju nowych przedsiębiorstw zajmujących się komercyjną produkcją chityny. Podsumowanie tego etapu pracy można również przedstawić w formie opracowanego schematu procesu pozyskiwania chityny z ciał pszczoł miodnych, zilustrowanego na rysunku 7.17.



Rysunek 7.17. Schemat procesu pozyskiwania chityny z ciał pszczoł miodnych

7.3. Synteza kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny

Znane z literatury naukowej możliwości syntezy pochodnej butyrylowej chityny wykorzystano do opracowania warunków wytwarzania kopoliestrów butyrylo-acetylowych chityny o różnym udziale grup maślanowych i octanowych dwiema metodami:

- pierwszą, stosując kwas nadchlorowy jako katalizator (w warunkach heterogenicznych),
- drugą, stosując kwas metanosulfonowy jako katalizator i rozpuszczalnik (w warunkach homogenicznych).

Podstawą do dokonanego doboru syntezy kopoliestrów butyrylowo-acetylowych chityny były badania potwierdzające wymagany, założony skład chemiczny produktu estryfikacji o założonej masie molowej, prezentowanej przez proporcjonalną do niej wartość lepkości istotnej. Kolejnym parametrem opisującym syntezę była wydajność procesu. Ważnym elementem wpływającym na przebieg procesu jest użyta chityna, dlatego też przeprowadzono serię syntez, stosując chitynę o różnej charakterystyce fizykochemicznej.

7.3.1. Wybór chityny i jej charakterystyka

Wydajność procesu estryfikacji chityny oraz charakterystyka fizyko-chemiczna końcowego produktu zależą od:

- charakterystyki fizykochemicznej użytej chityny,
- parametrów procesowych estryfikacji,
- sposobu wyodrębniania i oczyszczania produktu końcowego.

Partie chityny różniące się źródłem pozyskiwania, stosowane jako surowce do otrzymywania estrów chityny, mogą się różnić:

- zawartością zanieczyszczeń (głównie pozostałości białka i węglanu wapnia oraz innych soli),
- stopniem acetylacji,
- wartością masy molowej,
- stopniem rozdrobnienia surowca.

Wcześniejsze badania chityn różnego pochodzenia potwierdziły tezę, że źródło pochodzenia chityny nie wpływa na jej budowę chemiczną. Wieloletnie badania zespołu byłej Katedry Chemii Fizycznej Polimerów potwierdzają natomiast, że z każdej chityny o dostatecznie wysokim stopniu acetylacji, w określonych warunkach prowadzenia procesu estryfikacji można otrzymywać dwu-O-podstawione estry chityny.

Jednymi z najbardziej rozpowszechnionych na świecie produktami handlowymi są: chityna krabowa, krewetkowa lub krylowa.

Do wstępnych badań nad doбором metody syntezy butyrylo-acetylowych kopoliestrów chityny zastosowano próbki rozdrobnionej chityny, różniące się

pochodzeniem i stopniem zanieczyszczenia. W związku z występowaniem zjawiska sorpcji pary wodnej każda partia chityny, przed użyciem jej do reakcji estryfikacji, była poddawana procesowi suszenia w warunkach 90°C przez okres 24 godz.

Stopień acetylacji chityn oznaczono wg metody [43,44], opartej o analizę widm w podczerwieni. Do obliczenia stopnia acetylacji DA stosowano równanie:

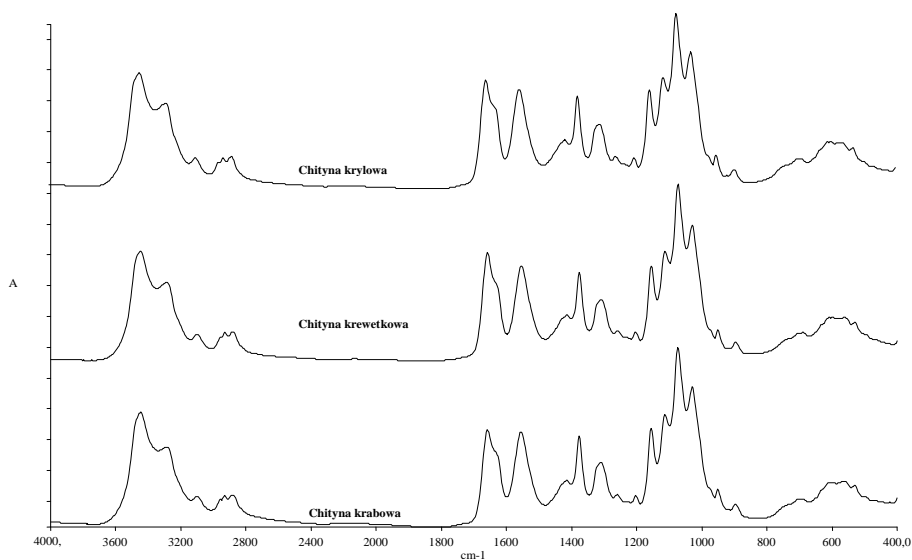
$$DA(\%) = (A_{1655}/A_{3450}) \times 115 \quad (7)$$

gdzie: A_{1655} – absorbancja grupy amidowej I (pasmo analityczne) w granicach 1655-1660 cm^{-1} ,

A_{3450} – absorbancja grupy hydroksylowej (pasmo odniesienia) przy 3450 cm^{-1} .

Linie podstawową dla wiązania amidowego prowadzono od 1775 do 815 cm^{-1} , a dla wiązania OH – od 3750 do 1815 cm^{-1} .

Widma FTIR w/w próbek chityn przygotowanych w postaci cienkich błonek z roztworu w DMAc/5%LiCl zostały zarejestrowane na spektrometrze Perkin Elmer 2000 FTIR. Takie błonki są pozbawione śladowych ilości białka, które, jako nierozpuszczalne w rozpuszczalniku DMAc/5%LiCl, są usuwane w procesie filtracji roztworu chityny. W widmach FTIR badanych próbek chityny nie zaobserwowano żadnych różnic, które mogłyby świadczyć o różnicach w ich składzie chemicznym (rys. 7.18).



Rysunek 7.18. Widma FTIR próbek chityn krylowych i krabowej

Obliczone na podstawie analizy widm wartości stopnia acetylacji DA chityny mieszczą się w granicach 93-97%, co świadczy o dobrej jakości wszystkich zbadanych próbek.

W oparciu o wyniki badań ww. próbek chityny do dalszych badań wytypowano chitynę krylową MIR61 (po uprzedniej obróbce 1M kwasem solnym w celu usunięcia nieorganicznych zanieczyszczeń), oryginalną chitynę krabową produkcji SIGMA oraz chitynę pozyskaną z ciał pszczoł miodnych. Próbki tych chityn charakteryzują się wystarczającymi parametrami stopnia acetylacji i odpowiedniej wartości masy molowej. Próbki chityn przed użyciem do syntezy były suszone w suszarce próżniowej w 90°C oraz chłodzone do $T = -15^{\circ}\text{C}$.

7.3.2. Synteza kopoliestru o różnym udziale grup masłowych i octanowych

Do syntez kopoliestru butyrylowo-acetylowego chityny o założonych parametrach fizykochemicznych wykorzystano znane z literatury naukowej możliwości estryfikacji grup hydroksylowych chityny bezwodnikiem kwasu organicznego w obecności odpowiedniego katalizatora.

Jako jedną z metod syntezy kopoliestrów chityny o różnym udziale grup, pochodzących od kwasów masłowego i octowego, zastosowano analogiczną do opatentowanej w Politechnice Łódzkiej dla dibutyrylochityny metodę, polegającą na reakcji estryfikacji, prowadzonej w warunkach heterogenicznych (chityna w stanie stałym) w obecności 70% kwasu nadchlorowego, jako katalizatora reakcji [126]. Reagenty (w przeliczeniu na 100%) stosowano w następującej proporcji:

Chityna / (BM+BO) / $\text{HClO}_4 = 1/5/1$ (mol/mol)

gdzie: BM – bezwodnik masłowy,
BO – bezwodnik octowy.

Mieszaninę acylującą sporządzano w reaktorze, wkraplając przy mieszaniu w temp. -15°C kwas nadchlorowy do mieszaniny bezwodników, odmierzonych w odpowiedniej proporcji. Suchą schłodzoną chitynę dodawano małymi porcjami do mieszaniny acylującej, mieszając zawartość reaktora, umieszczonego w łaźni chłodzącej (temperatura łaźni około -15°C). Początkowi reakcji towarzyszy gwałtowny wzrost temperatury, dlatego ważne jest powolne dozowanie chityny, intensywne mieszanie i efektywne chłodzenie środowiska reakcji. Po ustaleniu się temperatury w reaktorze na poziomie $20\text{-}25^{\circ}\text{C}$ dalszą reakcję prowadzono w termostacie w stałej temperaturze. Po zakończeniu reakcji produkty przemycano eterem usuwającym kwas masłowy, następnie wodą z dodatkiem 23% wody amoniakalnej i na końcu wodą destylowaną w celu całkowitego usunięcia

z nich pozostałości wszystkich kwasów. Produkty suszono w suszarce próżniowej w temp. 100°C do stałej wagi, a następnie poddawano dalszym badaniom.

Z uwagi na dostępność kwasu metanosulfonowego oraz jego doskonałe właściwości, jako katalizatora w reakcjach estryfikacji, alkilacji i kondensacji, postanowiono przeprowadzić również szereg prób w celu opracowania warunków syntezy kopoliestrów chityny w obecności kwasu metanosulfonowego (KMS). Kwas metanosulfonowy jest rozpuszczalnikiem chityny oraz produktów jej estryfikacji, natomiast jako bardzo mocny kwas powoduje znaczącą jej degradację.

Jednym z zadań do rozwiązania był dobór odpowiedniej proporcji bezwodników w stosunku do chityny oraz objętości kwasu metanosulfonowego w celu otrzymania dogodnej konsystencji mieszaniny reakcyjnej oraz produktu o wymaganym składzie chemicznym.

Następnym problemem wymagającym rozwiązania było ustalenie sposobu wyodrębnienia pożądanego produktu z końcowej galaretowatej masy, zawierającej kwas metanosulfonowy, kwasy masłowy i octowy, zanieczyszczenia białkowe chityny oraz część chityny nieprzereagowanej w dostatecznym stopniu. Dodanie etanolu bezpośrednio do masy poreakcyjnej w celu wyodrębnienia frakcji produktu, rozpuszczalnej w etanolu, nie było możliwe z uwagi na toksyczność powstającego przy tym etylowego estru kwasu metanosulfonowego. Postanowiono, więc wytrącać część polimerową z masy poreakcyjnej pokruszonym lodem, a następnie wyodrębniać produkt końcowy – rozpuszczalny ester chityny w kolejnych operacjach.

Kolejnym etapem pracy było ustalenie warunków reakcji estryfikacji chityny (temperatura, czas prowadzenia procesu), aby w jej wyniku tworzył się z wystarczającą wydajnością rozpuszczalny w etanolu włóknotwórczy produkt reakcji o najbardziej korzystnych wartościach lepkości istotnej, oznaczonej w DMAc, w granicach 1.6-2.5 dL/g.

W wyniku szeregu prób wstępnych ustalono, że minimalne zużycie kwasu metanosulfonowego, pozwalające na mieszanie mieszaniny reakcyjnej, wynosi 5ml/1g chityny. Pozostałe składniki mieszaniny reakcyjnej zastosowano w następującej proporcji:

Chityna / (BM+BO) = 1/4,7 (mol/mol)

Do reaktora umieszczonego w łaźni chłodzącej ($T = -15^{\circ}\text{C}$) wprowadzano kwas metanosulfonowy, a następnie mieszaninę bezwodników o określonym składzie, schłodzoną do $T = -15^{\circ}\text{C}$. Do schłodzonej cieczy dodawano małymi porcjami przy mieszaniu suchą chitynę, uprzednio schłodzoną do $T = -15^{\circ}\text{C}$. Podczas dodawania chityny temperatura w reaktorze gwałtownie wzrastała do 20-25°C. Po obniżeniu temperatury w reaktorze dalszą reakcję prowadzono w zakresie od -3°C do +20°C w różnych okresach czasu. Produkt reakcji wytrącano pokruszonym lodem i odmywano zawiesinę od kwasu metanosulfonowego

i pozostałych kwasów wodą z dodatkiem wody amoniakalnej do całkowitego ich usunięcia. Produkt pozbawiony kwasów suszono w suszarce próżniowej w temp. około 100°C do stałej wagi, a następnie poddawano próbom rozpuszczania w etanolu.

Reakcje estryfikacji w obecności kwasu nadchlorowego przy użyciu 5 g chityny krylowej MIR61 prowadzono w warunkach heterogenicznych w ciągu 3 godzin w 25°C. Otrzymane surowe produkty rozpuszczano w etanolu, DMF, NMP. Roztwory oczyszczano od części nierozpuszczalnych poprzez filtrację klarującą na sączkach szklanych G3. Z oczyszczonych roztworów wytrącano wodą końcowe produkty – rozpuszczalne kopoliestry chityny, które suszono w suszarce próżniowej do stałej wagi. Wyniki tych oznaczeń są przedstawione w tabeli 7.9.

Rozpuszczalność kopoliestrów w badanych rozpuszczalnikach organicznych pogarsza się wraz ze wzrostem udziału w nich grup octanowych. Jest to wynik oczekiwany, gdyż dioctan chityny, podobnie jak chityna, nie rozpuszcza się w popularnych rozpuszczalnikach organicznych.

Tabela 7.9. Zawartość rozpuszczalnych kopoliestrów w produktach reakcji estryfikacji chityny krylowej, katalizowanych kwasem nadchlorowym

Symbol próbki	Stosunek reagentów w mieszaninie acylującej			Masa surowego produktu reakcji	Frakcja produktu rozpuszczalna w etanolu	Frakcja produktu rozpuszczalna w DMF	Frakcja produktu rozpuszczalna w NMP
	Bezwodnik masłowy BM	Bezwodnik octowy BO	Chityna				
	[mol]	[mol]	[mol]	[g]	[%]	[%]	[%]
BAC 90/10	0,90	0,10	0,20	7,27	81,3	84,2	85,1
BAC 80/20	0,80	0,20	0,20	7,13	77,8	83,9	84,3
BAC 70/30	0,70	0,30	0,20	6,81	74,2	82,5	83,4
BAC 60/40	0,60	0,40	0,20	6,86	68,0	80,2	81,1

Najlepszym wśród zbadanych rozpuszczalników okazał się N-metylopirolidon, jednak z uwagi na planowane w dalszych częściach pracy próby przędzenia włókien kopoliestrowych z ich roztworów w etanolu, postanowiono ograniczyć eksperyment do ustalenia warunków syntezy i badania kopoliestrów chityny o zawartości grup octanowych nie wyższych niż 10% molowych.

W analogicznych warunkach jak dla chityny krylowej przeprowadzono serię syntez kopoliestrów chityny o różnym udziale grup maślanowych i octanowych w obecności kwasu nadchlorowego jako katalizatora z wykorzystaniem chityny pszczelej.

Zestawienie zawartości rozpuszczalnych kopoliestrów w produktach reakcji estryfikacji chityny pszczelej, katalizowanych kwasem nadchlorowym zamieszczono w tabeli 7.10.

Tabela 7.10. Zawartość rozpuszczalnych kopoliestrów w produktach reakcji estryfikacji chityny pszczelej, katalizowanych kwasem nadchlorowym

Symbol próbki	Stosunek reagentów w mieszaninie acylującej			Masa surowego produktu reakcji	Frakcja produktu rozpuszczalna w etanolu	Frakcja produktu rozpuszczalna w DMF	Frakcja produktu rozpuszczalna w NMP
	Bezwodnik maślanowy BM	Bezwodnik octowy BO	Chityna				
	[mol]	[mol]	[mol]	[g]	[%]	[%]	[%]
BAC-P 85/15	0,85	0,15	0,20	6,20	79,0	82,2	83,6
BAC-P 75/25	0,75	0,25	0,20	6,31	75,5	81,2	82,4
BAC-P 64/36	0,64	0,36	0,20	6,11	71,5	80,7	81,5
BAC-P 50/50	0,50	0,50	0,20	6,15	64,0	79,5	80,2

W celu potwierdzenia możliwości wykorzystania kwasu metanosulfonowego, jako efektywnego katalizatora estryfikacji, proces prowadzono, wykorzystując próbki chityny krylowej. Wstępne badania estryfikacji 10 g chityny krylowej MIR61 w obecności kwasu metanosulfonowego prowadzono w warunkach homogenicznych przy użyciu bezwodników w proporcji 90/10 (% molowe) w różnych temperaturach i różnych przedziałach czasowych. Otrzymane surowe produkty rozpuszczano w etanolu. Roztwory oczyszczano od części nierozpuszczalnych poprzez filtrację na sączkach szklanych G3. Z oczyszczonych roztworów wytrącano wodą kopoliestry chityny, które suszono w suszarce próżniowej do stałej masy.

Lepkości istotne otrzymanych próbek kopoliestrów rozpuszczalnych w etanolu oznaczano w DMAc w 25°C. Wyniki wstępnych syntez przedstawiono w tabeli 7.11.

Tabela 7.11. Wyniki próbnych syntez kopoliestru chityny o składzie molowym BM/BO=90/10 w środowisku KMS

Nr próbki	Skład mieszaniny reakcyjnej	Temperatura w reaktorze	Czas reakcji	Zawartość w produkcie frakcji rozpuszczalnej w etanolu	Lepkość istotna frakcji rozpuszczalnej w etanolu
		[°C]	[min]	[%]	[dL/g]
1	chityna 10g, BM 33,5 ml, BO 2,2 ml, KMS 50 ml	-3	120	48	4,3
2	Jw.	-2	150	52	3,8
3	Jw.	-1	180	70	3,5
4	Jw.	0	180	71	3,4
5	Jw.	+10	120	73	3,9
6	Jw.	+20	240	95	1,83

Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że przy prowadzeniu reakcji w środowisku kwasu metanosulfonowego w temp. około 20°C w czasie nie dłuższym niż 4 godziny można otrzymać z wysoką wydajnością kopoliester chityny rozpuszczalny w etanolu o lepkości istotnej, korzystnej do sporządzania z niego roztworów przeznaczonych do formowania włókien metodą z roztworu na mokro. W niskich temperaturach zmniejsza się znacząco zarówno szybkość reakcji, jak i degradacji polimeru. W takich warunkach można otrzymywać produkty o znacznie wyższym stopniu polimeryzacji. Produkty takie tworzą w etanolu roztwory o bardzo wysokiej lepkości dynamicznej, niekorzystnej do formowania włókien.

7.3.3. Analiza produktów estryfikacji chityny

Rozpuszczalne w etanolu produkty estryfikacji chityny otrzymane w obecności kwasu nadchlorowego (tabela 7.9 i 7.10) oraz w środowisku kwasu metanosulfonowego (tabela 7.11) były analizowane pod względem składu chemicznego oraz stopnia polimeryzacji, proporcjonalnego do wartości lepkości istotnej, oznaczonej w DMAc w 25°C.

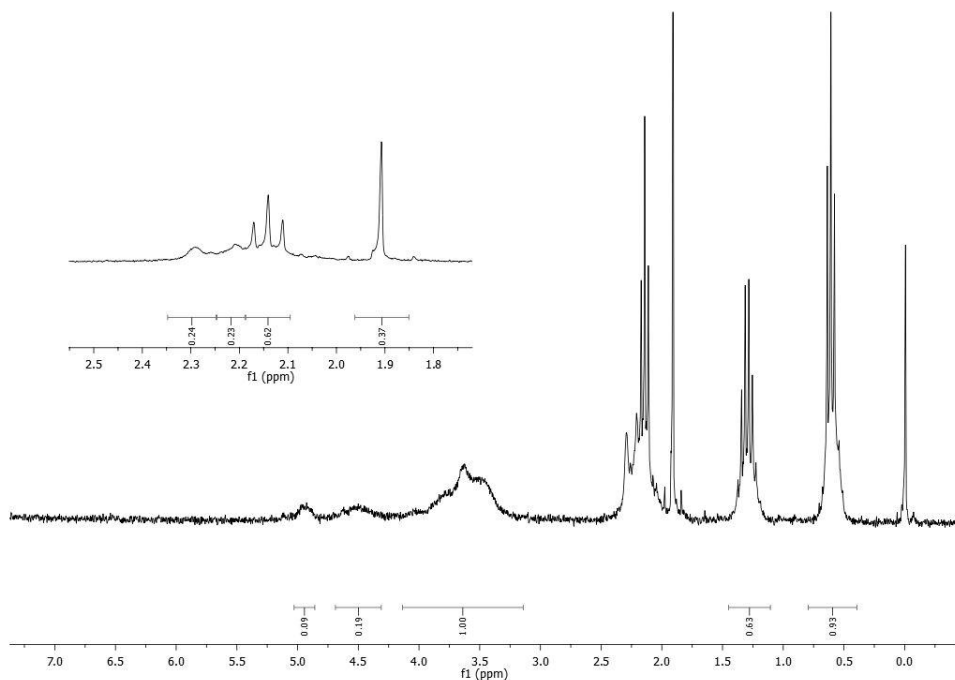
Budowę chemiczną kopoliestrów oraz wartości stopnia podstawienia chityny ustalono za pomocą rezonansu magnetycznego ¹H NMR przy użyciu spektrometru Bruker AM 400 w mieszanym rozpuszczalniku DCl i D₂O (20% w/w). Jako wzorzec zewnętrzny stosowano DSS (sól sodowa kwasu 2,2-dimetylo-2-silapentano-5-sulfonowego). Stopień podstawienia obliczono z następujących zależności:

$$DS_{Bu} = \frac{\frac{1}{3} I_{\gamma CH_3}}{\frac{1}{6} I_{H_2-H_6}} \quad (8)$$

$$DS_{Ac} = \frac{\frac{1}{3} I_{\alpha CH_3}}{\frac{1}{6} I_{H_2-H_6}} \quad (9)$$

gdzie: DS_{Bu} – stopień podstawienia grupami maślanowymi (butyrylowymi),
 DS_{Ac} – stopień podstawienia grupami octanowymi (acetylowymi),
 $I_{\gamma CH_3}$ – całkowita wartość intensywności sygnału, pochodzącego od protonów w grupie metylowej reszty kwasu masłowego przy 0.60 ppm,
 $I_{\alpha CH_3}$ – całkowita wartość intensywności sygnału, pochodzącego od protonów w grupie metylowej reszty kwasu octowego przy 2.21 ppm,
 $I_{H_2-H_6}$ – całkowita wartość intensywności sygnałów w zakresie 3.0-4.2 ppm, pochodzących od protonów H2 – H6 w członie glukozamidowym polimeru.

Przykładowe widmo kopoliestru uzyskanego w wyniku estryfikacji chityny krylowej mieszaniną estryfikującą o składzie molowym BM/BO=90/10 przedstawiono na rysunku 7.19.



Rysunek 7.19. Widmo 1H NMR kopoliestru chityny BAC 90/10/ $HClO_4$

Wyniki obliczeń stopnia podstawienia w wymienionych wyżej rozpuszczalnych w etanolu produktach estryfikacji chityny są zestawione w tabeli 7.12.

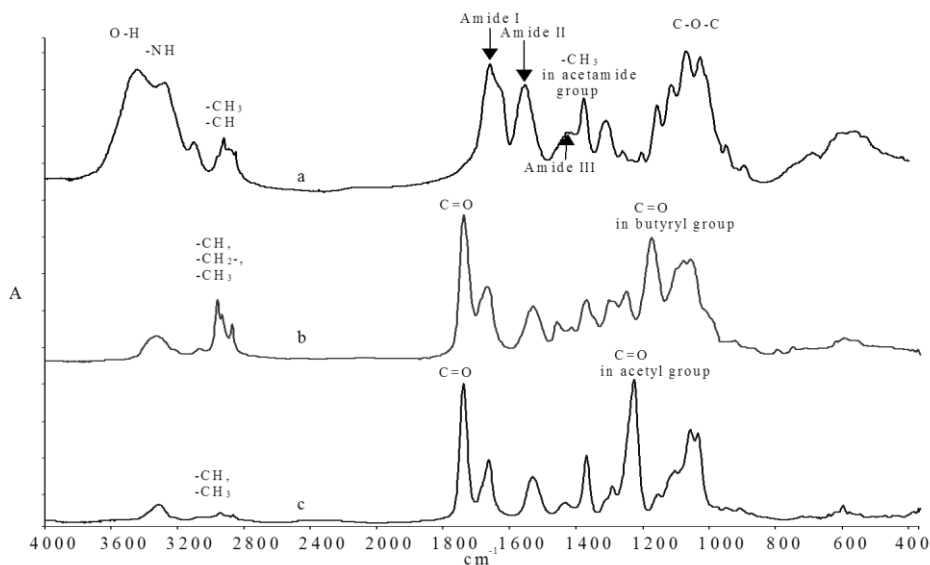
Tabela 7.12. Wpływ składu mieszaniny acylującej na stopień podstawienia grupami butyrylowymi DS_{Bu} i octanowym DS_{Ac} w łańcuchu chitynowym

Symbol próbki	Stosunek reagentów w mieszaninie acylującej [mol/mol]			Stopnie podstawienia oznaczone metodą 1H -NMR		Sumaryczny stopień podstawienia chityny
	BM	BO	chityna	DS_{Bu}	DS_{Ac}	
BAC 90/10/HClO ₄	0,90	0,10	0,2	1,81	0,24	2,05
BAC 80/20/HClO ₄	0,80	0,20	0,2	1,58	0,42	2,00
BAC 70/30/HClO ₄	0,70	0,30	0,2	1,37	0,68	2,05
BAC 60/40/HClO ₄	0,60	0,40	0,2	0,94	1,10	2,04
BAC 90/10/KMS	0,846	0,094	0,2	1,80	0,20	2,00
BAC-P 85/15 HClO ₄	0,85	0,15	0,2	1,70	0,29	1,99
BAC-P 75/25 HClO ₄	0,75	0,25	0,20	1,51	0,49	2,00
BAC-P 64/36 HClO ₄	0,64	0,36	0,20	1,29	0,71	2,00
BAC-P 50/50 HClO ₄	0,50	0,50	0,20	1,01	0,98	1,99

Z danych przedstawionych w tabeli 7.12 wynika, że we wszystkich przypadkach otrzymane rozpuszczalne w etanolu frakcje produktów estryfikacji chityny są dwu-podstawionymi pochodnymi chityny, tj. obie grupy hydroksylowe w łańcuchu chitynowym są zastąpione resztami kwasu masłowego i octowego w proporcji zbliżonej do ilości bezwodników, użytych w mieszaninach acylujących. Nieco wyższe od dwóch obliczone wartości sumarycznego stopnia podstawienia chityny mieszczą się w granicach błędów pomiarowych.

Widma FTIR rozpuszczalnych w etanolu produktów estryfikacji chityny, przygotowanych w postaci cienkich błonek, wylanych z rozcieńzonego roztworu w etanolu, zostały zarejestrowane na spektrometrze Perkin Elmer 2000 FTIR. Bezpośrednio przed rejestracją widm błonki były dodatkowo suszone w 110°C w ciągu 10 minut. Do analizy widm wykorzystano wyniki badań w podczerwieni wykonanych uprzednio dla cienkich błonek chityny, dibutyrylochityny (dwumaślanu chityny – DBC) oraz diacetylochityny (dwuoctanu chityny – DOC).

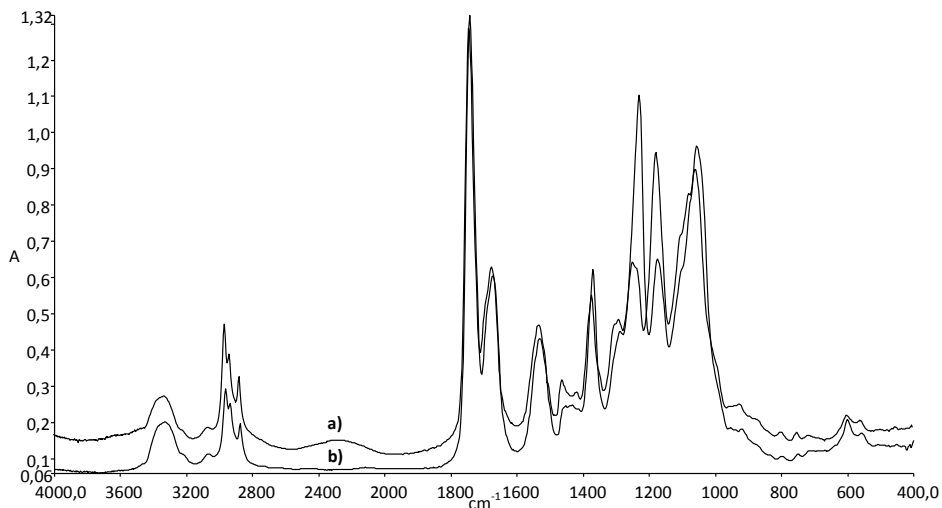
Widma tych polimerów są przedstawione na rysunku 7.19. W widmach diestrów chityny (DBC, DOC) zanika pasmo absorpcji przy 3450 cm^{-1} , pochodzące od grup O–H chityny, lecz są zachowane trzy pasma, pochodzące od grup amidowych: I – przy około 1650 cm^{-1} , II – przy 1565 cm^{-1} i III – przy 1412 cm^{-1} . Świadczy to o całkowitej estryfikacji chityny, zachodzącej bez naruszenia wiązań amidowych.



Rysunek 7.20. Widma FTIR chityny (a), dwumaślanu chityny (b) i dwuoctanu chityny (c) zarejestrowane dla cienkich błonek polimerów

W obu widmach estrów chityny pojawiają się nowe pasma intensywnej absorpcji, pochodzące od wiązania $>C=O$ w grupach estrowych: przy 1740 cm^{-1} dla obu diestrów oraz przy 1250 cm^{-1} (mniej intensywne dla DBC) i 1232 cm^{-1} (znacznie bardziej intensywne dla DOC). Analiza tych ostatnich pasm absorpcji pozwala na wyciągnięcie wniosku o udziale reszt poszczególnych kwasów (masłowego i octowego) w budowie cząsteczki kopoliestrów przy różnym udziale molowym tych kwasów w mieszaninie reakcyjnej.

Na rysunku 7.20 przedstawiono wybrane widma FTIR, zarejestrowane dla błonek o porównywalnej grubości, wylanych z roztworów próbek kopoliestrów w etanolu o skrajnych udziałach grup butyrylowych i acetylowych, tj. dla próbek BAC 90/10/ HClO_4 i BAC 60/40/ HClO_4 (tabela 7.12).



Rysunek 7.21. Widma rozpuszczalnych w etanolu kopoliestrów chityny: BAC 90/10/HClO₄ (a) oraz BAC 60/40/HClO₄ (b)

W widmach tych występują znaczące różnice w zakresie 1280-1130 cm⁻¹, świadczące o różnym udziale w kopoliestrach grup butyrylowych (bardzo duży udział w próbce BAC 90/10/HClO₄ (a) i acetylowych (duży udział w próbce BAC 60/40/HClO₄ (b).

W obu widmach estrów chityny pojawiają się nowe pasma intensywnej absorpcji, pochodzące od wiązania >C=O w grupach estrowych: przy 1740 cm⁻¹ dla obu diestrów oraz przy 1250 cm⁻¹ (mniej intensywne dla DBC) i 1232 cm⁻¹ (znacznie bardziej intensywne dla DOC). Analiza tych ostatnich pasm absorpcji pozwala na wyciągnięcie wniosku o udziale reszt poszczególnych kwasów (masłowego i octowego) w budowie cząsteczki kopoliestrów przy różnym udziale molowym tych kwasów w mieszaninie reakcyjnej.

Podsumowując ten etap pracy, można wysnuć, iż obie zastosowane metody syntezy kopoliestru butyrylowo-acetylowego chityny o różnym udziale grup maślanowych i octanowych, katalizowanej kwasem nadchlorowym (w warunkach heterogenicznych) lub kwasem metanosulfonowym (w warunkach homogenicznych) pozwalają na otrzymywanie produktu o wymaganym składzie chemicznym i wymaganej masie molowej, prezentowanej przez proporcjonalną jej wartość lepkości istotnej. Niezależnie od źródła chityny produkty estryfikacji mają analogiczną budowę chemiczną, co pozwala na stosowanie chityny z dowolnego źródła po warunkiem spełnienia odpowiednich parametrów fizykochemicznych. Znaczące zwiększenie udziału grup octanowych w produkcie końcowym pogarsza jego rozpuszczalność w etanolu, rozpuszczalniku wybranym do sporządzenia roztworów przedziałniczych, i dlatego w dalszych pracach stosowano kopoliester zawierający maksymalnie 10% molowych grup acetylowych.

7.4. Właściwości reologiczne roztworów kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny w etanolu

Korzystnym rozpuszczalnikiem do formowania włókien z estrów chityny jest etanol ze względu na jego dostępność oraz tworzenie stabilnych w czasie roztworów. Badania wstępne roztworów kopoliestrów chityny w etanolu wskazały, że istnieje możliwość otrzymania stabilnych roztworów o stężeniu do 20% w długim okresie czasu w temp. powyżej 10°C. Umożliwiło to przygotowanie roztworu oraz jego długie przechowywanie bez utraty jego właściwości początkowych. W pracy dokonano doboru stężenia roztworu przewodniczącego, tak aby jego lepkość dynamiczna pozorna mieściła się w granicach 20-40 Pas. Parametr ten uzależniony jest od charakterystyki polimeru, jego masy molowej oraz polimolekularności. W przypadku nowego kopolimeru masłowo-octanowego chityny parametrem decydującym jest także jego skład określony stosunkiem grup masłowych do octanowych. Przeprowadzone badania właściwości reologicznych kopolimeru o różnym składzie stanowiły podstawę do określenia wpływu ich charakterystyki na reologiczne zachowanie się roztworów. Parametry reologiczne roztworu, a w szczególności parametr k (będący miarą konsystencji roztworu, przekładający się na jego lepkość dynamiczną pozorną) istotnie wpływa na właściwości wytrzymałościowe formowanych włókien. Uzyskanie włókien o podwyższonej wytrzymałości związane jest także, ze stosowaniem polimeru o możliwie wysokich masach molowych. Właściwe dla otrzymania włókien o podwyższonej porowatości jest stosowanie roztworów o możliwie niskim stężeniu, bądź zapewnienie odpowiednich warunków zestawienia, tak aby proces zachodził wg mechanizmu kroplowego. Właściwy dobór obu tych parametrów jest istotny ze względu na uzyskanie założonych właściwości włókien finalnych.

Jako najbardziej dogodne do wytwarzania włókien porowatych metodą z roztworu na mokro okazał się kopolier butyrylo-acetylowy chityny o składzie, co najmniej 90% grup butyrylowych i do 10% grup acetylowych, stosując jako katalizator kwas nadchlorowy.

Obiektem badań reologicznych były roztwory kopoliestru chityny o symbolach BAC 95/5/HClO₄ i BAC 90/10/HClO₄ w etanolu. Próbki otrzymano w wyniku estryfikacji chityny krylowej MIR 61 mieszaniną bezwodników kwasów masłowego i octowego w obecności kwasu nadchlorowego. Proces estryfikacji prowadzono tak, aby syntezowane kopoliestery różniły się składem chemicznym przy zbliżonych wartościach lepkości istotnej w zakresie 1,83-1,95 dL/g (tabela 7.13).

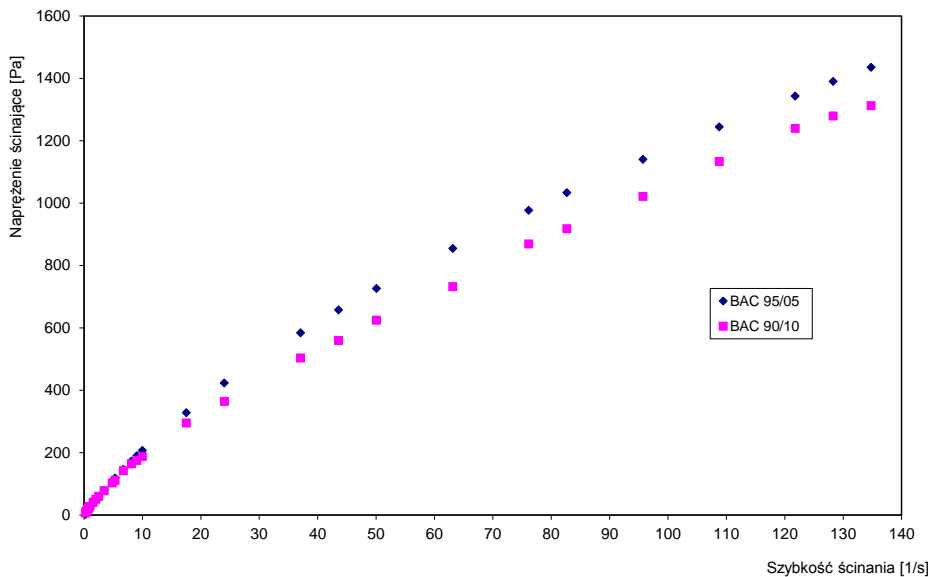
Tabela 7.13. Charakterystyka płynów przędzalniczych kopoliestru BAC 95/5/HClO₄ i BAC 90/10/HClO₄

Rodzaj kopoliestru BAC	Lepkość istotna	Stężenie kopoliestru	Parametr reologiczny	
			n	k
	[dl/g]	[%]		
BAC 95/5/HClO ₄	1,83	12,82	0,889	22,76
BAC 90/10/HClO ₄	1,95	10,65	0,819	22,53

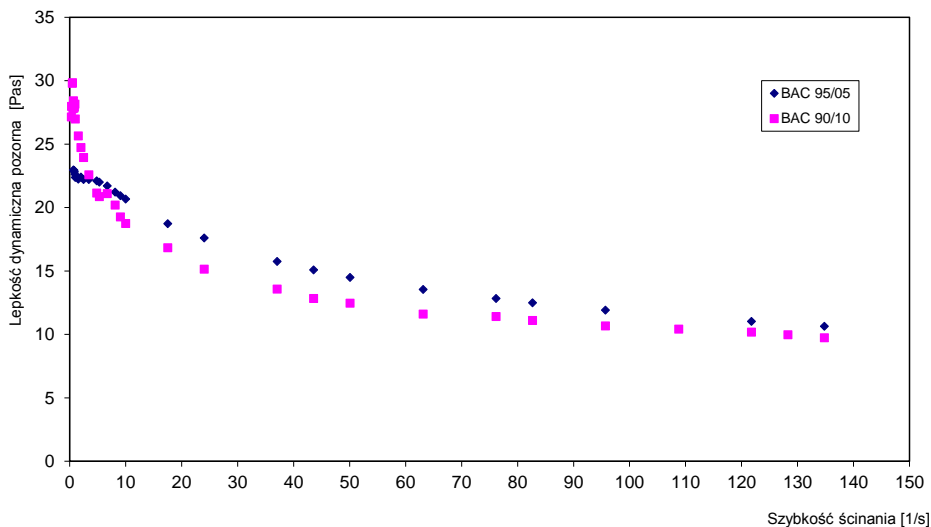
Stężenie roztworów dobierano, aby ich lepkość dynamiczna pozorna kształtowała się na dość niskim poziomie, ale umożliwiającym jeszcze ich przerób na włókna metodą z roztworu na mokro, z zachowaniem stabilności procesu formowania. Niskie stężenie roztworu przędzalniczego (10,65-12,82%), pomimo, iż stwarza niebezpieczeństwo występowania zjawiska nieciągłości strugi jest, bowiem, korzystne ze względu na porowatość uzyskiwanych włókien. Przy tych wartościach stężeń, uzyskane roztwory w etanolu charakteryzują się zbliżonymi wartościami lepkości dynamicznej pozornej (22,76-22,53 Pas). Przy założeniu stosowania możliwie niskiego stężenia roztworu przędzalniczego właściwości reologiczne płynu odgrywają szczególnie ważną rolę.

Z analizy krzywych płynięcia (rys. 7.22) wynika, iż niezależnie od składu chemicznego kopolimeru i jego lepkości istotnej, oba badane roztwory są cieczami nienewtonowskimi rozrzedzonymi ścinaniem ($n < 1$) bez granicy płynięcia. Naprężenie styczne wzrasta mniej niż proporcjonalnie wraz ze wzrostem szybkości ścinania, a krzywe płynięcia przechodzą przez początek układu współrzędnych. Bliższy cieczy newtonowskiej (wyższe wartości parametru reologicznego n) jest roztwór o symbolu BAC 95/5 uzyskany z kopolimeru o niższej wartości lepkości istotnej i stężeniu wynoszącym 12,8% (tabela 7.13). Parametr reologiczny k będący miarą konsystencji roztworu przyjmuje nieco niższą wartość rzędu 22,76 w porównaniu z roztworem BAC 90/10. Wymieniony roztwór wykazuje bardziej polimerowy charakter, co jest zgodne z wyższą wartością lepkości istotnej kopolimeru. Jednocześnie przy niższym stężeniu roztworu przędzalniczego parametr reologiczny k przybiera niższą wartość.

Zmiany lepkości dynamicznej pozornej w funkcji szybkości ścinania przedstawiono na rysunku 7.23. Dla obu badanych roztworów obserwuje się obniżenie lepkości dynamicznej pozornej w miarę wzrostu szybkości ścinania, co jest zjawiskiem typowym dla cieczy polimerowych. Wszystkie badane roztwory wykazują stabilność parametrów reologicznych w długim okresie czasu, co najmniej 72 godzin, co jest korzystne ze względu na proces technologiczny procesu wytwarzania włókien.



Rysunek 7.22. Zależność napężenia ścinającego od szybkości ścinania roztworów kopoliestru chityny BAC 95/5/HClO₄ ($\eta = 1,83$; $c\% = 12,82$) oraz BAC 90/10/HClO₄ ($\eta = 1,95$; $c\% = 10,65$)



Rysunek 7.23. Zależność lepkości dynamicznej pozornej od szybkości ścinania dla roztworów kopoliestru chityny BAC 95/5/HClO₄ ($\eta = 1,83$; $c\% = 12,82$) oraz BAC 90/10/HClO₄ ($\eta = 1,95$; $c\% = 10,65$)

Przedstawione powyżej wyniki wskazują, iż niezależnie od składu chemicznego kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny oraz jego lepkości istotnej roztwory przędzalnicze są cieczami nienewtonowskimi rozrzedzonymi ścinaniem bez granicy płynięcia. Zmniejszenie udziału grup acetylowych w kopolimerze powoduje, iż uzyskane roztwory przędzalnicze są bliższe cieczy newtonowskiej.

Dla wytypowanych kopolimerów o lepkości istotnej na poziomie 1,83-1,93 dL/g i zdefiniowanym składzie oraz określonej charakterystyce reologicznej płynu stężenie roztworu przędzalniczego powinno się zawierać w granicach 10,6-12,8%, a lepkość dynamiczna pozorna powinna być na poziomie 22,7-26,5 Pas.

7.5. Formowanie włókien z BAC

W niniejszym rozdziale przedstawiono wyniki pracy dotyczącej opracowania warunków wytwarzania włókien z BAC niezawierających nanododatków. Podstawą do ich wytypowania była analiza wpływu podstawowych parametrów procesu formowania na strukturę porowatą, właściwości sorpcyjne i wytrzymałościowe włókien. Właściwy dobór warunków formowania, w którym parametrem zmiennym była wartość wyciągu filierowego i związana z tym wielkość deformacji w etapie rozciągu, poprzedzony był ustaleniem zakresu zmian warunków zestalania oraz etapowości, mediów i temperatury procesu rozciągu.

Badania te realizowane były dla kopolimeru o różnym składzie, stanowiły one podstawę do weryfikacji składu kopolimeru, tak aby zapewniał on uzyskanie założonych korzystnych właściwości włókien [127].

7.5.1. Sposób i urządzenie do formowania włókien z BAC

W przypadku nowego polimeru – kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny spełniającego warunek rozpuszczalności w łatwo dostępnych rozpuszczalnikach, metoda formowania z roztworu na mokro jest właściwą do wytworzenia z niego włókien. Metoda ta ma także tę zaletę, iż w zależności od przeznaczenia włókien umożliwia dobór odpowiedniego rozpuszczalnika. Ze względu na potencjalne medyczne przeznaczenie włókien, takim rozpuszczalnikiem był etanol. Jednocześnie jego dobra mieszalność z wodą warunkowała prawidłowy przebieg procesu zestalania w wyniku dwukierunkowej wymiany masy. Możliwe jest także jego całkowite usunięcie w etapie płukania i suszenia włókien. Metoda formowania z roztworu na mokro ma tę przewagę w porównaniu np. z metodą formowania z roztworu na sucho, iż umożliwia (przy zastosowaniu przędzarki wyposażonej w elastyczne moduły) zmianę parametrów procesowych w szerokim zakresie, co stanowi warunek właściwego doboru struktury i właściwości włókien. Możliwe jest także takie sterowanie parametrami procesowymi, aby uzyskać założony poziom tych właściwości.

Urządzenie do formowania włókien

Do formowania włókien z BAC stosowano przędzarkę wielkolaboratoryjną, której konstrukcja umożliwia stabilizację parametrów technologicznych na założonym poziomie, a ciągła ich kontrola dawała możliwości zmian parametrów procesowych w szerokim zakresie. Zastosowane układy rozciągające umożliwiały płynną regulację prędkości oraz jej stabilizację na żądanym poziomie. Możliwy do uzyskania zakres zmian prędkości liniowej wynosił od 0,5 do 33 m/min. Stopień rozciągu kontrolowano poprzez ciągły pomiar prędkości obrotowej punktów rozciągających przy zastosowaniu cyfrowego miernika częstotliwości. Kąpiele zestalająca i plastyfikująca znajdowały się w ciągłym obiegu, przy czym kąpiel koagulacyjna była doprowadzona współprądowo do biegu zestalanego włókna, natomiast kąpiel plastyfikująca była doprowadzona przeciwaprądowo. Stężenia kąpeli były utrzymywane na stałym poziomie poprzez korektę zmian składu w zbiornikach pośrednich, do których przy za pomocą mikropomp dozowano odpowiednią ilość czynnika zestalającego (wody). Włókna formowano przy zastosowaniu dyszy 240 otworowej o średnicy otworków 0,08 mm.

Proces zestalania prowadzono w kąpeli zawierającej rozpuszczalnik (alkohol etylowy) oraz nierozpuszczalnik (woda) o składzie i temperaturze dobranych w trakcie realizowanych badań.

Proces rozciągu realizowano dwuetapowo w wodnej kąpeli plastyfikacyjnej o temp. 25°C bądź 65°C (w zależności od stosowanego wariantu procesu), a następnie w przegrzanej parze wodnej o temp. 135-140°C. W obu etapach procesu rozciągu (realizowanego w sposób ciągły) stosowano maksymalne deformacje możliwe do uzyskania w danych warunkach. Po procesie płukania włókna były suszone w warunkach izometrycznych, w temperaturze pokojowej.

7.5.2. Metody badania struktury i właściwości włókien

Porowatość włókien oznaczano metodą porozymetrii rtęciowej przy zastosowaniu porozymetru Pascal sprzężonego z systemem komputerowym umożliwiającym rejestrację porów o średnicy z zakresu 3-7500 nm. Wyznaczono całkowitą objętość porów poszczególnych rozmiarów oraz ich powierzchnię wewnętrzną.

Stopień krystaliczności i wielkość obszarów krystalicznych wyznaczono metodą szerokątowego rozpraszania promieniowania rentgenowskiego (WAXS). Badania wykonano za pomocą dyfraktometru URD 6 firmy Seifert (Niemcy) wyposażonego w lampę miedziową emitującą promieniowanie o długości fali $\lambda = 1,54 \text{ \AA}$ przy parametrach zasilania $U = 40 \text{ kV}$ i $I = 30 \text{ mA}$. Promieniowanie było monochromatyczne za pomocą filtra niklowego. Krzywe dyfrakcyjne rejestrowano, stosując metodę odbiciową i tryb skokowy pomiaru. Zakres kątowy rejestracji wynosił dla kąta 2θ od 6.5° do 60° ze skokiem 0.1° . Badane włókna były proszkowane za pomocą mikrotomu w celu zlikwidowania tekstury,

a następnie prasowane w tabletki o średnicy ok. 2 cm i grubości 1 mm. Analizę krzywych dyfrakcyjnych WAXS oraz obliczenia stopnia krystaliczności wykonano za pomocą programu komputerowego WAXFIT. W pierwszym etapie, od krzywych było odejmowane liniowe tło wyznaczone na podstawie poziomu natężenia promieniowania w zakresie małych i dużych kątów rozpraszania. Ponadto, dyfraktogramy były normalizowane do jednakowego integralnego natężenia promieniowania w całym zakresie pomiarowym. Następnie, eksperymentalne krzywe dyfrakcyjne były aproksymowane przez krzywą teoretyczną będącą sumą funkcji reprezentujących poszczególne piki krystaliczne i składową amorficzną. Procedurę dopasowania krzywych realizowano, stosując optymalizację wielokryterialną oraz system hybrydowy łączący algorytm genetyczny z klasyczną metodą optymalizacyjną Powella.

Badania powierzchni włókien wykonano przy użyciu mikroskopu sił atomowych (AFM), wykorzystując System MultiView 1000TM w trybie przerywanego kontaktu (ang. Tapping mode), wykorzystując ostrze szklane pokryte złotem firmy Nanonics typu SuperSensorTM promieniu krzywizny $f = 20$ nm i częstotści $f_0 = 47$ kHz. Analizę przeprowadzono za pomocą programu WSxM 5.0.

Sorpcję wilgoci włókien w 65% RH oraz w 100% RH wyznaczano zgodnie z normą PN-P-04601:1991.

Retencję wody oznaczono po umieszczeniu włókien w wodzie z dodatkiem środka powierzchniowo-czynnego Rokafenol w czasie 24 godzin. Odnoszono masę próbki włókien po odwirowaniu z przyspieszeniem 10000 m/s² do masy suchych włókien. Podawano wartość średnią z 5 pomiarów.

Wytrzymałość właściwą włókien i wydłużenie przy zerwaniu oznaczano na urządzeniu do badania wytrzymałości typu Instron zgodnie z normą PN-EN-ISO-268:1997.

Ze względu na rolę, jaką włókna te spełniać będą w kompozycie polimerowo-włóknistym dążono do uzyskania ich możliwie wysokiej porowatości. Od wartości całkowitej objętości porów oraz charakteru struktury porowatej zależniona są, bowiem w przypadku hydrofobowego tworzywa, właściwości sorpcyjne włókien. Jednocześnie właściwości wytrzymałościowe włókien muszą być na poziomie odpowiednim do wytwarzania kompozytu typu MD, w którym włókna odcinkowe rozproszone są w matrycy polimerowej. Zakładano, iż uzyskanie takich właściwości włókien będzie możliwe w wyniku ukierunkowanego doboru parametrów procesu ich wytwarzania. Dążono do uzyskania włókien łączących dobre właściwości wytrzymałościowe z podwyższoną porowatością.

Wyniki tak ukierunkowanych badań stanowiły podstawę do wytypowania najbardziej korzystnych ze względu na ich przeznaczenie warunków wytwarzania włókien z BAC.

Obiektem badań stosowanym do formowania włókien były otrzymane bezpośrednio po etapie syntezy roztwory przedzalnice kopoliestru chityny uzyskane w wyniku estryfikacji chityny krylowej MIR 61 mieszaniną bezwodników kwasów masłowego i octowego katalizowanej kwasem nadchlorowym o symbolu BAC

90/10/HClO₄ oraz BAC 95/5/HClO₄. Roztwory były sporządzane w etanolu ze względu na przeznaczenie włókien do celów medycznych.

7.5.3. Dobór warunków zestalania i rozciągu w kąpeli plastyfikacyjnej dla formowania włókien z BAC 95/5/HClO₄

Struktura i właściwości finalnych włókien są uzależnione od przebiegu procesu zestalania oraz podatności wytworzonej w tym etapie struktury na procesy deformacyjne w kolejnych etapach rozciągu.

Dążąc do uzyskania włókien z kopoliestru chityny o możliwie wysokiej porowatości, przy jednocześnie dobrych właściwościach wytrzymałościowych, postanowiono proces zestalania prowadzić w niskiej temperaturze 15°C, właściwej także ze względu na charakter stosowanego rozpuszczalnika.

Parametrem podlegającym doborowi była zawartość rozpuszczalnika w kąpeli, zawierająca się w zakresie od 5% do wartości granicznej umożliwiającej prawidłowy proces zestalania wynoszącej 25%.

Proces prowadzono przy dodatniej wartości wyciągu filierowego +10%, co powinno sprzyjać uzyskiwaniu włókien o podwyższonej porowatości. Pierwszy etap rozciągu realizowano w wodnej kąpeli plastyfikacyjnej o temperaturze 25°C, a drugi etap w przegrzanej parze wodnej w temperaturze 135°C, przy deformacjach zbliżonych do wartości maksymalnych. Oba media procesu rozciągu dobrano w wyniku przeprowadzonych badań wstępnych.

Tabela 7.14. Warunki formowania włókien z polimeru o symbolu BAC 95/5/HClO₄

Symbol próbki	Stężenie C ₂ H ₅ OH w kąpeli koagulacyjnej	Temp. kąpeli koagulacyjnej	Kąpiel plastyfikacyjna	Temp. kąpeli plastyfikacyjnej	Wyciąg filierowy	Rozciąg		
						R ₁	R ₂	R _c
	[%]	[°C]		[°C]	[%]	[%]	[%]	
B1	5	15	woda	25	+10	38,50	379,38	563,95
B2	10	15	woda	25	+10	54,72	347,33	592,14
B3	15	15	woda	25	+10	43,06	404,46	621,64
B4	20	15	woda	25	+10	57,97	359,07	625,20
B5	25	15	woda	25	+10	49,76	365,82	597,62
B6	20	15	woda	25	+30	26,17	319,41	429,17
B7	10	15	woda	65	+10	88,76	228,53	520,13
B8	10	15	woda	65	+10	rozciąg jednoetapowy R _c = R ₁ = 88,76%		
B9	15	15	woda	65	+10	139,05	132,62	456,08

Z analizy podatności na deformacje struktury wytworzonej podczas zestalania włókien w kąpielach o różnym składzie (tabela 7.14) wynika, iż ze zwiększeniem udziału rozpuszczalnika do 20% związany jest wzrost możliwej do uzyskania wartości rozciągu całkowitego do poziomu 625%. Nie przekłada się to jednak w sposób znaczący na właściwości wytrzymałościowe włókien, które zawierają się w granicach 16-18 cN/tex (tabela 7.15). Najwyższą wartością wytrzymałości właściwej 18 cN/tex odznaczają się włókna zestalane w kąpeli o 15% zawartości rozpuszczalnika. Wynika to z faktu, iż w ich przypadku (przy niższej deformacji w kąpeli plastyfikacyjnej) wartość rozciągu w drugim etapie procesu była najwyższa – powyżej 400%.

Tabela 7.15. Właściwości wytrzymałościowe włókien uzyskanych z BAC 95/5/HClO₄ formowanych przy zmiennej zawartości rozpuszczalnika w kąpeli zestalającej

Symbol próbki	Wyciąg filerowy	Rozciąg całkowity	Wytrzymałość właściwa	Wydłużenie	Moduł Younga
	[%]	[%]	[cN/tex]	[%]	[Pa]
B1	+10	563,95	16,31	2,49	10,27
B2	+10	592,14	16,13	2,17	10,74
B3	+10	621,64	18,41	2,42	10,47
B4	+10	625,20	16,45	1,93	10,38
B5	+10	597,62	14,51	1,85	10,06
B6	+30	429,17	14,63	2,18	8,85
B7	+10	520,13	21,11	3,42	10,57
B9	+10	456,08	17,96	3,86	8,15
B8	+10	rozciąg jednoetapowy $R_c = R_1 = 8,76\%$	11,23	4,54	4,53

W trakcie badań określono, iż stężenie maksymalne etanolu w kąpeli zestalającej wynosiło 25% (próbka B5). Dalsze zwiększanie ilości rozpuszczalnika w kąpeli zestalającej do wartości granicznej wynoszącej 25% powoduje już spadek podatności na deformacje w drugim etapie rozciągu oraz zmniejszenie wartości rozciągu całkowitego. Skutkuje to obniżeniem wytrzymałości właściwej włókien do 14,5 cN/tex. Dodatkowo przy zastosowaniu kąpeli o 20% zawartości rozpuszczalnika przeprowadzono próbę formowania włókien przy wyższej wartości wyciągu filerowego +30% (próbka B6). Uzyskane w tych warunkach włókna wykazują niższą podatność na deformacje szczególnie w pierwszym etapie rozciągu, a wartość rozciągu całkowitego jest na poziomie 430%. Efektem tego jest uzyskanie wytrzymałości właściwej włókien rzędu 14 cN/tex. W związku z tym dobór temperatury kąpeli plastyfikacyjnej prowadzono dla włókien formowanych przy wyciągu filerowym +10%. Podwyższenie temperatury kąpeli

plastyfikacyjnej do poziomu 65°C, ze względu na zwiększoną ruchliwość makrocząsteczek tworzywa, pozytywnie wpłynęło na podatność na deformacje w tym etapie procesu. W przypadku włókien zestalanych w kąpielach o 10% zawartości rozpuszczalnika powodowało to wzrost ich wytrzymałości do 21,1 cN/tex (próbka B7). Natomiast dla włókien zestalanych w kąpeli o 15% stężeniu etanolu i rozciąganych w kąpeli plastyfikacyjnej zarówno o temp. 25°C, jak i 65°C poziom wytrzymałości właściwej był zbliżony (około 18 cN/tex) (próbka B3 oraz B9). Dzieje się tak dlatego, iż przy wysokiej podatności na deformację w pierwszym etapie rozciągu $R_1 = 139,0\%$ (tabela 7.15) włókien zestalanych w łagodnych warunkach, wartość rozciągu w przegrzanej parze ulega znaczącemu obniżeniu do wartości porównywalnej w pierwszym etapie. W konsekwencji powoduje to, iż wartość rozciągu całkowitego jest, aż o 165% niższa w porównaniu do wartości uzyskiwanej dla włókien rozciąganych w kąpeli plastyfikacyjnej o temp. 25°C. Celowe jest więc prowadzenie procesu pierwszego etapu rozciągu włókien w kąpeli o temperaturze 65°C, wówczas gdy proces zestalania realizowany jest w kąpeli o 10% zawartości rozpuszczalnika. Dość niskie jego stężenie powinno także sprzyjać wykształceniu się struktury porowatej włókien. Konieczność prowadzenia dwuetapowego procesu rozciągania potwierdził fakt, iż włókna po procesie rozciągu w kąpeli plastyfikacyjnej o temp. 65°C wykazują wytrzymałość o 10 cN/tex niższą (próbka B8) w porównaniu do poddawanych dodatkowemu rozciągowi w przegrzanej parze wodnej (próbka B7).

7.5.4. Badania nad doбором warunków formowania włókien z BAC 90/10/HClO₄

Badania nad doбором warunków zestalania i rozciągu plastyfikacyjnego przeprowadzono także dla włókien z BAC 90/10/HClO₄. Wykazały one, iż ze stosowaniem roztworów przedzalniczych z tego polimeru związane jest znaczne obniżenie stabilności procesu formowania włókien. Możliwe jest realizowanie procesu formowania wyłącznie w wąskim zakresie ujemnych wartości wyciągu filierowego. W zależności od zawartości rozpuszczalnika w kąpeli zestalającej zawiera się on w zakresie od 0% do -20% (tabela 7.16). Takie zachowanie może wynikać ze zwiększonego udziału grup acetylowych w makrocząsteczce tworzywa, co z kolei wpływa na charakter żelu powstającego w trakcie zestalania oraz proces przemian fazowych. Nie wyklucza to jednak możliwości uzyskania włókien o wytrzymałości 21-22 cN/tex (tabela 7.17) i jednocześnie dobrych, jak dla hydrofobowego tworzywa, właściwościach sorpcyjnych i retencji wody na poziomie dochodzącym do 50%. Wartości tych wskaźników mogą świadczyć o podwyższonej porowatości włókien. Charakterystyczne jest, iż właściwości te uzyskuje się w wyniku prowadzenia pierwszego etapu rozciągu w kąpeli plastyfikacyjnej o temp. 25°C. Drugi etap rozciągu realizowany był w przegrzanej parze wodnej analogicznie jak dla włókien z kopolimeru BAC 95/5/HClO₄.

Tabela 7.16. Warunki formowania włókien z polimeru o symbolu BAC 90/10/HClO₄.

Symbol próbki	Stężenie C ₂ H ₅ OH w kąpieli koagulacyjnej	Temp. kąpieli koagulacyjnej	Kąpiel plastyfikacyjna	Temp. kąpieli plastyfikacyjnej	Wyciąg filiterowy	Rozciąg		
						R ₁	R ₂	R _c
	[%]	[°C]		[°C]	[%]	[%]	[%]	
C1	5	15	woda	25	-20	77,18	408,37	800,75
C2	10	15	woda	25	-10	82,04	434,07	872,33
C3	15	15	woda	25	0	91,37	297,26	660,07

Tabela 7.17. Właściwości włókien uzyskanych z polimeru o symbolu BAC 90/10/HClO₄

Symbol próbki	Wyciąg filiterowy	Rozciąg całkowity	Sorpcja w 65% RH	Sorpcja w 100% RH	Retencja	Wytrzymałość właściwa	Wydłużenie	Moduł Younga
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[cN/tex]	[%]	[Pa]
C1	-20	800,75	6,08	10,10	49,90	21,04	3,70	9,87
C2	-10	872,33	5,98	12,04	48,53	22,81	4,27	10,29
C3	0	660,07	5,23	11,21	50,86	21,36	4,39	9,31

Zastosowanie kopoliestru BAC 90/10/HClO₄ syntezowanego z chityny krylowej, pomimo uzyskania włókien charakteryzujących się wytrzymałością przewyższającą wartość 21 cN/tex i retencji sięgającej 50%, do otrzymywania włókien przeznaczonych na kompozyty jest znacznie utrudnione ze względu na brak stabilności procesu. Obserwowano w trakcie formowania włókien gwałtowne skoki ciśnienia w układzie zasilającym, co z kolei skutkowało częstymi zrywami strugi roztworu przędzalniczego. Trudności występujące w czasie formowania, powodujące częste przestoje oraz konieczność oczyszczania układu zasilającego, spowodowały, iż do dalszych prac wykorzystano kopolimer BAC 95/5/HClO₄ o lepkości istotnej 1,83 dL/g.

7.5.5. Wpływ wyciągu filierowego i deformacji w etapach rozciągania na strukturę i właściwości włókien z BAC 95/5/HClO₄

Podstawowym parametrem, od którego uzależniona jest struktura włókien po etapie zestalania oraz jej podatność na procesy deformacyjne w kolejnych etapach rozciągania, jest wartość wyciągu filierowego. W przypadku sztywnej budowy makrocząsteczki tworzywa istotną rolę odgrywa deformacja elementów strukturalnych w jeszcze płynnej strudze. Jest ona związana z wartością podłużnego gradientu prędkości, zmieniającego się wzdłuż drogi formowania i uzależnionego od wartości wyciągu filierowego.

Dla włókien z kopoliestru chityny BAC 95/5/HClO₄ stosowano szeroki zakres zmian wyciągu filierowego od -20% do +50%. Szczegółowe warunki procesu formowania były zgodne z wytypowanymi w poprzednim punkcie pracy dla włókien o symbolu B7, tj. w kąpeli koagulacyjnej o temp. 65°C i stężeniu etanolu 10% (tabela 7.14).

Tabela 7.18. Warunki formowania i właściwości wytrzymałościowe włókien uzyskanych z polimeru o symbolu BAC 95/5/HClO₄ i wytwarzanych przy zmiennej wartości wyciągu filierowego

Symbol próbki	Wyciąg filierowy	Rozciąg			Wytrzymałość właściwa	Wydłużenie	Moduł Younga
		R ₁	R ₂	R _c			
	[%]	[%]	[%]	[%]	[cN/tex]	[%]	[Pa]
B10	-20	133,41	194,23	586,77	22,73	4,05	9,70
B11	-10	135,80	155,99	503,63	23,37	4,51	9,40
B12	0	141,30	163,11	534,88	23,49	4,21	9,60
B13	+10	122,88	200,61	570,00	24,77	3,90	11,03
B14	+30	121,72	168,31	494,90	19,47	3,92	8,18
B15	+50	109,30	151,54	426,48	22,77	4,27	9,13

Ze zmian wyciągu filierowego od ujemnych do nieznacznie dodatnich wartości na poziomie +10% związane jest podwyższenie wytrzymałości właściwej włókien o około 2 cN/tex (tabela 7.18). Najwyższą wartością tego wskaźnika rzędu 24,77 cN/tex odznaczają się włókna formowane przy wyciągu filierowym +10%. Związane jest to z faktem, iż w ich przypadku, przy niewielkich różnicach w wartości rozciągania całkowitego (próbka B10 w porównaniu do B13), możliwa do uzyskania wartość rozciągania w drugim etapie procesu była najwyższa na poziomie 200,6% (tabela 7.18). Dalsze zwiększanie wartości wyciągu filierowego prowadzi do obniżenia możliwej do uzyskania wielkości

deformacji zarówno w pierwszym, jak i w drugim etapie procesu rozciągu. Jednocześnie wartość rozciągu całkowitego ulega obniżeniu o około 144%. Skutkiem tego jest obniżenie wytrzymałości właściwej włókien od 3,13 do 5,3 cN/tex. Wydłużenie przy zerwaniu włókien formowanych w powyższych warunkach zawiera się w granicach od 3,9-4,2%. Najwyższą wartością modułu Younga na poziomie 11,03 Pa odznaczają się włókna formowane przy wyciągu filierowym +10%. Taki poziom modułu Younga i wysokiej wytrzymałości powyżej 24 cN/tex można uznać za predysponujące je do zastosowania jako składnika włóknistego w kompozytach polimerowo włóknistych, nie tylko w postaci włókien odcinkowych, ale także wiązki włókien. Jednocześnie włókna te odznaczają się będą zdolnością do pochłaniania płynów fizjologicznych. Stanowi to warunek konieczny do stopniowej resorpcji składnika włóknistego kompozytu. W wyniku tego procesu zostanie wytworzony dodatkowo system porów o rozmiarach mikrometrycznych odpowiadających średnicy włókien. Sprzyjać to będzie migracji komórek kostnych i procesowi ich wzrostu w obrębie całego materiału kompozytowego. Z analizy właściwości sorpcyjnych włókien z BAC wynika, iż sorpcja wilgoci w 65% RH zawiera się w zakresie (wysokich jak dla hydrofobowego tworzywa) wartości na poziomie 4,7% do 7,2% (tabela 7.19).

Tabela 7.19. Struktura porowata i właściwości sorpcyjne włókien uzyskanych z polimeru o symbolu BAC 95/5/HClO₄ i wytwarzanych przy zmiennej wartości wyciągu filierowego.

Symbol próbki	Wyciąg filierowy	Sorpcja w 65% RH	Sorpcja w 100% RH	Retencja wody	Całkowita objętość porów P	Całkowita objętość porów do 1000nm P ₁	Całkowita powierzchnia wewnętrzna porów
	[%]	[%]	[%]	[%]	[cm ³ /g]	[cm ³ /g]	[m ² /g]
B10	-20	7,2	13,80	35,49	0,913	0,197	9,581
B11	-10	7,05	13,49	32,42	2,132	0,415	37,413
B12	0	6,73	10,88	32,74	0,490	0,184	17,871
B13	+10	5,93	11,74	31,43	0,739	0,253	36,904
B14	+30	6,03	10,99	30,02	0,620	0,168	16,63
B15	+50	4,79	10,01	29,99	0,650	0,246	28,394

Jednocześnie wraz ze zmianą wyciągu filierowego od ujemnych do dodatnich wartości występuje nietypowa tendencja obniżenia wartości tego wskaźnika. Podobna tendencja zmian zaznacza się w przypadku sorpcji wilgoci w 100% RH oraz retencji wody. Wartości obu tych wskaźników kształtują się także na wysokim poziomie odpowiednio w zakresie 10,0-13,8% oraz od 30% do 35,5%.

Taki rząd wielkości sorpcji wilgoci w 100% RH oraz retencji wody wynika zarówno z porowatości włókien, jak i charakteru wytworzonej struktury porowatej. Jako system porów występujących we włóknach przyjęto (zgodnie z wcześniejszymi ustaleniami) pory o rozmiarach 3-1000 nm, a odpowiadającą im całkowitą objętość porów oznaczono jako P_1 . Natomiast porowatość materiału włóknistego, oznaczona jako P , obejmuje pory o rozmiarach do 7500 nm. Uwzględnia ona również szczeliny występujące na powierzchni włókien (tabela 7.19)

Generalnie zarówno wartości całkowitej objętości porów P , jak i objętości porów o rozmiarach do 1000 nm można uznać za wysokie, odpowiednio na poziomie 0,5-0,9 cm^3/g oraz 0,17-0,25 cm^3/g . Pozwala to na zaliczenie uzyskanych włókien z BAC 95/5/ HClO_4 do grupy włókien wysokoporowatych. Zrozumiałe są w takiej sytuacji wysokie wartości sorpcji wilgoci w 100% RH oraz retencji wody. Związane są one także z charakterem wytworzonej struktury porowatej. Krzywe udziałów procentowych porów w funkcji ich promienia (rysunek 7.24) charakteryzują się występowaniem szeregu następujących po sobie maksimów usytuowanych w zakresie poszczególnych rozmiarów porów. Ich wysokość zróżnicowana jest w zależności od wartości wyciągu filierowego, przy którym włókna były formowane. Występujące na krzywej rozkładu porów wysokie maksima w zakresie porów o największych rozmiarach (do 7500 nm) związane są z porowatością materiału włóknistego. Analizując właściwości sorpcyjne włókien w aspekcie struktury porowatej, przyjmuje się, iż w przypadku hydrofobowego tworzywa o wartości sorpcji wilgoci w 100% RH decyduje głównie udział procentowy porów o rozmiarach na tyle małych, aby były zdolne do pochłaniania wilgoci na zasadzie zjawiska kondensacji kapilarnej. Odpowiadają temu z reguły dwa pierwsze maksima na wykresie krzywej rozkładu porów. Za wartość retencji wody odpowiedzialne są natomiast pory na tyle duże, aby mogła w nie wnikać woda oraz na tyle małe, aby były zdolne do jej zatrzymywania po procesie mechanicznego usuwania. Dotyczy to z reguły porów o tzw. dużych rozmiarach od 300 do 1000 nm. Ich udziały procentowe obrazują głównie trzecie maksimum na rysunku 7.30.

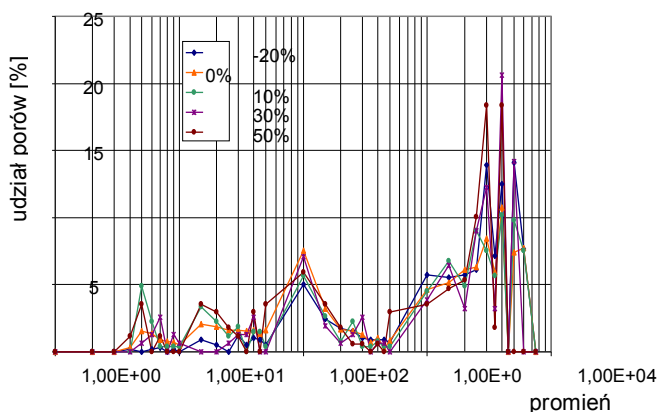
Charakterystyczne jest, iż włókna z BAC 95/5/ HClO_4 formowane przy wyciągu filierowym 10% odznaczające się najwyższą wartością wytrzymałości właściwej 24,77 cN/tex , wykazują jednocześnie jedną z najwyższych wartości całkowitej objętości porów rzędu 0,25 cm^3/g oraz bardzo wysoką powierzchnię wewnętrzną porów, co pozostaje w zgodności z wysokością pierwszego maksimum na krzywej rozkładu porów.

Obecność we włóknach BAC 95/5/ HClO_4 porów o zróżnicowanych rozmiarach widoczna jest na zdjęciach przekrojów włókien uzyskanych z mikroskopu skaningowego. Kształt przekroju poprzecznego wykazuje zróżnicowanie w zależności od stosowanej wartości wyciągu filierowego, przy którym były formowane włókna. Włókna wytworzone przy wyciągu filierowym – 10%

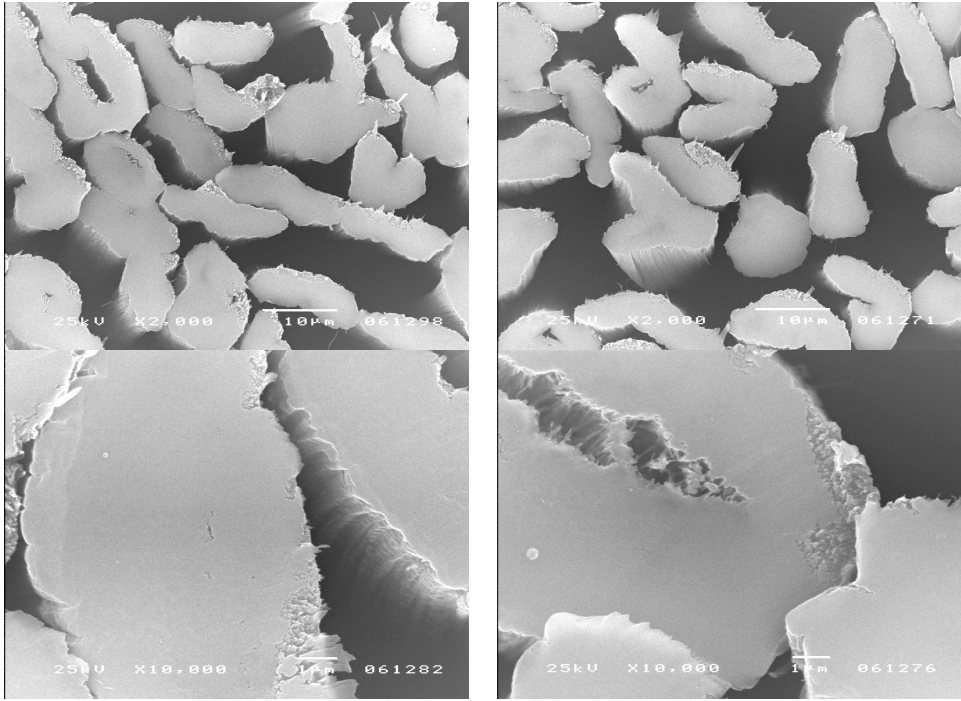
wykazują kształt zbliżony do fasolki, natomiast przekrój włókien formowanych przy dodatniej wartości wyciągu zbliża się bardziej do okrągłego (rys. 7.25). Powierzchnia włókien charakteryzuje się obecnością licznych rys i szczelin, co jest typowe dla włókien formowanych z roztworu na mokro. Niejednorodność powierzchni włókien wyraźnie uwidacznia się na zdjęciach z AFM.

Typowy, dla zestalania w łagodnych warunkach i przebiegu procesu zestalania według mechanizmu dyfuzyjnego, drobno porowaty charakter struktury widoczny jest na zdjęciu z mikroskopu skaningowego (rys. 7.25). Brak jest radialnie ułożonych porów i pustych przestrzeni typowych dla mechanizmu kropłowego.

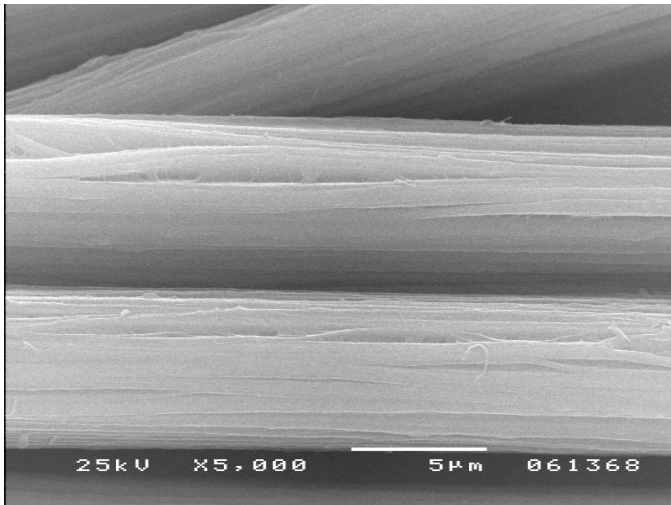
Z analizy zdjęć przekrojów poprzecznych włókien finalnych formowanych przy różnych wyciągach filierowych -10% (B11), +10% (B13) i +30% (B14) wynika, iż zmiana wyciągu filierowego od ujemnych do dodatnich wartości uwidacznia się pewnym spłaszczeniem przekroju poprzecznego włókien. Podobną tendencję obserwowano także w przypadku włókien z alginianu wapnia. Jednak włókna z BAC 95/5/HClO₄ charakteryzują się dużą niejednorodnością przekroju poprzecznego. W wiązce włókien obecne są włókna zarówno o przekroju zbliżonym do fasolki jak także o przekroju zbliżonym do okrągłego bądź spłaszczonym. Udział tych ostatnich jest przeważający dla włókien formowanych przy wyciągu filierowym +30%. Natomiast włókna formowane przy wyciągu filierowym -10% wykazują większy udział w wiązce włókien o kształcie zbliżonym do fasolki. Kształt ten jest także dominujący w przypadku włókien formowanych przy wyciągu filierowym +10%, których wytrzymałość jest najwyższa. Powierzchnia włókien charakteryzuje się obecnością licznych rys i szczelin o zróżnicowanej głębokości, co jest typowe dla włókien formowanych z roztworu na mokro (rys. 7.24). Niejednorodność powierzchni włókien widoczna jest także na zdjęciach z AFM (rys. 7.27).



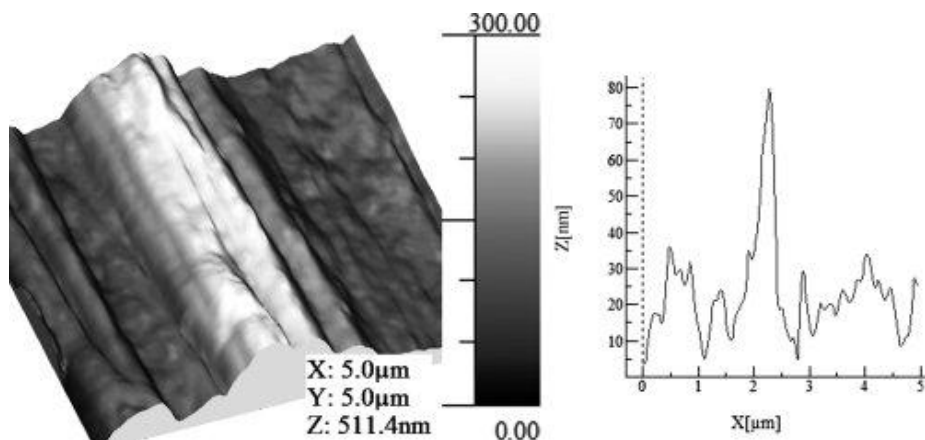
Rysunek 7.24. Zależność udziałów procentowych porów w funkcji ich promienia dla włókien z kopoliestru BAC 95/5/HClO₄



Rysunek 7.25. Zdjęcia przekrojów poprzecznych włókien z BAC 95/5/HClO₄ formowanych przy wyciągu filerowym



Rysunek 7.26. Zdjęcie SEM powierzchni włókien z kopolimeru BAC 95/5/HClO₄



Rysunek 7.27. Zdjęcie AFM powierzchni włókien z BAC 95/5/HClO₄

Pomimo różnic w wartościach rozciągu całkowitego oraz rozciągach w poszczególnych etapach procesu (związanych ze zmianą wyciągu filierowego w szerokim zakresie od ujemnych do dodatnich wartości) właściwości wytrzymałościowe włókien z BAC 95/5/HClO₄ kształtują się na dość zbliżonym poziomie. Najwyższe wartości wytrzymałości właściwej na poziomie 24,77 cN/tex wykazują włókna formowane przy umiarkowanie dodatniej wartości wyciągu filierowego +10%, stosując jako kąpiel koagulacyjną roztwór etanolowy o stężeniu 15% i temp. 15°C i kąpiel plastykującą o temp 25°C. Wynika to z pozytywnego wpływu deformacji jeszcze płynnej strugi podczas zestalania włókien.

W całym zakresie zmian wyciągu filierowego uzyskane włókna z BAC 95/5/HClO₄ charakteryzują się wysoką całkowitą objętością porów, co pozwala na zaliczenie ich do grupy włókien wysoko porowatych. Z charakterem wytworzonej struktury porowatej oraz wartością całkowitej objętości porów związane są wysokie, jak dla hydrofobowego tworzywa, właściwości sorpcyjne oraz bardzo wysokie wartości retencji wody.

Dla włókien z BAC 95/5/HClO₄ uzyskano unikatowe połączenie wysokiej porowatości z dobrą wytrzymałością właściwą powyżej 24 cN/tex.

7.6. Charakterystyka stosowanych nanododatków i proces ich sonikacji

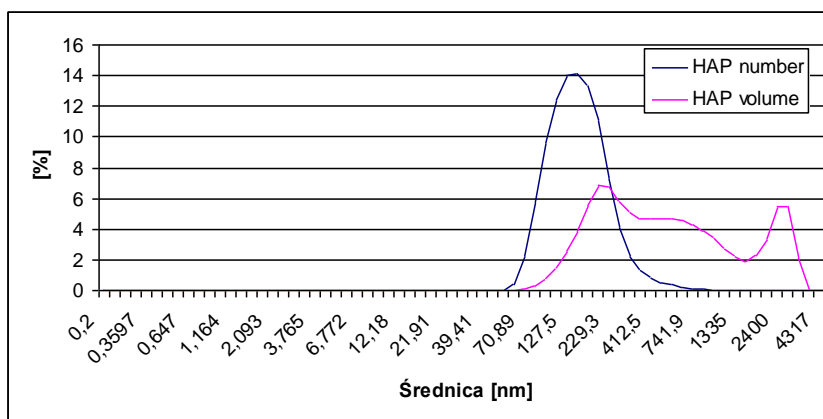
Wybór zarówno nanododatku HAp, jak i TCP jako właściwych do wprowadzenia do tworzywa włókien przeznaczonych do wytwarzania kompozytów polimerowo-włóknistych wynikał z faktu, iż ze względu na budowę chemiczną i mineralogiczną wykazują one podobieństwo do substancji nieorganicznej kości. Odnznaczają się dużą biogodnością, a dzięki swej bioaktywności mogą łączyć się bezpośrednio z kością. Oba nanododatki wykazują właściwości osteokonduktywne. Znane jest działanie HAp i TCP w procesie odbudowy kości oraz

zdolność ich do osteogenezy. TCP różni się od HAp większą rozpuszczalnością w warunkach *in vitro* i związaną z tym skłonnością do resorpcji i biodegradacji w środowisku żywego organizmu.

Stosowane w pracy nanododatki hydroksyapatyt i trójfosforan wapnia były produktami handlowymi firmy Sigma-Aldrich o podanej przez producenta wielkości cząstek poniżej 200 nm.

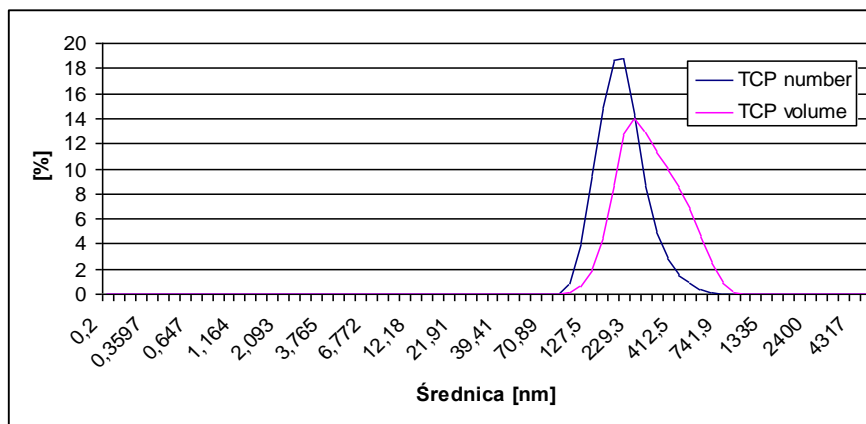
Przeprowadzenie charakterystyki nanododatków jest istotne zarówno ze względu na właściwości reologiczne roztworów przedzalniczych (które kształtują się odmiennie w przypadku ich obecności), jak i na przebieg procesu formowania oraz właściwości finalnych włókien. Obecność nanododatków wpływać może niewątpliwie także na przebieg i mechanizm procesu zestalania oraz rozciągu plastyfikacyjnego. Charakterystykę nanododatków przeprowadzono metodą SEM oraz DLS. Obrazy stosowanych nanododatków rejestrowano za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego Nova Nanosem 200 firmy FEI oraz JEOL JSM-5200LV. Rozkład wielkości cząstek nanododatków badany był przy użyciu aparatu Zetasizer Nano-ZS firmy Malvern Inc. wykorzystującego do tego celu technikę dynamicznego rozpraszania światła laserowego (Dynamic Light Scattering), która bazuje na ruchach Browna cząstek w cieczy.

Na podstawie przeprowadzonych badań rozkładu wielkości cząstek (metodą dynamicznego rozpraszania światła laserowego) stwierdzono, iż rozkład ilościowy cząstek nano-HAp charakteryzuje się występowaniem jednego piku odpowiadającego obecności cząstek o wielkości z zakresu 70-350 nm, z maksimum przy rozmiarze 147,7 nm, których łączny udział wynosi powyżej 90%. Rozkład objętościowy wielkości czątek hydroksyapatytu charakteryzuje się trzema pikami, których maksima występują dla wielkości cząstek o średnicach: 198, 550 i 2400 nm. Świadczą one o występowaniu nielicznych aglomeratów nanododatku w analizowanej próbce, których liczność jest jednakże znikoma, co zostało przedstawione na rysunku 7.28.



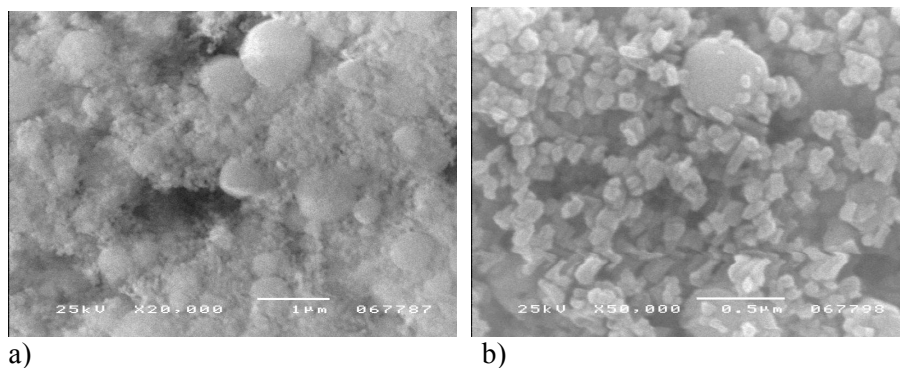
Rysunek 7.28. Rozkład wielkości cząstek HAp oznaczony metodą DLS

Krzywe rozkładu wielkości cząstek nano-TCP, zarówno ilościowe, jak i objętościowe charakteryzuje występowanie jednego piku odpowiadającego obecności cząstek o wielkości z maksimum odpowiednio 198 i 221 nm (rys. 7.29). Krzywe te są dosyć wąskie, co świadczy o wąskim rozkładzie wielkości cząstek w analizowanej próbce.



Rysunek 7.29. Rozkład wielkości cząstek TCP oznaczony metodą DLS

Przedstawione obrazy SEM (rys. 7.30) preparatów wykonanych z wyjściowych próbek nanododatków TCP i HAp pokazują nano charakter cząstek z występującymi aglomeratami o większych wymiarach, które ulegają zniszczeniu w wyniku oddziaływania ultradźwięków przy sporządzaniu zawiesiny w alkoholu będącym preparatem stosowanym do oznaczania wielkości cząstek metodą DLS.



Rysunek 7.30. Obrazy SEM stosowanych nanodotyków: a) HAp, b) TCP

Szersza krzywa rozkładu objętościowego wielkości cząstek HAp charakteryzująca się występowaniem trzech maksimum i świadcząca o jego większej skłonności do aglomeracji w porównaniu do TCP może wynikać z różnic w budowie chemicznej obu nanododatków. Prawdopodobnie jest to związane z obecnością grup –OH w hydroksyapatycie, które także w roztworze przewodzącym mogą stanowić przyczynę oddziaływań pomiędzy cząsteczkami nanododatku, rozpuszczalnikiem i makrocząsteczkami polimeru.

7.7. Dobór warunków sonikacji zawiesiny nanododatków HAp bądź TCP w rozpuszczalniku

Właściwe rozproszenie aglomeratów nanododatków w rozpuszczalniku w wyniku działania ultradźwięków jest ważnym etapem sporządzania roztworu przewodzącego. Obecność większych skupisk różnego typu nanododatków, w tym także ceramicznych, w roztworze przewodzącym może stanowić jedną z przyczyn zakłóceń w trakcie jego przerobu. Może dochodzić do ich osadzania na materiale filtracyjnym, a w krańcowym przypadku nawet do częściowego zatkania otworka filiiery, co skutkuje niejednorodnością wiązki włókien, w wyniku zrywów włókien elementarnych przy filierze. W związku z tym konieczne było opracowanie warunków sporządzania zawiesin nanododatków przeznaczonych do uzyskania roztworów kopoliestru butyrylowo-acetylowego chityny w etanolu przeznaczonych do formowania włókien nanokompozytowych metodą z roztworu na mokro.

Założeniem tego etapu było uzyskanie zawiesin nanododatków w etanolu charakteryzujących się stabilnością w czasie, niezbędną do sporządzenia roztworu polimeru. Zakładano, iż zawiesina nanocząstek wprowadzana będzie do stężonego roztworu polimeru i następnie intensywnie mieszana. Końcowa regulacja stężenia roztworu realizowana była poprzez oddestylowanie, bądź dodanie czystego etanolu do roztworu. Ze względu na możliwość swobodnej regulacji stężenia roztworów polimeru proces rozpraszania nanododatków realizowano przy niskim udziale nanododatku w zawieszynie wynoszącym około 0,5%.

Proces sporządzania zawiesin nanododatków realizowano dwoma sposobami:

- z wykorzystaniem płuczki ultradźwiękowej Polsonic 3 o mocy 2x160W,
- z wykorzystaniem homogenizatora ultradźwiękowego Bandelin Sonopuls 2200 HD.

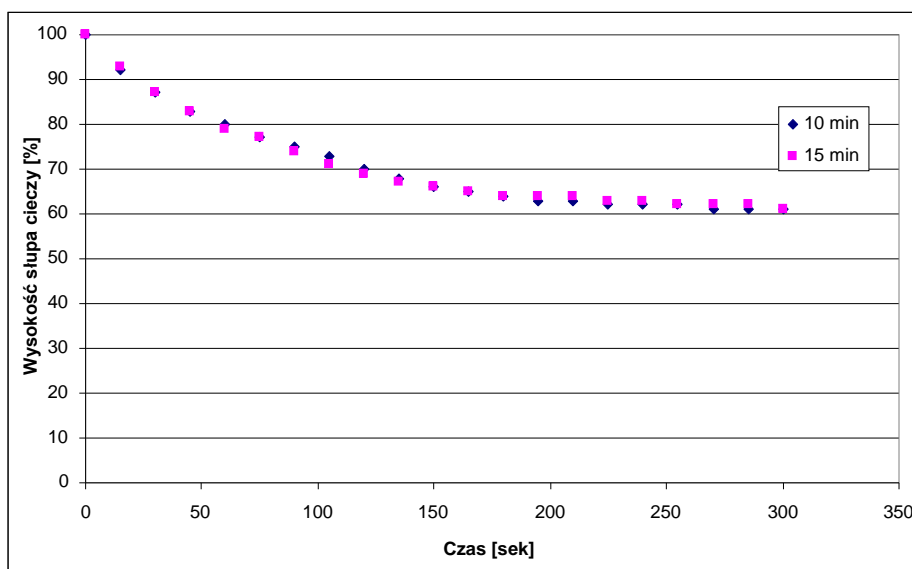
Ocena efektu rozpraszania oraz ocena stabilności zawiesin prowadzona była organoleptycznie poprzez obserwację występowania osadu po rozpraszaniu oraz pomiar wielkości słupa cieczy strefy przejściowej w czasie od sporządzenia do ustabilizowania się zawiesiny.

Na podstawie badań wstępnych stwierdzono, iż stosowanie płuczki ultradźwiękowej podczas rozpraszania nanododatków jest mniej efektywne i wymaga dłuższego czasu w porównaniu do rozpraszania z wykorzystaniem homogenizatora ultradźwiękowego, dlatego też w następnym etapie badań postano-

wiono wykorzystywać homogenizator ultradźwiękowy do sporządzania zawiesin nanododatków.

W trakcie badań wstępnych dotyczących określenia warunków prowadzenia procesu rozpraszania nanododatków z wykorzystaniem sondy ultradźwiękowej zbadano wpływ kształtu geometrycznego naczynia oraz jego objętości na przebieg procesu. Na podstawie tych badań stwierdzono, iż proces powinien być realizowany w naczyniu cylindrycznym wyposażonym w płaszcz wodny dla dobrego odprowadzania ciepła, w celu uniknięcia niekontrolowanego parowania rozpuszczalnika (temperatura około 20°C). Stosowanie naczyń okrągłodennych (korzystnych z punktu widzenia sporządzania roztworów polimerów) nie jest zalecane ze względu na duży rozmiar poprzeczny naczynia w stosunku do wysokości słupa cieczy, co powoduje przemieszczanie i utrzymywanie się cząstek stałych zawiesiny w górnym obszarze naczynia, czyli poza obszarem intensywnego działania sondy.

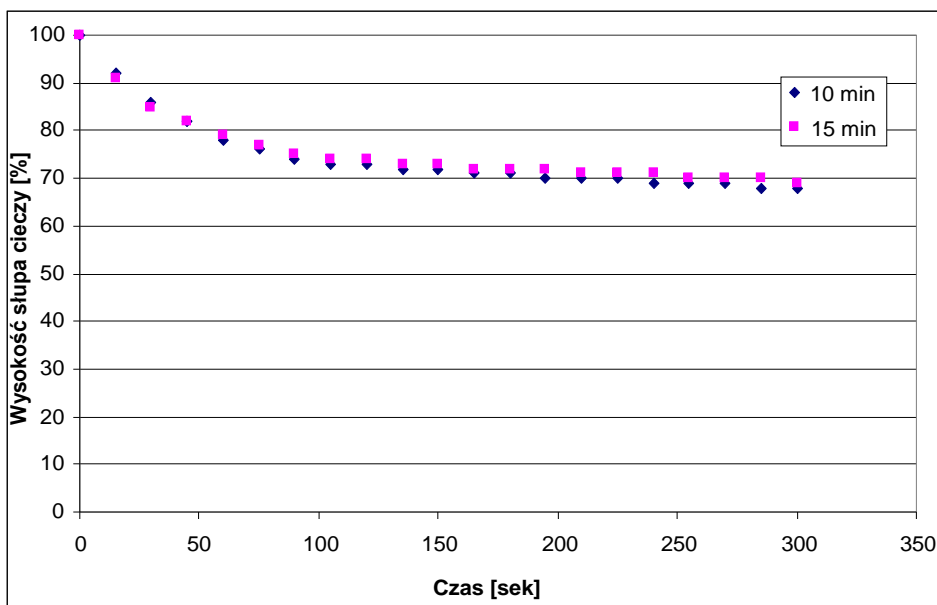
W ramach przeprowadzonych badań dotyczących rozpraszania HAp określono wpływ czasu rozpraszania, na jakość uzyskiwanych zawiesin nanododatków. Ocenę roztworów prowadzono w trakcie procesu rozpraszania, dokonując oceny po każdych 5 minutach działania homogenizatora. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji stwierdzono, iż stosowany nanododatek po wprowadzeniu do rozpuszczalnika polimeru ulega szybkiej sedimentacji. Zastosowanie homogenizatora ultradźwiękowego skutkowało podniesieniem fazy rozproszonej, jej intensywnym mieszaniem oraz rozpraszaniem aglomeratów.



Rysunek 7.31. Zależność wysokości słupa cieczy strefy przejściowej zawiesin w funkcji czasu dla nanododatku hydroksyapatytu

Na podstawie przeprowadzonych obserwacji stwierdzono, iż po 5 minutach rozpraszania uzyskany efekt nie był zadowalający ze względu na dosyć szybką sedimentację nanocząstek po wyłączeniu homogenizatora. Po kolejnych 5 minutach nie obserwowano na dnie osadzających się nanocząstek. Dalsze prowadzenie procesu rozpraszania nie powodowało poprawy jakości zawiesiny. Dla uzyskanych zawiesin otrzymanych po 10 i 15 minutach rozpraszania przeprowadzono ocenę ich stabilności polegającą na pomiarze wysokości słupa strefy przejściowej zawiesiny. Wyniki obserwacji przedstawiono w postaci wykresów na rysunku 7.31.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż uzyskane zawiesiny charakteryzowały się dosyć szybkim czasem zmniejszania strefy przejściowej, aż do momentu ustabilizowania się zawiesiny. Wydłużenie czasu sonikacji nie powodowało zwiększenia stabilności zawiesiny w analizowanym okresie czasu, koniecznym do wprowadzenia zawiesiny do roztworu polimeru. Dlatego też dla stosowanego w pracy układu minimalny czas sonikacji zawiesiny nanododatku wynosił 10 minut. W przypadku nanocząstek HAp po około 15 minutach od sporządzenia zawiesiny zaobserwowano powstawanie strefy skompresowanej, jednakże skala tego zjawiska była niewielka.



Rysunek 7.32. Zależność wysokości słupa cieczy strefy przejściowej zawiesin w funkcji czasu dla nanododatku trójfosforanu wapnia

Dla nanododatku trójfosforanu wapnia przeprowadzono analogiczne badania jak dla nanododatku HAp. Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, iż w przypadku sporządzania zawiesiny trójfosforanu wapnia po 10 minutach sonikacji uzyskuje się zadowalający efekt rozproszenia nanocząstek w rozpuszczalniku (rys. 7.32). Ze zwiększeniem czasu sonikacji nie zaobserwowano istotnych zmian w stabilności roztworów. Otrzymane zawiesiny charakteryzowały się stabilnością w założonym czasie oraz brakiem występowania strefy skompresowanej po czasie 15 minut od momentu sporządzenia zawiesiny.

W oparciu o przeprowadzone badania doboru warunków sonikacji nanododatku HAp oraz TCP można stwierdzić, iż proces ten dla obu nanododatków może być prowadzony w jednakowych warunków przy zastosowaniu sondy ultradźwiękowej Badelin Sonopuls HD 2200 o mocy 200W. Czas trwania procesu powinien wynosić 15 minut w temperaturze 20°C.

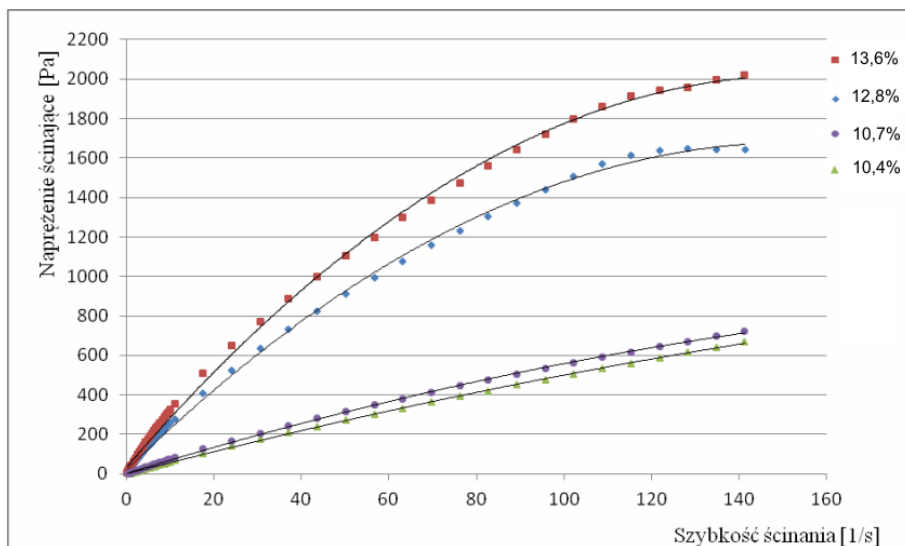
W przypadku zwiększenia skali konieczny jest dobór warunków realizacji procesu sonikacji uwzględniający zwiększenie objętości układu, dobór mocy generatora ultradźwięków oraz czasu prowadzenia procesu.

7.8. Analiza właściwości reologicznych roztworów przedzalniczych BAC 95/5/HClO₄ zawierających nanododatki HAp lub TCP

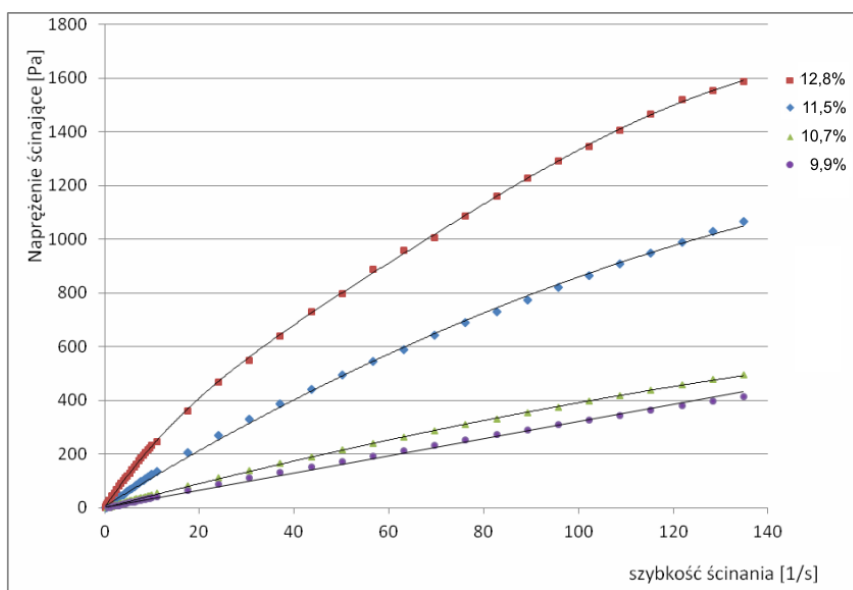
Obiektem badań były zawierające nanododatki HAp i TCP, alkoholowe roztwory uzyskane z kopolimeru BAC 95/5/HClO₄ o zawartości grup butyrylowych w stosunku do grup acetylowych wynoszącym 95/5 i wartości lepkości istotnej 1,83 dL/g. Polimer o takim składzie został wytypowany na podstawie wcześniejszych badań, jako korzystny do wytwarzania włókien z BAC.

Nanododatki HAp lub TCP w ilości 1% lub 3% wprowadzono do roztworu polimeru po etapie jego syntezy. Stosowano ultradźwiękowe rozpraszanie aglomeratów nanododatków w rozpuszczalniku. Dla obu ilości stosowanych nanododatków HAp i TCP dobierano stężenie roztworu przedzalniczego na takim poziomie, aby lepkość dynamiczna pozorną zawierała się w granicach 20-30 Pas. Zakres ten jest korzystny w przypadku formowania włókien metodą z roztworu na mokro z tego tworzywa.

Krzywe płynięcia roztworów o różnym stężeniu polimeru zawierających nanododatek HAp przedstawiono przykładowo dla 3% zawartości tego nanododatku na rysunku 7.33, a dla nanododatku TCP na rysunku 7.34.



Rysunek 7.33. Krzywe płynięcia roztworów BAC 95/5/HClO₄ zawierających 3% nano HAp



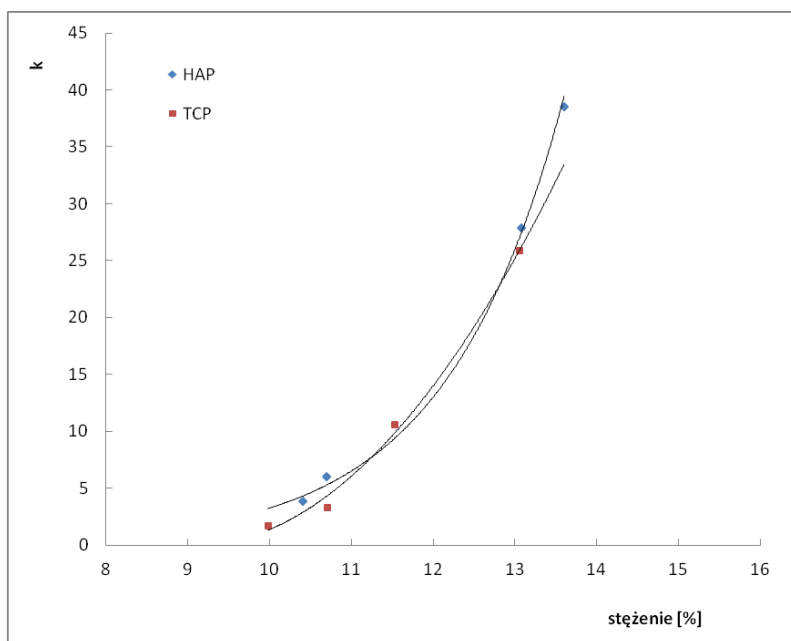
Rysunek 7.34. Krzywe płynięcia roztworów BAC 95/5/HClO₄ zawierających 3% nano TCP

Niezależnie od stężenia roztworu przewodniczącego i rodzaju nanododatku badane roztwory są cieczami nienewtonowskimi rozrzedzonymi ścinaniem bez granicy płynięcia. Bliższe cieczy newtonowskiej są roztwory polimeru o niższym stężeniu zawierające nanododatki HAp bądź TCP w ilości 3% (tabela 7.20 próbki

BT2-BT4 oraz BH1-BH5). W ich przypadku parametr reologiczny n jest bardziej zbliżony do jedności, a krzywe płynięcia usytuowane są poniżej krzywych uzyskanych dla roztworów o wyższym stężeniu i 3% zawartości nanododatku. Podobne zjawisko występuje także w przypadku roztworów o 1% zawartości obu stosowanych nanododatków, a ich krzywe płynięcia mają podobny charakter jak dla roztworów o 3% zawartości nanododatków.

Tabela 7.20. Właściwości reologiczne roztworów przędzalniczych o różnej ilości i rodzaju nanododatków HAp i TCP

Symbol próbki	Rodzaj i ilości nanododatku	Stężenie roztworu [%]	Parametr reologiczny	
			n	k
MBT	1% TCP	11,4	0,874	28,52
BT2 – BT4	3% TCP	12,8	0,8551	23,85
BTN 1 – BTN 4	3% TCP	14,2	0,817	56,12
MBH	1% HAp	10,93	0,848	25,23
BH1 – BH5	3% HAp	12,00	0,936	14,05



Rysunek 7.35. Zależność parametru reologicznego „ k ” od stężenia roztworów przędzalniczych BAC 95/5/HClO₄ w etanolu zawierających nanododatek HAp bądź TCP w ilości 3%

Zależność pomiędzy parametrem reologicznym k (który odczytany przy wartości prędkości ścinania 1 s^{-1} jest tożsamy z wartością lepkości dynamicznej pozornej) a stężeniem roztworu dla obu stosowanych nanododatków wprowadzonych w ilości 3% w stosunku do masy polimeru przedstawiono na rysunku 7.35. W oparciu o uzyskane zależności wytypowano odpowiednie do formowania włókien stężenia roztworów przędzalniczych, których właściwości reologiczne przedstawiono w tabeli 7.20.

Dodatkowo do formowania włókien przeznaczono roztwór o 3% zawartości TCP i o podwyższonym do 14% stężeniu polimeru, którego lepkość dynamiczna pozorna przewyższała znacząco przyjęty poprzednio zakres. Jednocześnie uwidocznił się fakt, iż roztwór BAC 95/5/ HClO_4 w alkoholu etylowym przy niewielkim (około 1,4%) podwyższeniu jego stężenia, wykazuje znaczący wzrost lepkości dynamicznej pozornej. Może to wpływać na proces formowania oraz właściwości uzyskiwanych włókien. Charakterystyczne jest, iż dla obu stosowanych nanododatków ze zwiększeniem ich udziału procentowego z 1% do 3% pomimo zwiększenia udziału polimeru w roztworze, obserwowane jest obniżenie lepkości dynamicznej pozornej (tabela 7.20) roztworów przędzalniczych. Wprowadzenie do roztworów BAC 95/5/ HClO_4 w alkoholu etylowym ceramicznych nanododatków HAp bądź TCP w ilości 1% i 3% nie zmienia charakteru reologicznego płynu, pozostają one cieczami nienewtonowskimi rozrzedzonymi ścinaniem bez granicy płynięcia. Zmianie ulegają tylko wartości parametrów reologicznych n i k .

7.9. Wytwarzanie włókien z BAC 95/5/ HClO_4 zawierających ceramiczne nanododatki HAp lub TCP

Podstawę wytypowania warunków otrzymywania nanokompozytowych włókien z BAC 95/5/ HClO_4 była analiza porównawcza struktury i właściwości włókien zawierających nanododatek HAp lub TCP z włóknami bez nanododatków. Włókna te były formowane przy zmiennej wartości wyciągu filerowego, od której (przy ustalonych pozostałych parametrach procesu zgodnie z tabelą 7.14 próbka B7) w sposób podstawowy uzależniona jest struktura porowata oraz właściwości wytrzymałościowe włókien finalnych. W dokonanej analizie uwzględniono także wpływ zmiennej ilości obu typów nanododatków wprowadzonych do tworzywa włókien na zmiany tych wskaźników.

7.9.1. Analiza porównawcza struktury i właściwości włókien BAC 95/5/ HClO_4 zawierających nanododatek HAp lub TCP

Analiza porównawcza struktury i właściwości nanokompozytowych włókien z BAC 95/5/ HClO_4 zawierających w tworzywie różne ilości nanododatku HAp lub TCP została przeprowadzona w odniesieniu do włókien bez nanododatku. Włókna zawierające nanododatki HAp i TCP otrzymano z alkoholowych roz-

tworów uzyskanych z kopolimeru BAC 95/5/HClO₄ o zawartości grup butyrylowych w stosunku do grup acetylowych wynoszącym 95/5 uzyskany w wyniku estryfikacji chityny krylowej MIR 61 mieszaniną bezwodników kwasu masłowego i octowego katalizowaną kwasem nadchlorowym. Polimer o takim składzie został wytypowany na podstawie wcześniejszych badań niniejszej pracy jako korzystny do wytwarzania włókien z BAC.

Nanododatki HAp bądź TCP w ilości 1% lub 3% wprowadzono do roztworu polimeru uzyskanego bezpośrednio po etapie jego syntezy. Stosowano ultradźwiękowe rozpraszanie aglomeratów nanododatków w rozpuszczalniku.

Dla obu ilości stosowanych nanododatków HAp i TCP dobierano stężenie roztworu przedzalniczego na takim poziomie, aby lepkość dynamiczna pozorna zawierała się w granicach 20-30 Pas. Właściwości reologiczne tych roztworów zostały przedstawione w poprzednich punktach niniejszego opracowania, a parametry reologiczne n i k zostały ujęte w tabeli 7.20.

Włókna nanokompozytowe formowano w oparciu o warunki wytypowane dla włókien niezawierających nanododatku przedstawione we wcześniejszym rozdziale (próbka B7). Parametrem zmiennym była wartość wyciągu filerowego, którą zmieniano w dość wąskim zakresie od ujemnych do dodatnich wartości. W ustalonych warunkach procesu zestalania (temperatura i skład kąpieli) podstawowym parametrem zmiennym jest wartość wyciągu filerowego i związane z tym możliwe do uzyskania wielkości deformacji w kolejnych etapach rozciągu. Istotny wpływ na przebieg procesu zestalania ma także obecność w zestalającej się strudze różnego rodzaju nanododatków, w tym także ceramicznych, takich jak HAp i TCP. W ramach wcześniejszych badań stwierdzono także, iż z wprowadzeniem do włókien z różnego tworzywa nanododatków (w etapie ich wytwarzania) związane jest obniżenie podatności na deformacje podczas rozciągania w porównaniu do włókien bez nanododatków. Zagadnienia te są także przedmiotem niniejszej analizy. Wartość wyciągu filerowego zmieniano w dość wąskim zakresie od dodatnich do ujemnych wartości wynoszących +30% -20%. Ograniczenie tego zakresu wynikało z wcześniej prowadzonych badań, dotyczących określenia warunków wytwarzania włókien z BAC niezawierających nanododatków.

Dokładne warunki formowania włókien o 1% zawartości HAp wraz z ich właściwościami sorpcyjnymi i wytrzymałościowymi podano w tabeli 7.21.

Z analizy właściwości wytrzymałościowych włókien zawierających 1% nanododatku HAp (tabela 7.21) wynika, iż ze zmianą wyciągu filerowego od ujemnych do dodatnich wartości związany jest wzrost podatności na deformacje, przejawiający się znaczącym wzrostem rozciągu całkowitego. Dotyczy to głównie procesu rozciągu w środowisku przegrzanej pary wodnej i nie przekłada się na wzrost właściwości wytrzymałościowych, które zmieniają się

w niewielkich granicach około 1 cN/tex. Jednocześnie ze zmianą wyciągu filierowego od ujemnych do dodatnich wartości związane jest obniżenie możliwej do uzyskania wielkości rozciągu całkowitego, co skutkuje spadkiem wytrzymałości właściwej włókien zawierających 3% HAp o około 1,5 cN/tex. Warunki formowania włókien zawierających 3% HAp i ich właściwości sorpcyjne i wytrzymałościowe zostały przedstawione w tabelach 7.22 i 7.23.

Tabela 7.21. Warunki formowania i właściwości włókien z BAC 95/5/HClO₄ zawierających 1% nanododatku HAp

Symbol próbki	Wyciąg filierowy	Rozciąg			Sorpcja wody w 65% RH	Sorpcja wody w 100% RH	Retencja wody	Wytrzymałość właściwa	Wydłużenie przy zerwaniu	Moduł Younga
		R ₁	R ₂	R _c						
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[cN/tex]	[%]	[Pa]
MBH - 1	-20	113,6	285,9	724,7	6,70	12,13	41,26	20,28	3,01	9,55
MBH - 2	-10	120,9	327,5	844,7	6,34	13,06	41,10	18,89	2,66	9,31
MBH - 3	0	109,3	348,6	837,7	6,21	13,67	42,14	19,62	2,53	9,85
MBH - 4	+10	118,3	390,4	970,8	6,77	13,22	43,90	18,83	2,58	10,04

Nietypowy wpływ obecności w tworzywie świeżo zestalonych włókien z BAC 1% zawartości nanododatku HAp na przebieg procesów deformacyjnych, można określić jako działanie „pseudo” plastyfikacyjne. Prawdopodobnie niewielkie ilości tego nanododatku o właściwościach hydrofilowych ułatwiają „poślizg” makrocząsteczek, co skutkuje uzyskiwaniem coraz wyższych stopni rozciągu w miarę wzrostu wyciągu filierowego. Natomiast przy większych jego ilościach (rzędu 3%) przeważa efekt obecności w tworzywie nie włóknotwórczego nanododatku, zwiększającego z jednej strony tarcie wewnętrzne

układu z drugiej zaś strony utrudnia zbliżenie (szczególnie w przypadku jego większych skupisk) makrocząsteczek i powiązanie ich wiązaniami drugorzędowymi. Efektem tego jest obniżenie właściwości wytrzymałościowych włókien w porównaniu do włókien o 1% zawartości nanododatku. Prawdopodobnie ta występuje także dla włókien, do tworzywa których wprowadzono nanododatek TCP (tabela 7.23), przy czym wytrzymałość właściwa włókien zawierających 1% zarówno nanododatku HAP, jak i TCP jest zbliżona i maksymalnie wynosi nieco powyżej 20 cN/tex (tabela 7.21 i 7.23). Natomiast włókna zawierające 3% nanododatku TCP w porównaniu do zawierających analogiczną ilość HAP odznaczają się o około 4 cN/tex niższą wytrzymałością właściwą rzędu 14,33 cN/tex (tabela 7.24). Warunki formowania, właściwości sorpcyjne i wytrzymałościowe włókien zawierających 1% nanododatku TCP zostały podane w tabeli 7.23, a zawierające 3% TCP podano w tabeli 7.24.

Tabela 7.22. Warunki formowania i właściwości włókien z BAC 95/5/HClO₄ o 3% zawartości nanododatku HAP

Symbol próbki	Wyciąg filerowy	Rozciąg			Sorpcja w 65% RH	Sorpcja w 100% RH	Retencja	Wytrzymałość właściwa	Wydłużenie przy zerwaniu	Moduł Younga
		R ₁	R ₂	R ₃						
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[cN/tex]	[%]	[Pa]
BH - 1	-20	139,7	173,9	556,9	6,17	15,48	36,61	18,37	4,65	7,87
BH - 2	-10	148,7	151,1	524,6	6,11	14,69	30,80	17,79	4,43	8,06
BH - 3	0	165,4	141,6	541,3	7,00	15,61	21,15	16,99	4,26	7,92
BH - 4	+10	100,9	209,9	522,7	6,90	15,18	18,15	17,59	4,02	8,20
BH - 5	+30	158,8	94,7	404,0	6,89	15,37	28,18	15,88	4,09	7,53

Tabela 7.23. Warunki formowania i właściwości włókien z BAC 95/5/HClO₄ zawierających 1% nanododatku TCP

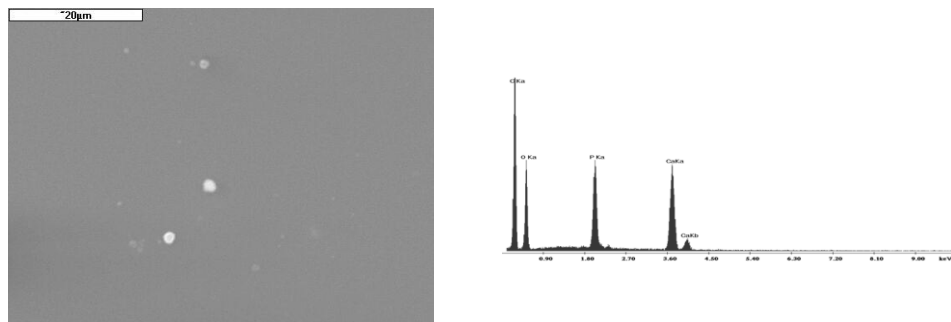
Symbol próbki	Wyciąg filierowy	Rozciąg			Sorpcja w 65% RH	Sorpcja w 100% RH	Retencja	Wytrzymałość właściwa	Wydłużenie przy zerwaniu	Moduł Younga
		R ₁	R ₂	R _c						
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[cN/tex]	[%]	[Pa]	
MBT - 1	-20	69,4	491,9	902,8	6,24	14,04	49,14	19,61	3,08	9,99
MBT - 2	-10	78,0	419,7	825,1	6,17	13,46	46,98	20,34	2,81	10,25
MBT - 3	0	92,3	395,2	852,5	6,12	13,02	35,71	18,62	2,61	9,96

Tabela 7.24. Warunki formowania i właściwości włókien z BAC 95/5/HClO₄ zawierających 3% nanododatku TCP

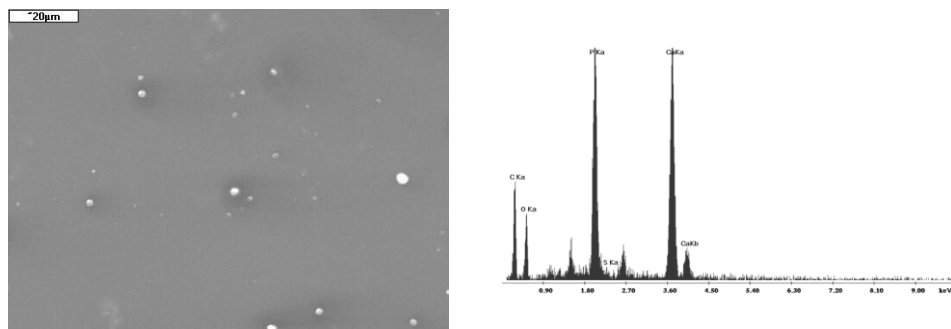
Symbol próbki	Wyciąg filierowy	Rozciąg			Sorpcja w 65% RH	Sorpcja w 100% RH	Retencja	Wytrzymałość właściwa	Wydłużenie przy zerwaniu	Moduł Younga
		R ₁	R ₂	R _c						
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[cN/tex]	[%]	[Pa]	
BT - 2	-20	75,9	406,0	790,3	5,72	13,35	33,49	14,13	4,081	7,409
BT - 3	-10	82,8	369,5	758,5	5,64	12,72	29,12	9,74	3,856	5,513
BT - 4	0	80,8	382,0	771,7	6,03	12,65	25,76	13,73	4,38	7,185

Z analizy szczegółowej wpływu różnych ilości nanododatku TCP na przebieg procesów deformacyjnych i właściwości włókien wynika, iż zachowana zostaje wcześniej stwierdzona dla nanokompozytowych włókien alginianowych prawidłowości. Włókna BAC 95/5/HClO₄ o 1% zawartości TCP przy wysokich defor-

macjach R_C 825-902% wykazują wytrzymałości do 20,3 cN/tex. Ze zwiększeniem udziału nanododatku do 3% związane jest obniżenie podatności na deformacje a R_C zawiera się w granicach 677-790%. Skutkuje to obniżeniem właściwości wytrzymałościowych włókien do 14,4 cN/tex. Świadczy to o dominującym wpływie nie włóknotwórczego nanododatku na przebieg procesów deformacyjnych i właściwości włókien. Można także przypuszczać, iż w układzie: hydrofobowy polimer-hydrofobowy nanododatek TCP, występuje zgodność i brak jest efektu „odpychania” powierzchniowego. Potwierdzają to zdjęcia SEM folii wykonanych z takich roztworów.



Rysunek 7.36. Zdjęcie SEM i analiza EDS dla folii nanokompozytowej BAC 95/5/HClO₄/TCP



Rysunek 7.37. Zdjęcie SEM i analiza EDS dla folii nanokompozytowej BAC 95/5/HClO₄/HAp

Natomiast w przypadku hydrofilowego nanododatku HAp uwidacznia się efekt oddziaływań powierzchniowych „odpychających”. Przejawia się jako ciemniejsze pole na zdjęciach SEM (rys. 7.37) wokół użytego nanododatku, co może wynikać ze zmniejszania gęstości upakowania makrocząstek wokół nanododatku. Przedstawiona analiza EDS badanych próbek potwierdziła obecność wprowadzonych do matrycy polimerycznej nanododatków HAp i TCP.

Z analizy właściwości włókien nanokompozytowych i włókien bez nanododatku wynika, iż generalnie właściwości wytrzymałościowe obu typów włókien

zawierających 3% nanododatku HAp, bądź TCP są niższe w porównaniu do włókien z BAC bez nanododatku formowanych w optymalnych warunkach. Dla włókien zawierających HAp różnica ta jest rzędu 6,4 cN/tex, a dla włókien zawierających TCP wynosi aż 10,4cN/tex.

Właściwości wytrzymałościowe włókien związane są także z ich strukturą nadmolekularną, a obecność nanododatków w tworzywie może powodować zmiany w ich strukturze krystalicznej. Taki wpływ obecności nanododatku HAp stwierdzono, bowiem, w przypadku włókien poliakrylonitrylowych. Z wprowadzeniem tego nanododatku związana była przebudowa ich struktury parakrystalicznej na „stricte” krystaliczną.

Analizę struktury krystalicznej włókien z BAC przeprowadzono w oparciu o krzywe dyfrakcyjne WAXS, a obliczenie stopnia krystaliczności wykonano za pomocą programu komputerowego WAXFIT.

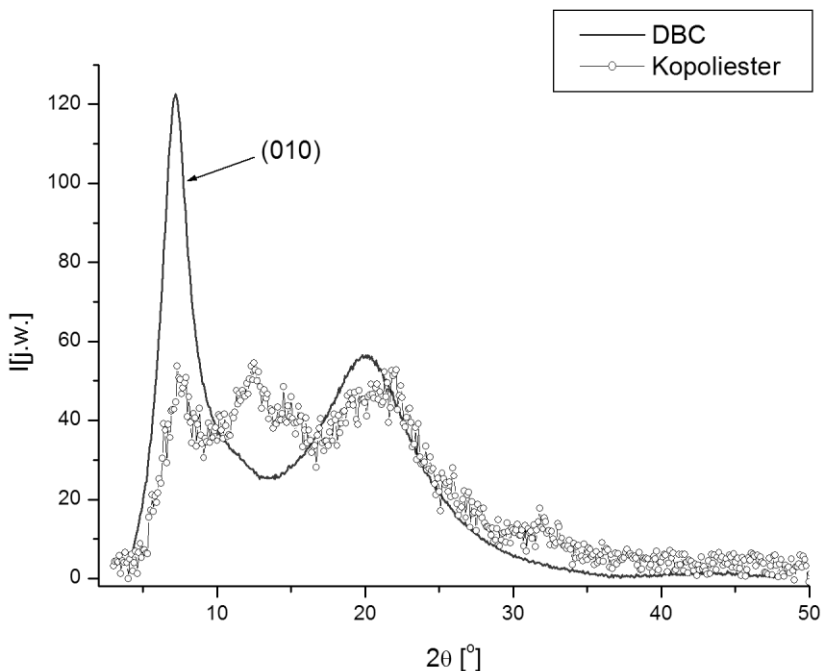
Składową amorficzną aproksymowano za pomocą dwóch maksimów. Na rysunku 7.37 zaznaczono te dwa maksima amorficzne A_1 i A_2 występujące przy kątach $2\Theta = 18,9^\circ$ i $35,3^\circ$ oraz dwa najsilniejsze refleksy krystaliczne R_1 i R_2 . Na podstawie położenia kątowych tych refleksów oraz prawa Bragga wyznaczono odległości między płaszczyznami sieciowymi, od których one pochodzą. Odległości te wynoszą odpowiednio: $d_1 \approx 11,9-12,3\text{\AA}$ oraz $d_2 \approx 7,1-7,2\text{\AA}$. Wyniki pomiarów rozmiarów krystalitów (L_1 i L_2) oraz stopnia krystaliczności dla analizowanych włókien przedstawiono w tabeli 7.25.

Tabela 7.25. Porównanie stopnia krystaliczności i rozmiarów krystalitów włókien z BAC 95/5/HClO₄ bez nanododatków z wartościami dla włókien zawierających HAp lub TCP

Symbol próbki	Rodzaj nanododatku	Wyciąg filierowy [%]	Stopień krystaliczności [%]	Rozmiar krystalitów L_1 [Å]	Rozmiar krystalitów L_2 [Å]	Wytrzymałość właściwa [cN/tex]
B 10	Bez nanododatku	-20	35	39	41	22,7
B 12	Bez nanododatku	0	36	40	38	23,49
B 13	Bez nanododatku	+10	35	37	36	24,77
BH 1	3% HAp	-20	32	52	29	18,37
BH 3	3% HAp	0	34	38	32	16,91
BH 5	3% HAp	+30	33	38	38	15,88
BT2	3% TCP	-20	35	36	40	14,13
BT 3	3% TCP	-10	33	35	34	9,74
BT 4	3% TCP	0	33	36	35	13,73

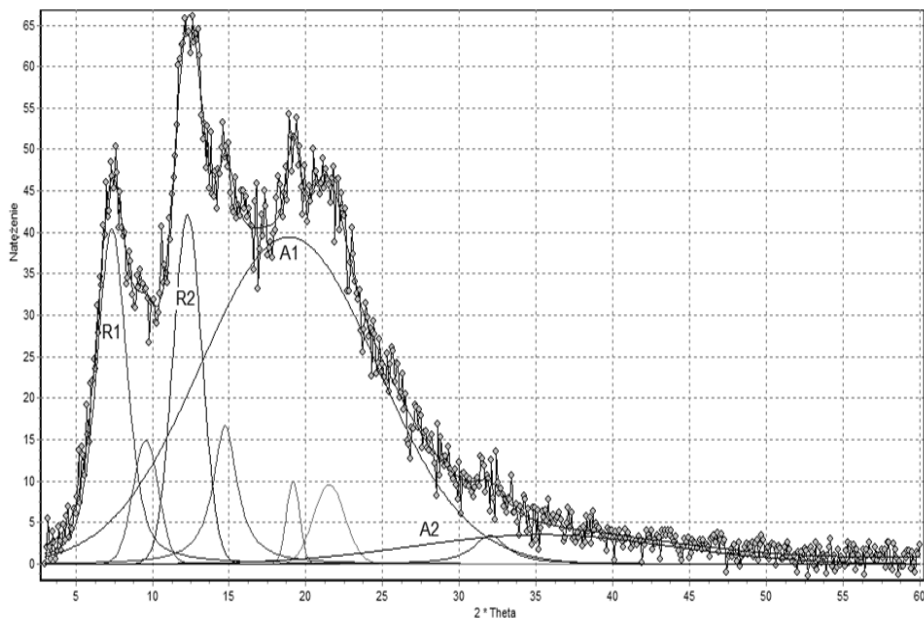
Stopień krystaliczności został obliczony, jako stosunek integralnego natężenia zawartego w obrębie pików krystalicznych do integralnego natężenia promieniowania rozproszonego przez próbkę w całym zakresie pomiarowym (po odjęciu promieniowania tła). Rozmiary krystalitów zostały obliczone na podstawie szerokości połówkowej refleksów R_1 i R_2 stosując równanie Scherrera. Są to zatem rozmiary krystalitów w kierunku prostopadłym do wymienionych wyżej rodzin płaszczyzn sieciowych, pomiędzy którymi odległość wynosi d_1 i d_2 . Błąd pomiaru stopnia krystaliczności jest rzędu 2-3%, natomiast błąd pomiaru rozmiarów krystalitów jest rzędu 5\AA .

Porównując przedstawione na rysunku 7.38 dyfraktogramy próbek włókien z kopoliestru BAC 95/5/ HClO_4 (B 10) z dyfraktogramem próbki z dibutyrylochityny (DBC) wynika, iż tworzywo włókien BAC różni się zasadniczo od DBC. Dyfraktogram kopoliestru zawiera elementy obecne także na dyfraktogramie DBC, jednak obok nich występują inne refleksy. Jednoznacznie wskazuje to na odmienną strukturę krystaliczną obu tych polimerów.



Rysunek 7.38. Dyfraktogram włókien referencyjnych DBC i BAC 95/5/ HClO_4 (B10)

Składowe pików krystalicznych i maksima amorficzne dla dyfraktogramu zarejestrowanego dla włókien z BAC95/5/ HClO_4 bez nanoaddatów (próbka B 10) przedstawiono na rysunku 7.39.



Rysunek 7.39. Rozkład dyfraktogramu włókien z BAC 95/5/HClO₄ (B10) na refleksy krystaliczne i hala amorficzne

Z porównania struktury krystalicznej włókien BAC 95/5/HClO₄ niezawierających nanododatku ze strukturą włókien zawierających HAp bądź TCP (tabela 7.25) wynika, iż ich stopień krystaliczności zawiera się w granicach 31-39%. Niewielkie różnice występują także w rozmiarach krystalitów analizowanych włókien. Sporadycznie tylko można zauważyć nieco większe rozmiary L₁ bądź L₂ rzędu 50Å dla włókien zawierających HAp bądź TCP. Rozmiary krystalitów analizowanych włókien zawierają się w granicach 31-41 Å. Dzieje się tak pomimo generalnie niższej wytrzymałości właściwej włókien zawierających oba nanododatki. Można, więc przyjąć, iż obecność nanododatków w tworzywie włókien BAC wpływa głównie na przebieg procesów deformacyjnych, a wzrost tarcia wewnętrznego układu działał w kierunku zmniejszenia podatności na deformacje. Natomiast w stosowanych warunkach procesu formowania wpływ wartości wyciągu filerowego na zmiany stopnia krystaliczności i rozmiary krystalitów okazał się niewielki.

Z analizy właściwości sorpcyjnych włókien z BAC zawierających oba rodzaje nanododatku HAp bądź TCP wynika, iż niezależnie od ilości i rodzaju nanododatku oraz warunków wytwarzania włókien ich sorpcja wilgoci w 65% RH zawiera się w granicach 5,6-7%. Jest to analogiczny poziom wartości tego wskaźnika jak dla włókien niezawierających nanododatku, co jest zrozumiałe, bowiem jego wartość związana jest z charakterem tworzywa włókien. W przypadku włókien z hydrofobowego tworzywa poziom ten można uznać za dość wysoki. Również na wysokim poziomie od 12,6% do 15,48% kształtuje się

sorpcja wilgoci w 100% RH, przy czym wyższe wartości około 15% oraz nieco powyżej, wykazują włókna zawierające 3% nanododatku HAp. Może to być związane także z bardziej hydrofilowym charakterem nanododatku HAp, w porównaniu do TCP. Natomiast sorpcja wilgoci w 100% RH włókien bez nanododatku jest niższa i wynosi od 10-12%. Wartość tego wskaźnika, podobnie jak wartość retencji wody, jest uzależniona głównie od struktury porowatej włókien, wartości całkowitej objętości porów oraz charakteru tej struktury, tzn. udziałów procentowych porów o określonych rozmiarach. Związek ten był szerzej analizowany we wcześniejszych rozdziałach opracowania dotyczących włókien z BAC bez nanododatku.

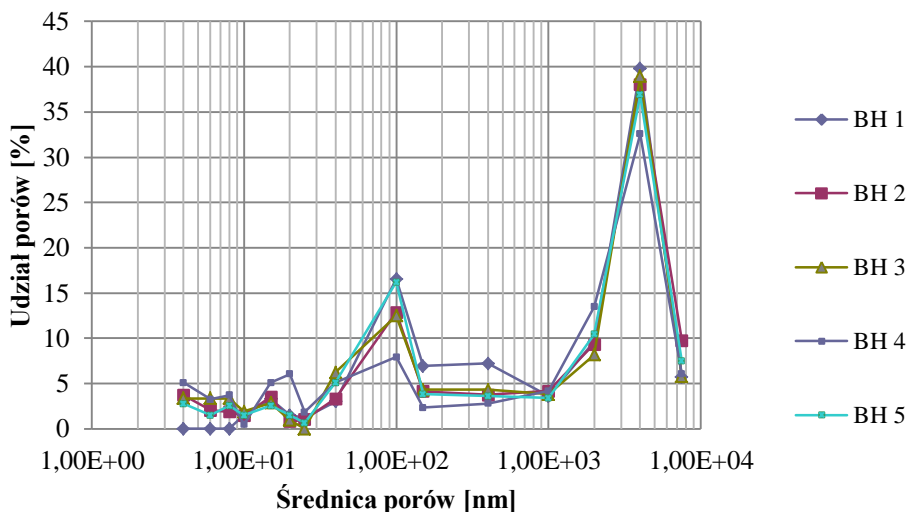
Najwyższe wartości retencji wody dochodzące do 49% wykazują włókna zawierające 1% TCP, a podobnym poziomem rzędu 41-43% odznaczają się włókna zawierające 1% HAp. Poziom retencji wody włókien zawierających oba stosowane nanododatki wprowadzone do tworzywa w ilości 3% jest niższy i w zależności od warunków wytwarzania włókien zawiera się w granicach od 18% do 36%.

W porównaniu z tym wartość retencji wody włókien bez nanododatku kształtuje się na wysokim poziomie dochodzącym do 50%. Zarówno poziom tego wskaźnika, jak i uzyskane wyniki badań struktury porowatej upoważniły do zaliczenia tych włókien do grupy włókien wysokoporowatych.

Wartości całkowitej objętości porów i powierzchni wewnętrznej porów dla włókien z BAC zawierających HAp i TCP zebrano w tabeli 7.26. Włókna zawierające nanododatek TCP odznaczają się wyższą porowatością w zakresie do 1000 nm w porównaniu do włókien zawierających nanododatek HAp. Charakter struktury porowatej został przykładowo zobrazowany dla włókien o 3% zawartości nanododatku HAp formowanych przy różnych wartościach wyciągu filierowego na rysunku 7.40.

Tabela 7.26. Struktura porowata włókien z BAC zawierających 3% nanododatku HAp bądź TCP

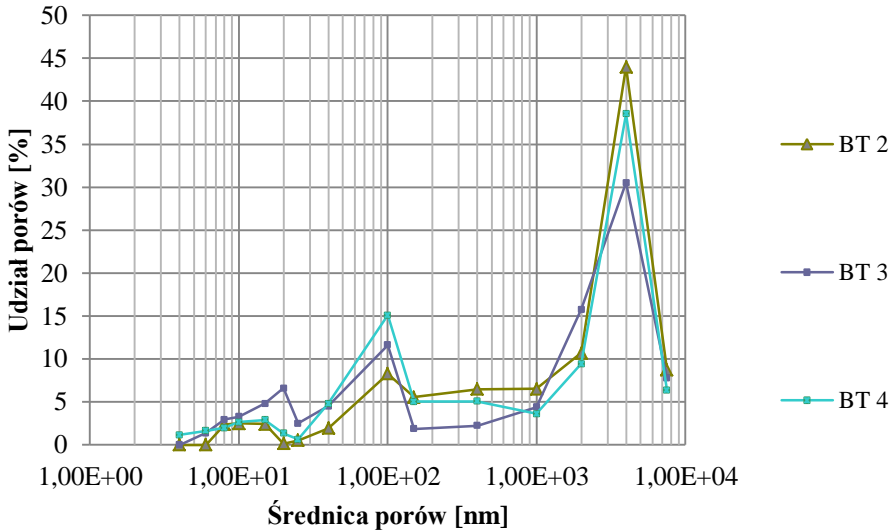
Symbol próbki	Rodzaj nanododatku	Wyciąg filierowy	Całkowita objętość porów		Powierzchnia wewnętrzna
			P	P1 do 1000 nm	
		[%]	[cm ³ /g]	[cm ³ /g]	[m ² /g]
BH 1	3% HAp	-20	0,582	0,261	12,42
BH 2	3% HAp	-10	0,624	0,267	31,07
BH 3	3% HAp	0	0,611	0,288	34,76
BH 4	3% HAp	+10	0,597	0,286	41,62
BH 5	3% HAp	+30	0,756	0,341	34,67
BT 2	3% TCP	-20	0,624	0,520	30,05
BT 3	3% TCP	-10	0,601	0,495	33,10
BT-4	3% TCP	0	0,585	0,501	36,20



Rysunek 7.40. Krzywe rozkładu porów w funkcji ich promienia dla włókien BAC 95/5/HClO₄ zawierających 3% HAp

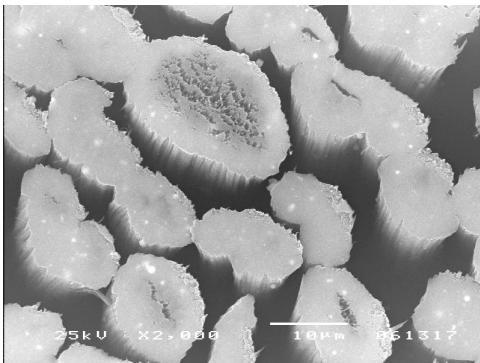
Krzywe rozkładu porów dla obu typów włókien w funkcji ich promienia odznaczają się występowaniem maksimum w środkowym zakresie porów z przedziału do 1000 nm, z czym związane są wartości retencji wody badanych włókien. Wysokość tego maksimum jest zróżnicowana w zależności od warunków formowania włókien. Najwyżej położone rozległe maksimum dotyczy włókien o symbolu BH 1, dla których wartość retencji wody przyjmuje także najwyższe wartości rzędu 36,6%. Najniższej wartości retencji 18,15% odpowiada natomiast maksimum, którego wysokość jest także najmniejsza (próbka BH 4).

Podobnie jak to miało miejsce w przypadku włókien zawierających HAp, w przypadku włókien BAC 95/5/HClO₄ zawierających nano TCP najwyższe położone maksimum jest obserwowane dla włókien o symbolu BT-2 (rys. 7.41), gdzie wartość retencji wody osiąga wartość 33,49%. Najniższą wartość retencji na poziomie 25,76% obserwuje się dla włókien o symbolu BT-4.

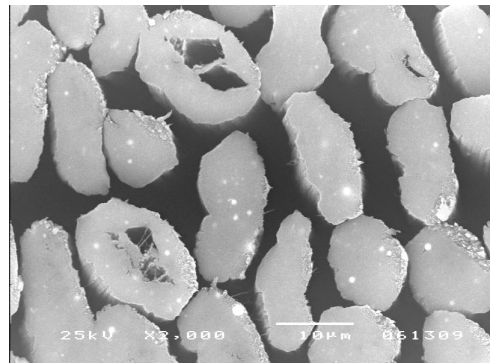


Rysunek 7.41. Krzywe rozkładu porów w funkcji ich promienia dla włókien BAC 95/5/HClO₄ zawierających 3% TCP

Obecność porów dużych rozmiarów dobrze jest widoczna na zdjęciach SEM przekroju poprzecznego przykładowych włókien o symbolu BH1 i BH3 (rys. 7.42). Jednak we fragmencie wiązki włókien obecne są także przekroje, w których taki rodzaj porowatości nie został uwidoczniony (rys. 7.43). Może to być związane z przebiegiem procesu wymiany masy w obrębie wiązki.



BH3

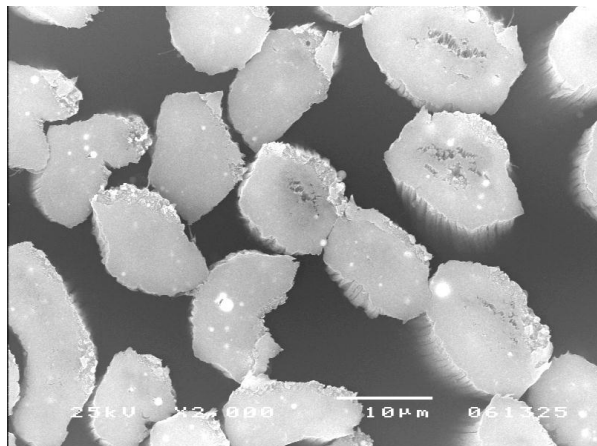


BH1

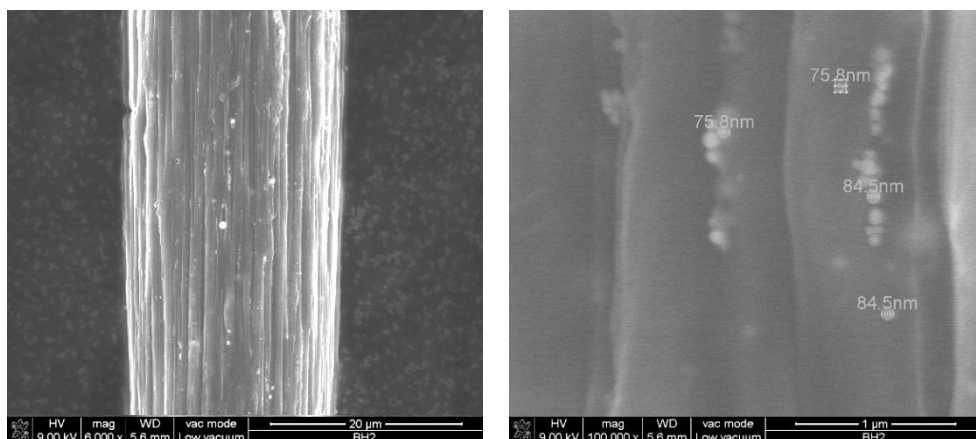
Rysunek 7.42. Zdjęcia SEM przekrojów poprzecznych próbki BH3 oraz BH1

Na zdjęciach przekrojów poprzecznych widoczna jest także obecność nanododatku HAp. Wyznaczona dla próbki o symbolu BH 2 wielkość ziaren HAp w przekroju włókna (rys. 7.43) oraz na jego powierzchni (rys. 7.44) mieści

się w zakresie od 54 nm do sporadycznie 140 nm i odpowiada średniej wielkości ziaren tego nanododatku oznaczonych metodą DLS. Świadczy to jednocześnie o dobrej skuteczności stosowanego rozpraszania jego aglomeratów za pomocą ultradźwięków.



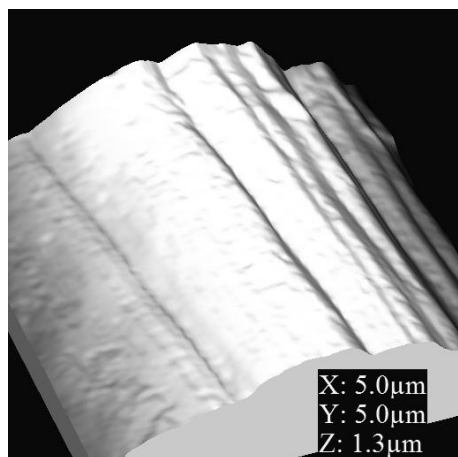
Rys. 7.43. Zdjęcie SEM przekroju poprzecznego próbki BH2



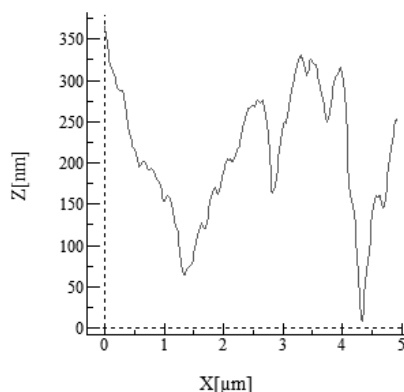
Rysunek 7.44 Zdjęcie SEM powierzchni próbki włókien BH 2

Analiza topografii powierzchni włókien przeprowadzona przy zastosowaniu mikroskopu sił atomowych (przeprowadzona dla wytypowanych próbek) wykazała, iż odznaczają się one dużą chropowatością. Wartość współczynnika RMS dla włókien niezawierających nanododatku zawiera się przykładowo w granicach od 14,4 nm do 38,2 nm. Natomiast dla włókien zawierających nanododatek HAp jest wyższa i wartość RMS wynosi od 26,2 nm (próbka BH 5)

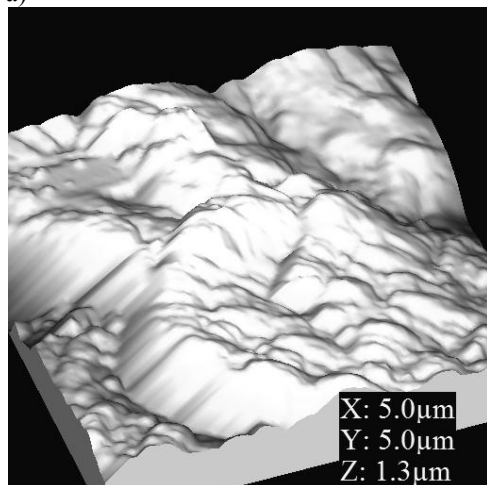
do 96,9 nm (próbka BH 1). Zostało to pokazane przykładowo dla próbki BH 1 na rysunku 7.45. Dla porównania pokazano także topografię powierzchni włókien zawierających nanododatek TCP o mniejszej chropowatości powierzchni. Taki rodzaj niejednorodności powierzchni jest typowy dla włókien formowanych metodą z roztworu na mokro. Wyższa wartość chropowatości włókien zawierających nanododatek HAp związana jest z występowaniem sporadycznie na powierzchni włókien ziaren wprowadzonego do tworzywa nanododatku. Ze względu na przeznaczenie włókien jako składnika biokompozytu do regeneracji tkanki kostnej zjawisko to można uznać za korzystne.



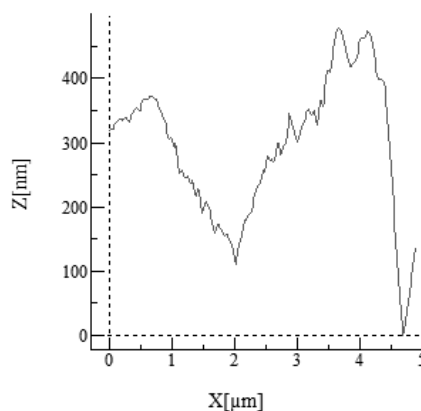
a)



b)



c)



d)

Rys 7.45. Zdjęcie AFM powierzchni próbek zawierających TCP (BT2) (a i b) i HAp (BH1) (c i d)

Na podstawie przeprowadzonych w tym rozdziale badań można stwierdzić, iż korzystne ze względu na uzyskiwanie wytrzymałości właściwej na poziomie 20,3 cN/tex, przy jednocześnie wysokich właściwościach sorpcyjnych i retencji wody jest prowadzenie procesu formowania włókien z BAC 95/5/HClO₄ o 1% zawartości nanododatku HAp bądź TCP przy nieznacznie ujemnych wartościach wyciągu filerowego odpowiednio -20% i -10%. Ze zwiększeniem udziału nanododatku HAp bądź TCP w tworzywie włókien do 3% związane jest obniżenie ich właściwości wytrzymałościowych odpowiednio do 18,37 cN/tex i 14 cN/tex. Poziom ten jest niższy w porównaniu do włókien bez nanododatku formowanych w optymalnych warunkach.

Wprowadzenie do tworzywa włókien z BAC 95/5/HClO₄ 3% nanododatku HAp bądź TCP nie powoduje istotnych zmian w strukturze krystalicznej w porównaniu do włókien bez nanododatku formowanych w analogicznych warunkach. Zarówno stopień krystaliczności, jak i rozmiary krystalitów utrzymują się na zbliżonym poziomie.

Porowatość włókien z BAC uzależniona jest głównie od warunków ich formowania. Nieco wyższą porowatością w zakresie do 1000 nm odznaczają się włókna zawierające TCP, przy zachowaniu tego samego charakteru struktury porowatej.

Wysoka chropowatość powierzchni włókien z tworzywa BAC 95/5/HClO₄, wyższa w przypadku zawierających nanododatek HAp bądź TCP, związana jest nie tylko z metodą formowania włókien, ale także z obecnością na niej nanododatku.

Zarówno strukturę porowatą, jak i charakter powierzchni włókien z tworzywa BAC 95/5/HClO₄ zawierających nanododatek HAp bądź TCP można uznać za korzystne ze względu na przeznaczenie włókien, jako składnika kompozytów polimerowo-włóknistych.

7.10. Wytwarzanie kompozytów polimerowo-włóknistych na bazie nanokompozytowych włókien z kopoliestrów butyrylo-acetylowych chityny BAC 95/5/HClO₄

W ramach realizacji tego punktu opracowania przeprowadzono badania dotyczące otrzymywania biokompozytów na bazie włókien z kopoliestrów butyrylo-acetylowych chityny oraz innego biogodnego polimeru jakim jest poli-ε-kaprolakton (PCL). Badania te przeprowadzono w ramach realizacji grantu rozwojowego N R08 0017 06. Realizacja obejmowała następujące zagadnienia umożliwiające dobór warunków wytwarzania materiałów przeznaczonych do otrzymywania skafoldów 3D:

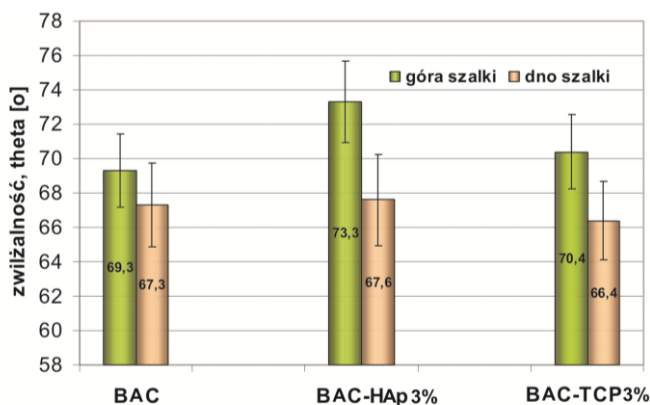
- badanie modelowych materiałów w formie folii 2D,
- badanie bioaktywności materiałów włóknistych,

- badanie nad modyfikacją powierzchniową włókien z kopoliestru butyrylowo-octanowego chityny (BAC),
- dobór metody wytwarzania materiałów 3D na bazie nanokompozytowych włókien BAC w osnowie PCL,
- badania komórkowe materiałów 3D na bazie nanokompozytowych włókien BAC w osnowie PCL.

7.10.1. Badania modelowych folii 2D wytworzonych z BAC 95/5/HClO₄

Materiał do badań w postaci zawiesiny polimeru (prekursora włókien) został metodą castingu uformowany w cienkie folie, które poddano obserwacji mikroskopowej w celu zbadania obecności nanododatku (TCP, HAp). Folie o grubości (200-250 μm) suszono przez 24h w atmosferze powietrza w temperaturze pokojowej, a następnie przez 48h w suszarce próżniowej w temperaturze 25°C. Wszystkie materiały charakteryzowały się mlecznym, nietransparentnym kolorem.

Materiały te charakteryzują się odmiennymi właściwościami hydrofobowo-hydrofilowymi, w zależności od strony otrzymanej foli. Różnice makroskopowe dotyczą wszystkich otrzymanych na drodze odlewania folii; wierzchnia warstwa (określana dalej jako góra szalki) charakteryzuje się połyskliwością i wyższą wartością kąta zwilżenia niż dolna warstwa powierzchni (dno szalki). Analiza zwilżalności powierzchni potwierdza wpływ nanododatku na matryce polimerową. Obecność nanonapełniacza silnie hydrofobizuje powierzchnię (być może oddziaływania na granicy faz napełniacz-matryca, powodują reorganizację łańcucha polimerowego). Największy wpływ na osnowę wydaje się mieć nanocząstka hydroksyapatytu. Jednocześnie dno szalki charakteryzuje się podobną wartością kąta zwilżania niezależnie od obecności, bądź braku nanododatku (rys. 7.46).



Rysunek 7.46. Zestawienie pomiarów kąta zwilżenia dla folii wylewanych z BAC 95/5/HClO₄ i BAC 95/5/HClO₄ modyfikowanego nanododatkami HAp i TCP

Należy zwrócić uwagę na dużą wartość niepewności (porównywalna jest ona jednak dla wszystkich badanych materiałów). Oznacza to, że podczas badania notowano rozrzut wyników, który wpłynął na wielkości niepewności pomiaru. Wydaje się, że są miejsca na płycie polimerowej (nanokompozytowej), które charakteryzują się odmiennymi wartościami kątów (odmiennymi cechami powierzchni np. domeny hydrofilowe lub hydrofobowe).

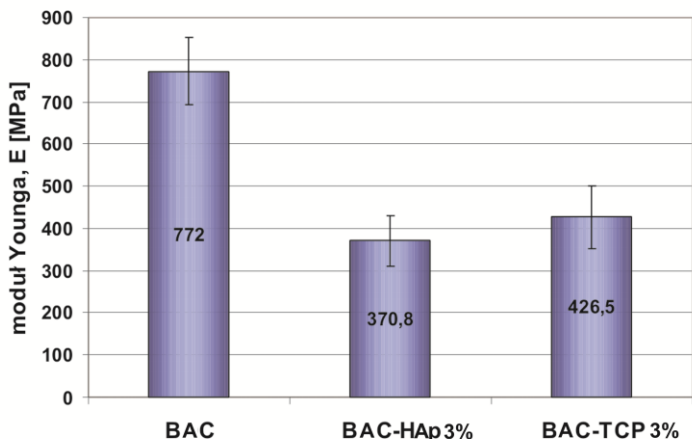
Ze względu na zaobserwowane różnice w zwilżalności powierzchni tworzyw na bazie BAC i w celu weryfikacji przyczyny zaistniałego stanu rzeczy wykonano również badania chropowatości. Wykazały one, że niezależnie od strony płytki wszystkie badane materiały charakteryzują się podobnym profilem (tabela 7.27). Pomiary te obarczone są 2% niepewnością pomiaru względną typu A.

Tabela 7.27. Zestawienie badań chropowatości dla folii wylewanych z BAC 95/5/HClO₄ i BAC 95/5/HClO₄ modyfikowanego TCP i HAp

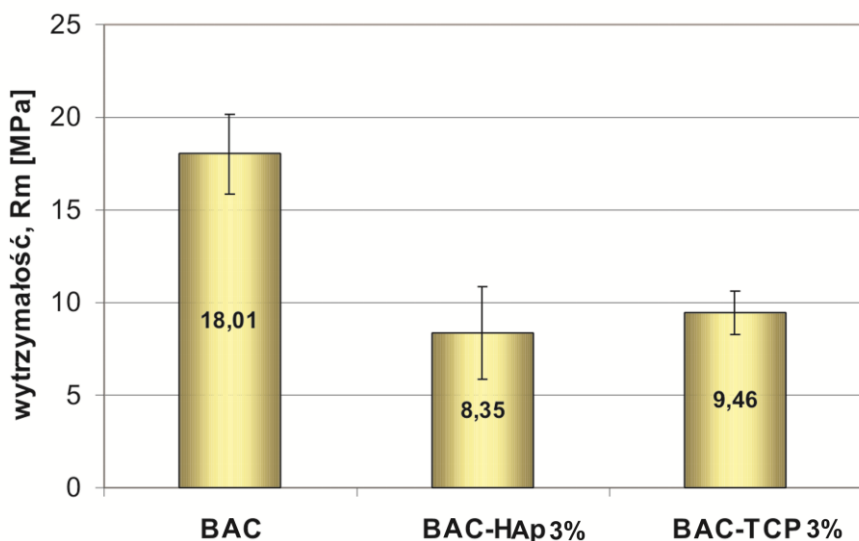
Materiał	Góra szalki			Dno szalki		
	Ra	Rt	Rz	Ra	Rt	Rz
BAC 95/5/HClO ₄	0,56	1,21	1,23	0,58	1,24	1,25
BAC 95/5/HClO ₄ -HAp	0,58	1,92	1,98	0,59	1,94	1,97
BAC 95/5/HClO ₄ -TCP	0,57	1,19	1,24	0,56	1,21	1,24

Chropowatości powierzchni charakteryzowano poprzez wyznaczenie średniego arytmetycznego odchylenia profilu od linii średniej – Ra, poprzez wyznaczenie całkowitej wysokości nierówności Rt oraz oznaczenie wysokości chropowatości według dziesięciu punktów profilu – Rz.

Ponadto stwierdzono, iż obecność nanonapełniacza ceramicznego wpływa silnie na tworzywo polimerowe, osłabiając jego właściwości mechaniczne. Wykonana analiza badania mechanicznego wykazała, iż otrzymane materiały polimerowe są kruche (kształt krzywych), a wprowadzenie nanonapełniacza pogłębia jeszcze bardziej to zjawisko. Obserwowany spadek modułu Younga o około 50% (dla BAC95/5/HClO₄/TCP i BAC95/5/HClO₄/HAp) względem materiału z czystego polimeru BAC95/5/HClO₄, jak również podobne obniżenie wytrzymałości na rozciąganie, świadczą o negatywnym wpływie cząstek na parametry mechaniczne tworzywa (rys. 7.47 i 7.48). Obniżeniu ulegają również inne parametry tworzywa, takie jak praca zniszczenia i odkształcalność.



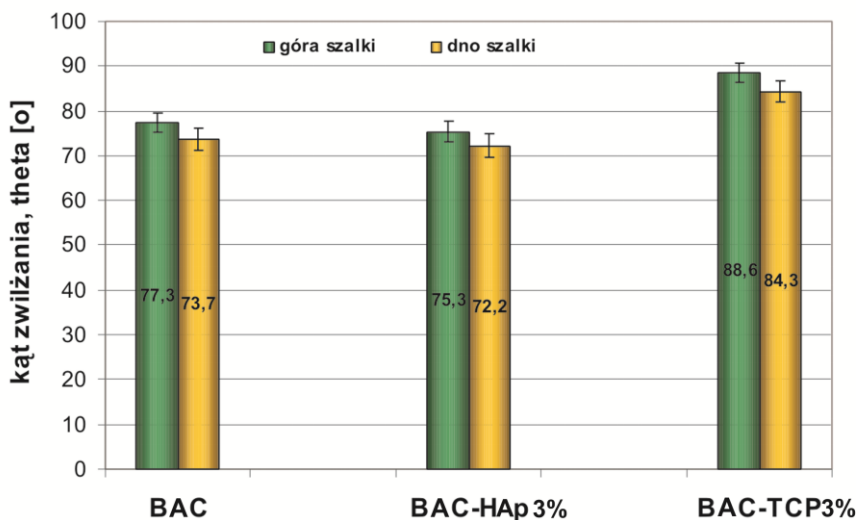
Rysunek 7.47. Zmiany modułu Younga dla badanych materiałów w formie folii



Rysunek 7.48. Zmiany wytrzymałości folii wykonanych z BAC 95/5/HClO₄ oraz z BAC95/5/HClO₄ zawierających HAp bądź TCP

Krótkoterminowa degradacja materiałów w buforze fosforanowym (PBS/37°C/4 tygodnie) wskazuje, że obecność tych materiałów nie wpływa na wartość pH medium (ok. 7.4 dla wszystkich inkubowanych materiałów). Wspomniane środowisko wodne wpływa jednak na zmianę zwilżalności powierzchni tworzywa. We wszystkich badanych materiałach odnotowano wzrost kąta zwilżania względem tych samych próbek sprzed inkubacji (rys. 7.46 i rys. 7.49). Najsilniejszym hydrofobizującym nanonapełniaczem okazuje się fosforan trójwapiowy, jego obecność w ilości 3% w folii powoduje wzrost kąta zwilżalności

z 70,4 do 88,6°. Obecność 3% HAp w foliach nie zmienia tak drastycznie właściwości powierzchniowych – kąt zwilżania nie uległ zmianie w stosunku do folii z czystego polimeru, rysunek 7.49. Obserwowane zachowanie świadczyć może o silnej skłonności do adsorpcji płynu we wnętrzu folii polimerowej której zdolności chłonne wspomagane są dodatkowo przez obecność TCP, który być może, wpływa na utrzymanie reorganizacji geometrycznej łańcucha polimerowego na trwałe. Zaobserwowano, że zmiana zwilżalności dotyczy obydwu badanych stron materiału. Dodatkowo, niski rozrzut wartości kąta zwilżania pozwala przypuszczać, że powierzchnia materiału po inkubacji w PBS stała się bardziej jednorodna.



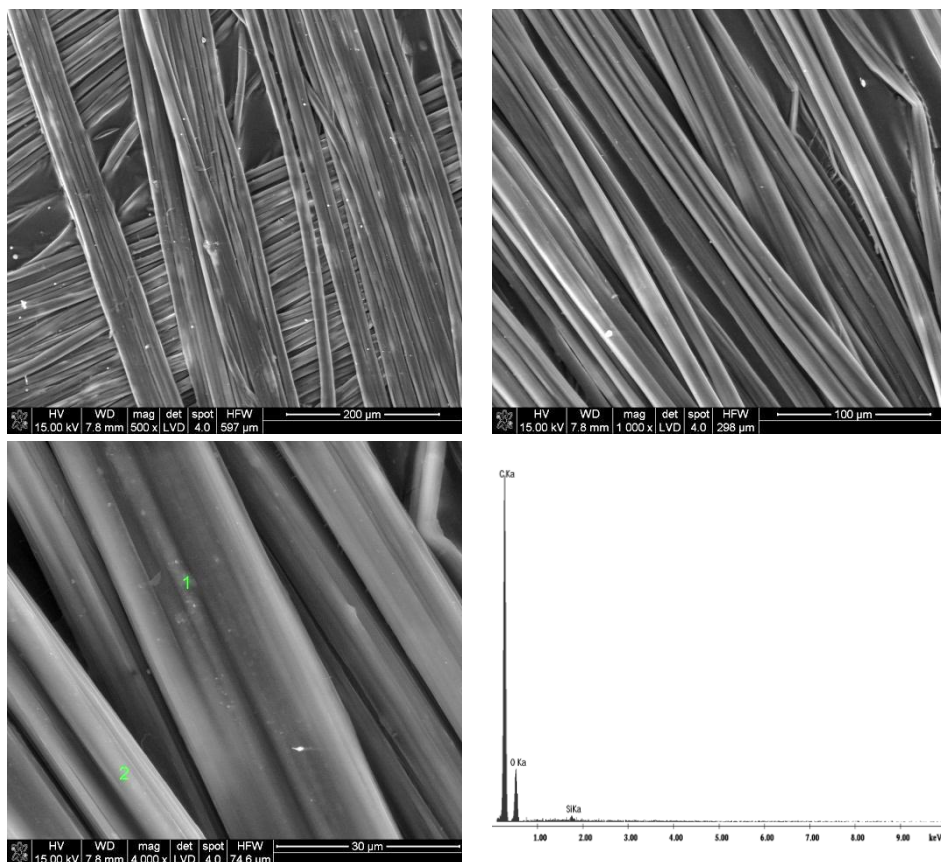
Rysunek 7.49. Zmiana zwilżalności powierzchni dla materiałów na bazie BAC 95/5/HClO₄ poddanych inkubacji w PBS

Na podstawie przeprowadzonych badań oddziaływania folii wykonanej z BAC 95/5/HClO₄ z roztworem PBS można stwierdzić, iż w matrycy kopolimeru butyrylo-acetylowego można spodziewać się dobrej dyspersji nanododatki ceramicznych HAp bądź TCP. Z podanych kompozycji możliwa jest do otrzymania zarówno folia nanokompozytowa jak i włókno. Obecność nanododatku niewątpliwie wpływa na parametry mechaniczne jak i fizykochemiczne tworzywa (zarówno w formie płaskiej folii 2D jak i w formie włóknistej), zmianę zwilżalności, zmianę nasiąkliwości, obniżenie parametrów mechanicznych.

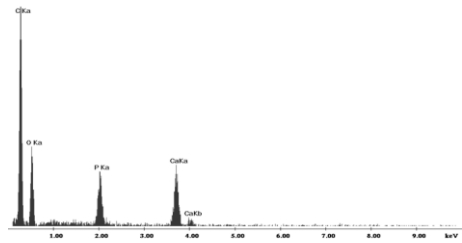
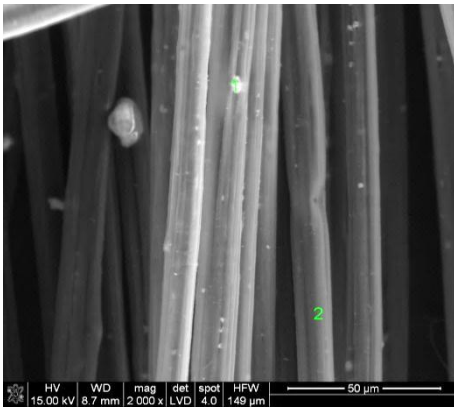
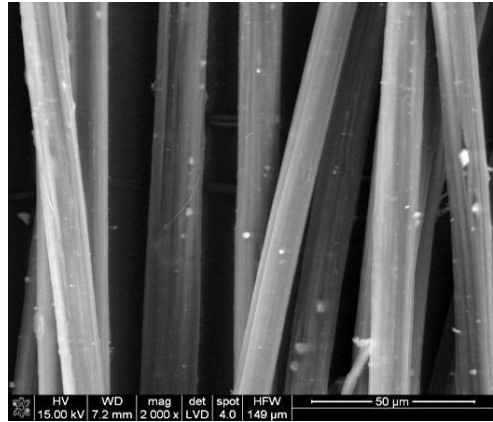
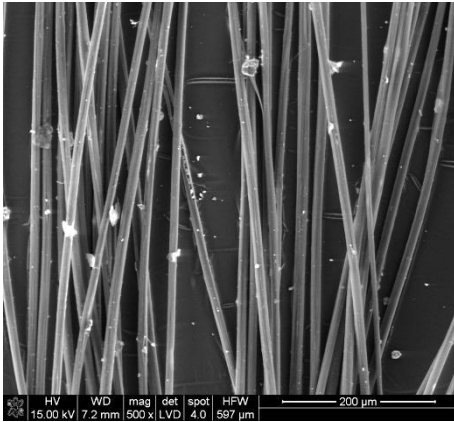
7.10.2. Analiza bioaktywności włókien na bazie BAC 95/5/HClO₄

Na podstawie obserwacji mikroskopowych (SEM) oszacowano średnicę włókien, których wielkość nie zmienia się mimo obecności nanonapełniacza.

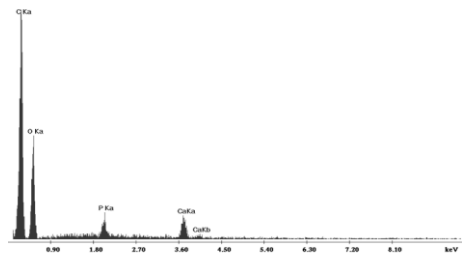
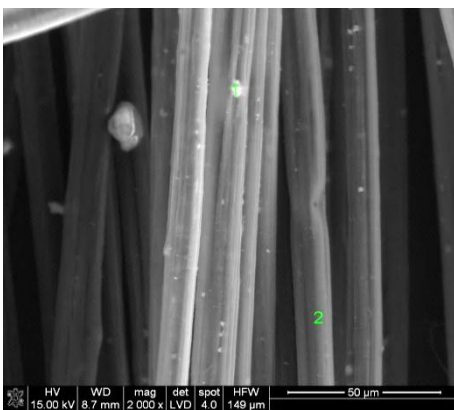
Niska wartość współczynnika zmienności ok. 5%, wskazuje, że wszystkie materiały włókniste mają średnicę ok. 12-17 μm . Dodatkowo wykonana analiza EDS pozwoliła na potwierdzenie obecności ceramicznego dodatku wewnątrz włókien. W przypadku BAC modyfikowanego TCP (BT 2), cząstki nanododatku znacznie bardziej widoczne są na powierzchni włókna. Natomiast w przypadku włókien BAC modyfikowanych HAp (BH 1) ilość nanododatku widoczna na powierzchni jest znacznie mniejsza.



Rysunek 7.50. Morfologia włókien z BAC 95/5/HClO₄ (B 7) wraz z analizą EDS potwierdzającą skład

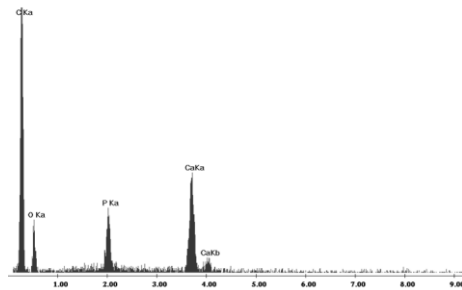
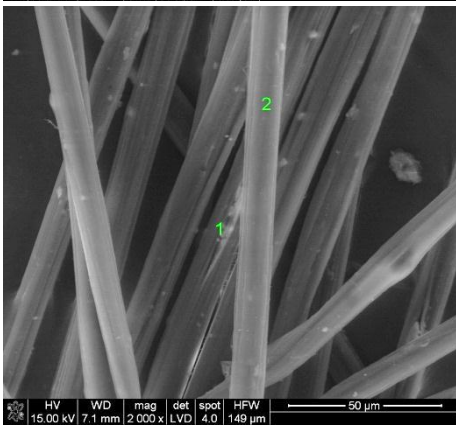
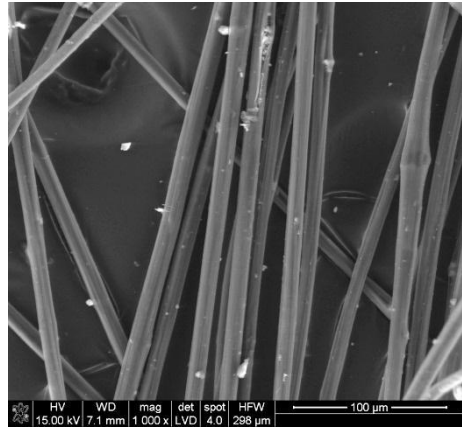
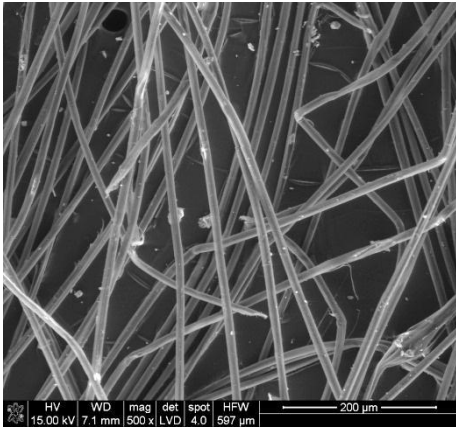


Rysunek 7.51 A. Włókno nanokompozytowe BAC 95/5/HClO₄/HAP (BH 1), zdjęcie SEM i analiza punktowa EDS (punkt - p1 nanocząstka HAP na powierzchni włókna)

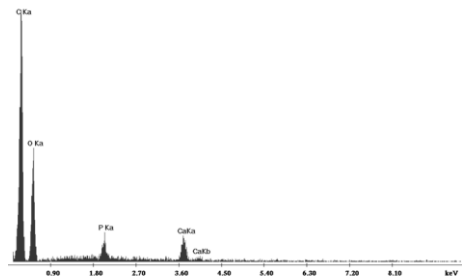
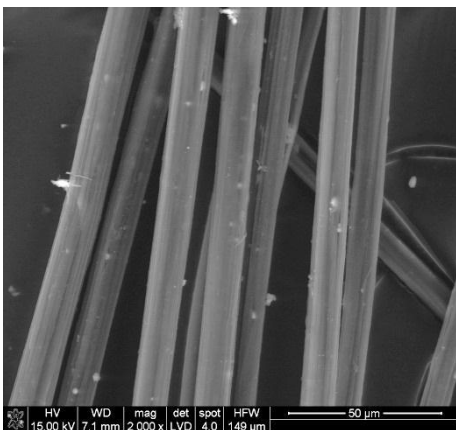


Rysunek 7.51 B. Włókno nanokompozytowe BAC 95/5/HClO₄/HAP (BH 1), zdjęcie SEM i analiza punktowa EDS (punkt - p2 HAP obecny we wnętrzu włókna)

Rysunek 7.51. Morfologia włókien z BAC 95/5/HClO₄/HAP (BH 1), modyfikowanych 3% wt. HAP wraz z analizą EDS potwierdzającą skład



Rysunek 7.52 A. Włókno nanokompozytowe BAC 95/5/HClO₄/TCP (BT 2), zdjęcie SEM i analiza punktowa EDS (punkt -p1 nanocząstka TCP na powierzchni włókna)



Rysunek 7.52 B. Włókna nanokompozytowe BAC 95/5/HClO₄/TCP (BT 2), zdjęcie SEM i analiza średnia EDS

Rysunek 7.52. Morfologia włókien z BAC 95/5/HClO₄/TCP (BT 2), modyfikowanych 3% wt. TCP wraz z analizą EDS potwierdzającą skład

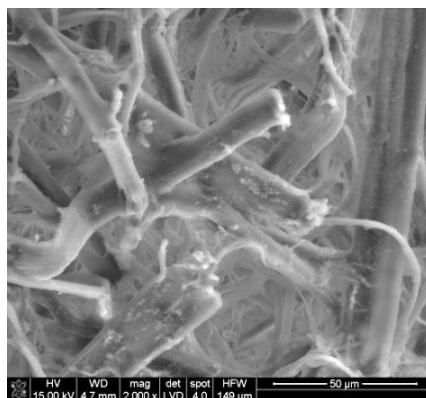
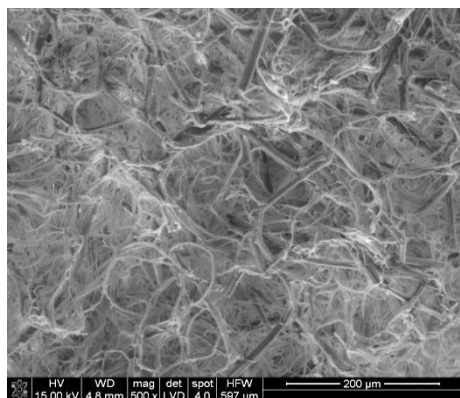
W celu sprawdzenia bioaktywności włókna BAC inkubowano je w symulowanym osoczu (SBF, tabela 7.28) przez 7 dni. Następnie oceniano zmiany morfologii włókien oraz zmianę stężenia jonów charakterystycznych, odpowiedzialnych za nukleację apatytu (metodą ICP).

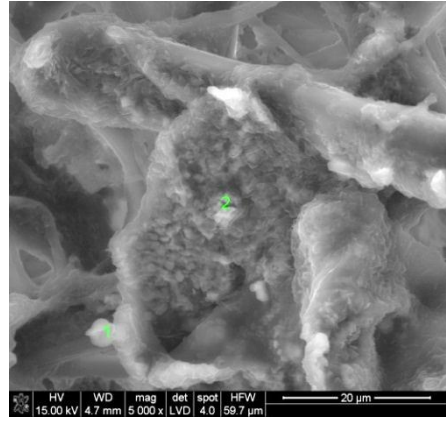
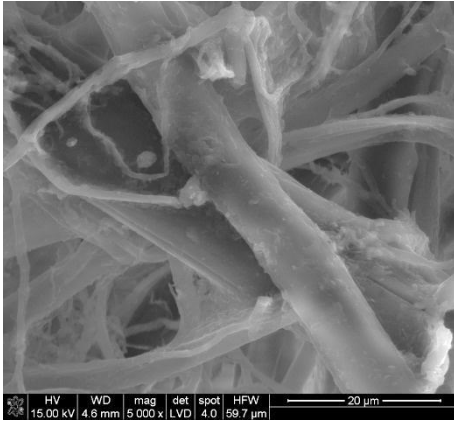
Tabela 7.28. Skład płynu symulującego osocze krwi (SBF)

Jon	Zawartość jonów wyrażona w mM	
	Osocze krwi ludzkiej	SBF
Na ⁺	142,0	142,0
K ⁺	5,0	5,0
Mg ²⁺	1,5	1,5
Ca ²⁺	2,5	2,5
Cl ⁻	103,0	147,8
HCO ₃ ⁻	27,0	4,2
HPO ₄ ²⁻	1,0	1,0
SO ₄ ²⁻	0,5	0,5
pH	7,2-7,4	7,40

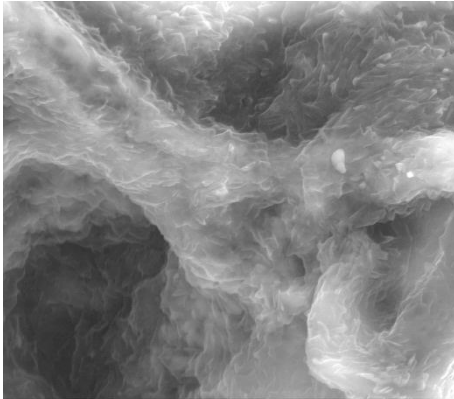
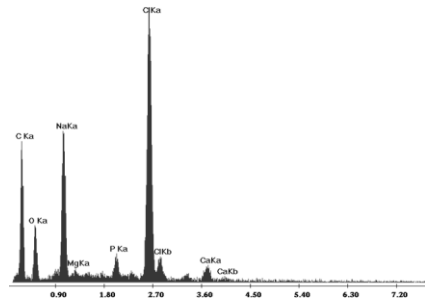
Wyjściowe włókna z BAC (B 7) charakteryzują się średnią średnicą w granicach 12-17 μm , poddane inkubacji w SBF nie zmieniają wielkości średnicy. Nie ulega również zmiana pH medium immersyjnego, które przez cały czas inkubacji pozostaje na poziomie 7,3.

Morfologia włókien nie zmienia się podczas testu bioaktywności, brak jest charakterystycznych „kalafiorowatych” tworów świadczących o krystalizacji apatytu, jednakże analiza EDS z mikroobszarów dostarcza informacji o podniesionym stężeniu jonów charakterystycznych dla apatytu w obrębie włókna (rys. 7.53). Pojawiająca się w niektórych miejscach na powierzchni włókna warstwa stanowi mieszaninę soli sodowych i magnezowych, a także niewielki udział soli fosforanowych.

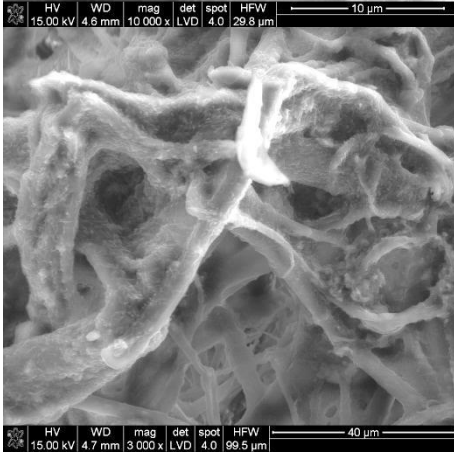
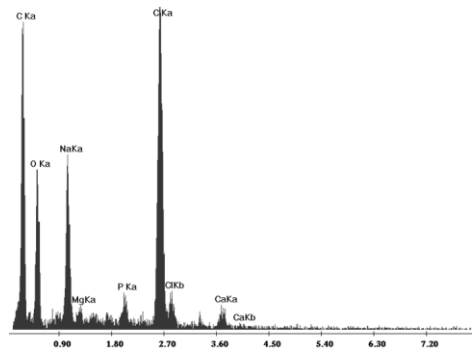




Label A: 10 004p1

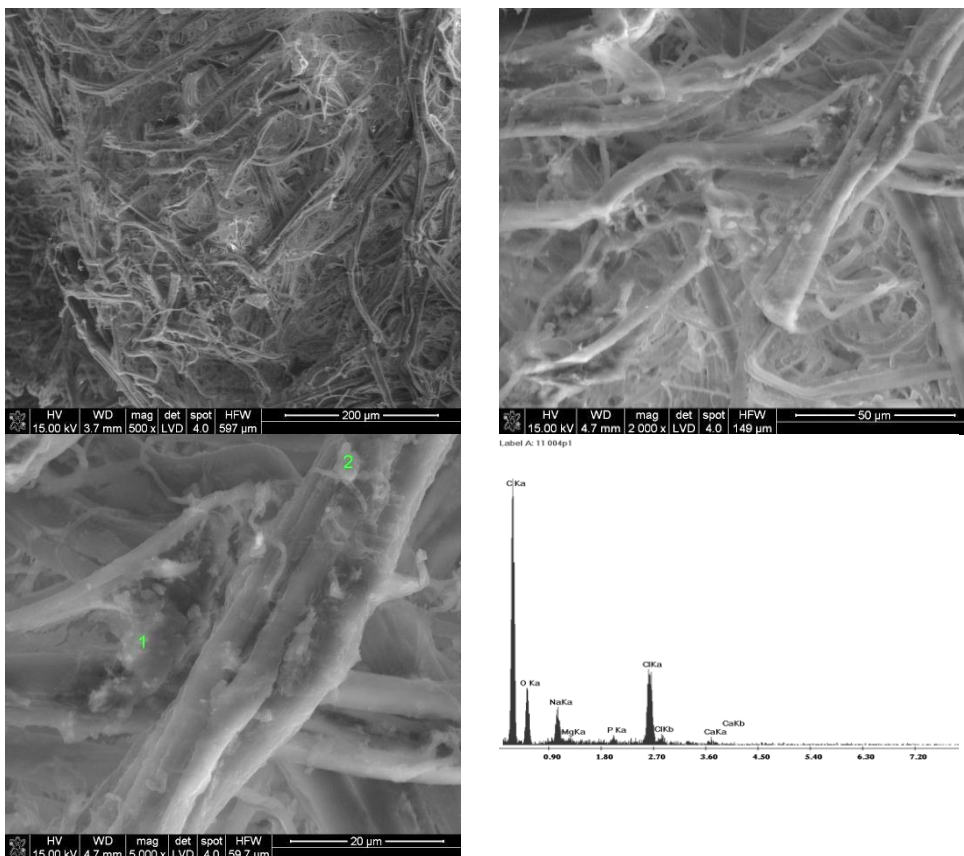


Label A: 10 004p2



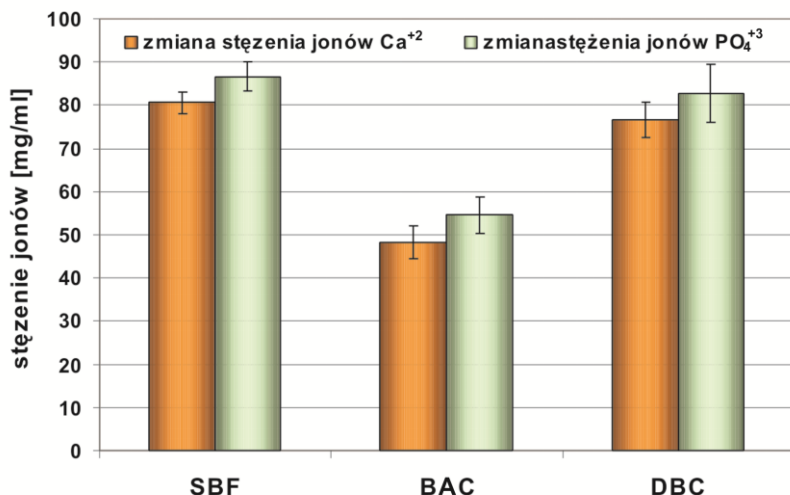
Rysunek 7.53. Morfologia włókien B 7 poddanych inkubacji w SBF, wraz z analiza EDS

W celach porównawczych wykonano podobny test dla włókien wykonanych z dibutyrylochityny (DBC). W tym wypadku brak jest jakichkolwiek zmian w obrębie włókien (rys. 7.54). Wykonana analiza EDS włókien również nie przynosi informacji na temat możliwości krystalizacji apatytu (brak zmian ilości pierwiastków analitycznych takich jak wapń, fosfor).



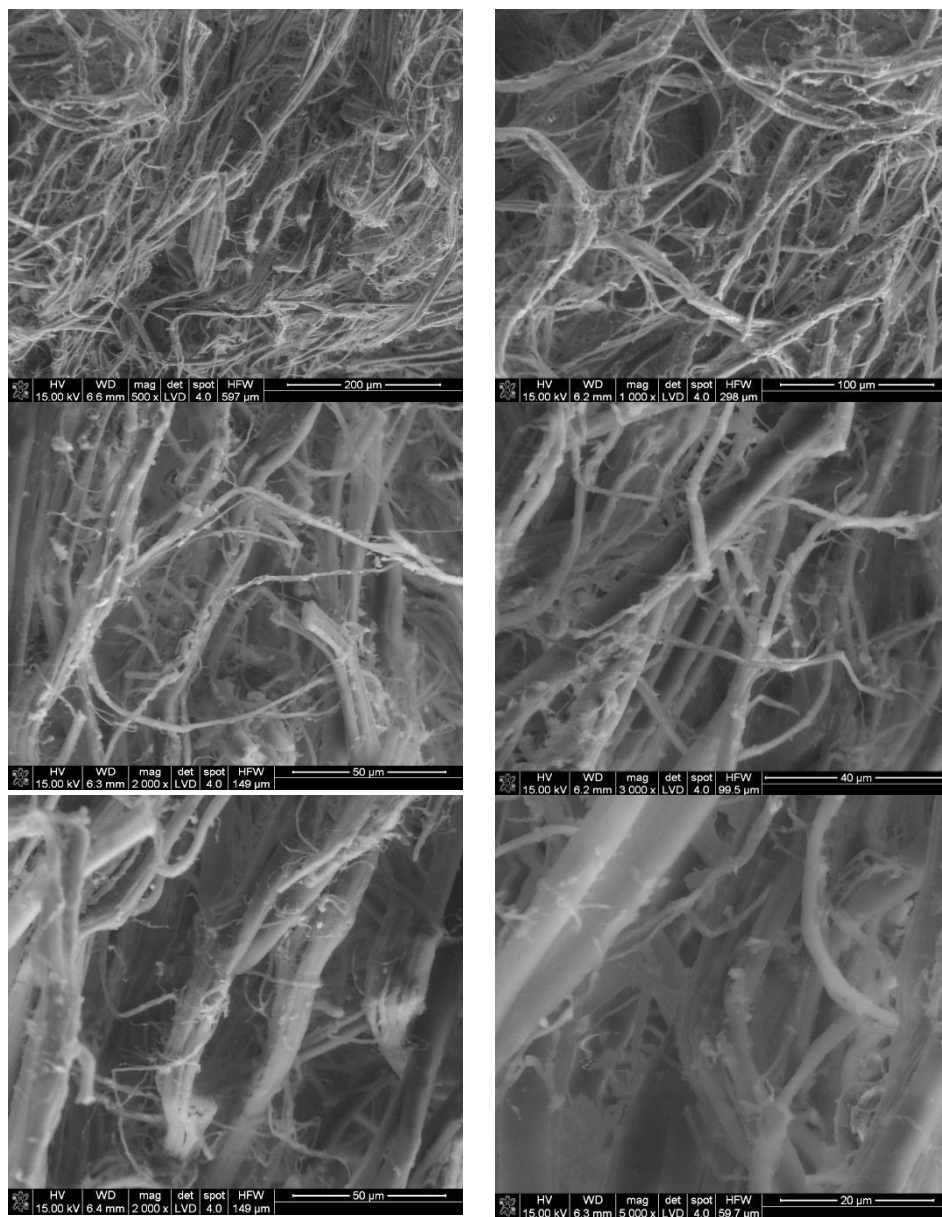
Rysunek 7.54. Morfologia referencyjnych włókien z DBC poddanych testowi bioaktywności. Brak zmian w obrębie powierzchni włókien świadczących o braku skłonności do krystalizacji apatytu z roztworu

Zmiany stężenia jonów odpowiedzialnych za krystalizację wapnia i fosforu potwierdzają, że z roztworu SBF ubywa wspomnianych pierwiastków analitycznych, które prawdopodobnie migrują do wnętrza włókna z BAC (B7), gdzie ma miejsce pierwszy etap krystalizacji apatytu (rys. 7.55). Natomiast w przypadku włókien referencyjnych z DBC nie stwierdzono znaczących zmian stężenia w medium immersyjnym.

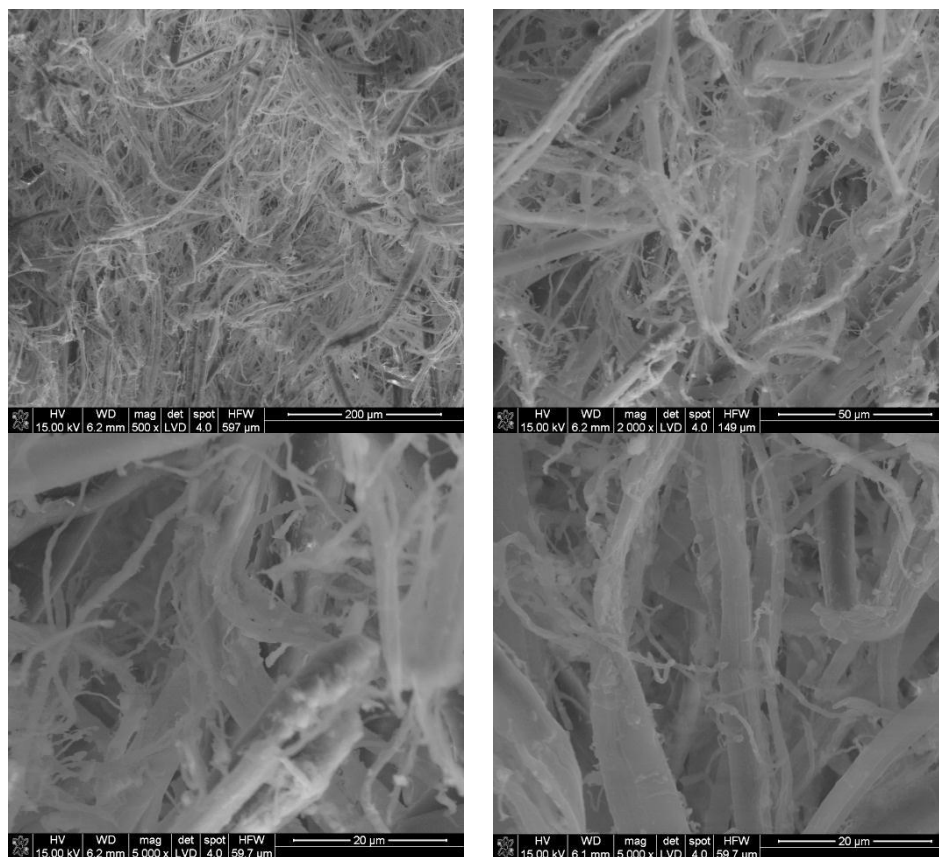


Rysunek 7.55. Zmiany stężenia jonów Ca^{2+} i PO_4^{3-} w medium immersyjnym SBF (po 7 dniach inkubacji) dla włókien BAC (B7) i referencyjnych włókien formowanych z DBC

W ramach prac dotyczących oceny bioaktywności włókien BAC (B7) przeprowadzono również badania przyspieszonej degradacji. Podczas inkubacji włókien w buforze fosforanowym (PBS) stwierdzono znaczną zmianę średnicy włókien z BAC (B7). Znaczna część populacji wykazywała się obniżoną wartością średnicy (do ok. 7 μm), mniejszą część włókien stanowiła populacja o średnicy ok. 15 μm (rys. 7.56). W obrazach mikroskopowych znaleźć można również włókna, których średnica wynosi poniżej 5 μm . Zaproponowany czas inkubacji w PBS (14 dni) powoduje wytrącanie się na powierzchni włókien kryształków soli sodowych i potasowych. Podobne zmiany w obrębie włókien stwierdzono w materiale referencyjnym, jakim były włókna z DBC inkubowane w tym samym medium immersyjnym (PBS). Zmniejszenie średnicy włókien był jednak mniejszy niż w przypadku włókien z BAC (B7) (rys. 7.57).



Rysunek 7.56. Degradacja włókien z BAC (B7) w roztworze PBS



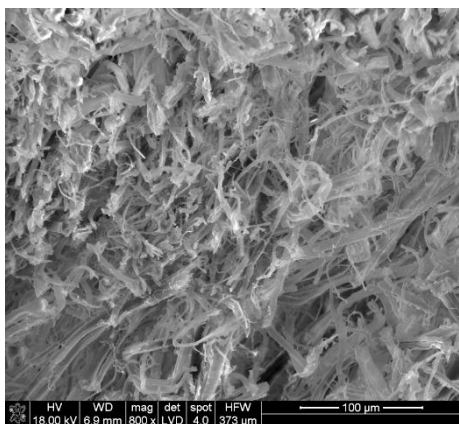
Rysunek 7.57. Degradacja referencyjnych włókien z DBC w roztworze PBS

Tak więc, podsumowując przeprowadzone badania, należy stwierdzić, iż włókna z BAC (B7) wykazują silniejsze predyspozycje do krystalizacji apatytu; silne skłonności sorpcyjne włókien stwarzają możliwość do lokalnych przesyczeń sprzyjających nukleacji apatytu. Ze względu na charakter włókna nie jest możliwe zaobserwowane charakterystycznych wykwitów, jednakże wykonana analiza EDS potwierdza obecność pierwiastków typowych dla apatytu. Dodatkowo analiza zmian stężenia wykonana metodą ICP potwierdza także ubytek jonów wapniowych i fosforanowych w medium imersyjnym, zjawiska takiego nie zaobserwowano w przypadku włókien referencyjnych (DBC). Włókna z BAC (B7) ulegają również szybszej degradacji w warunkach *in vitro*; zmiana średnicy włókien, obecność włókien submikronowych. Obydwa badane materiały stanowią jednak mogą trójwymiarowe podłoża ze względu na łatwość formowania i nadawania kształtów po wcześniejszej immersji w podanym roztworze PBS lub SBF.

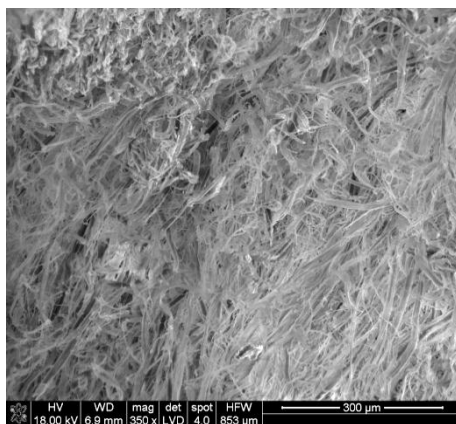
7.10.3. Dobór metod wytwarzania materiałów 3D na bazie nanokompozytowych włókien BAC 95/5/HClO₄ w osnowie PCL

Do modyfikacji osnowy z syntetycznego poliestru alifatycznego jakim jest poli-ε-kaprolakton (PCL) zastosowano w pierwszej kolejności włókna BAC (B 7) nie zawierające nanododatków. W dalszej części badań wykorzystano włókna nanokompozytowe: modyfikowane nanododatkiem hydroksyapatytu (BAC95/5/HClO₄ z 3% udziałem HAp o symbolu BH 1) i fosforanu trójwapiowego (BAC95/5/HClO₄ z 3% udziałem TCP o symbolu BT 2).

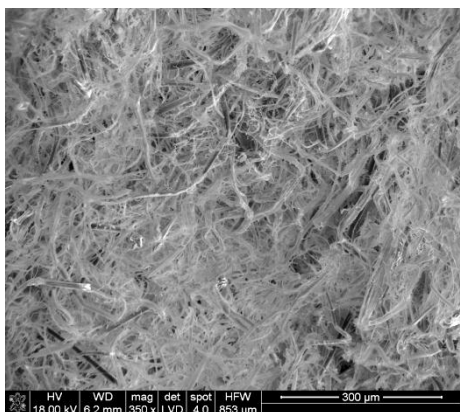
Podczas prób doboru odpowiedniego rozpuszczalnika pozwalającego rozpuścić osnowę kompozytu przy zachowaniu formy włókien z BAC 95/5/HClO₄ stwierdzono, iż odpowiednim rozpuszczalnikiem będzie lodowaty kwas octowy. W przygotowanej serii roztworów PCL:CH₃COOH (w zakresie 1:20-1:100) rozprowadzono homogenicznie włókna w ilości ok. 45-70% wt. Mieszaninę mrożono przez 72 h, a następnie poddano procesowi liofilizacji. Otrzymano serię materiałów, z których do dalszych badań wybrano układ 1:40 PCL:CH₃COOH, przy udziale włókien 60% wg (rys. 7.58 a-b). W trakcie oceny makroskopowej stwierdzono, że zbyt mały udział włókien prowadzi do otrzymania tworzyw kruchych (zbyt duży udział polimeru osnowy względem włókien, rysunek 7.58 c-d). Z kolei niskie stężenie PCL w kwasie octowym prowadzi do otrzymania mikrostruktury praktycznie pozbawionej porów (rys. 7.58 e-f).



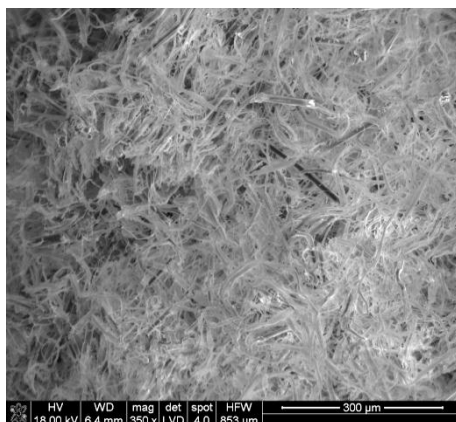
a



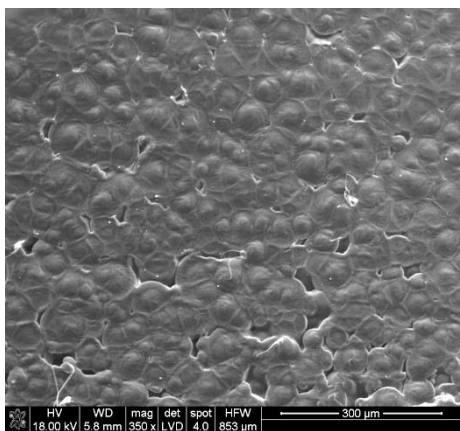
b



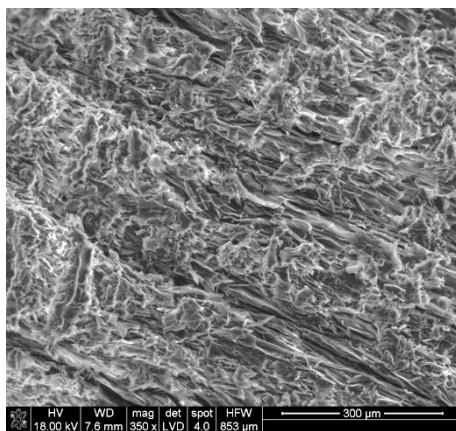
c



d



e



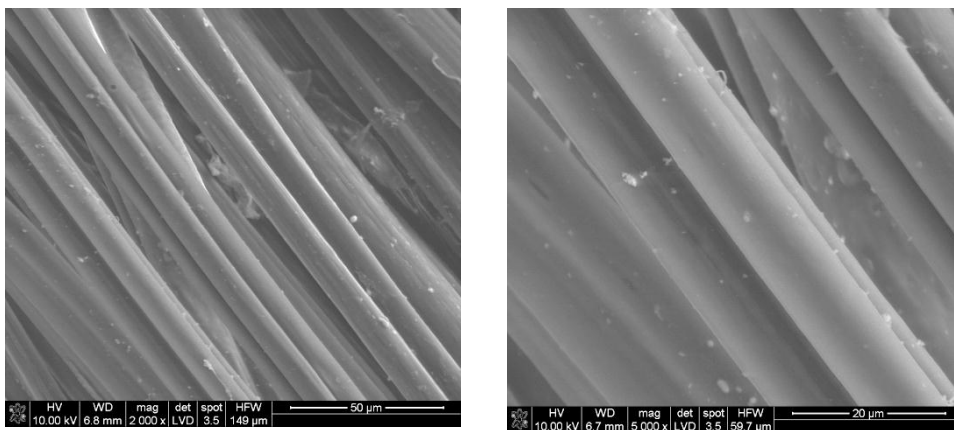
f

Rysunek 7.58. Mikrostruktura materiałów kompozytowych PCL/BAC (B7) poddanych liofilizacji przy różnym udziale włókien (a-d) i stężeniu osnowy z PCL (e-f)

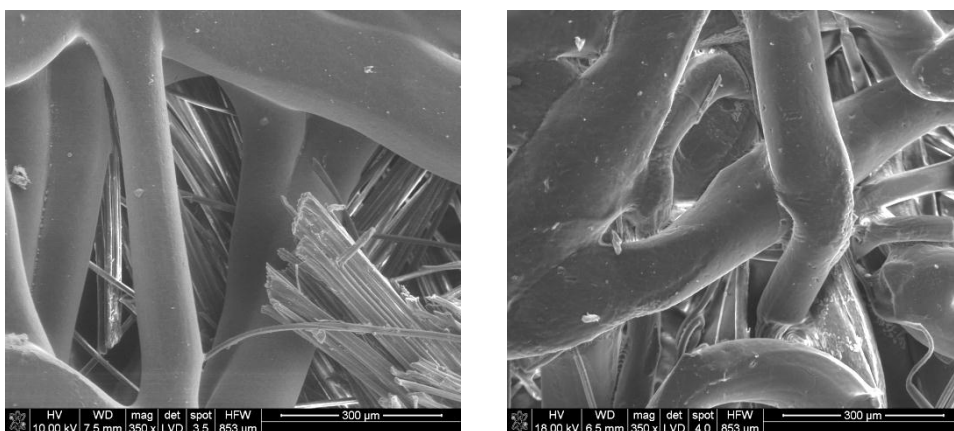
Innym zaproponowanym rozwiązaniem było przygotowanie kompozycji włóknistej, w której za osnowę posłużyły włókna z PCL (rys. 7.59). Włókna z PCL wytworzono w postaci włókniny typu melt blown. Wykorzystano typową aparaturę do wytwarzania włókniny ze stopionego polimeru metodą z rozdmuchu, stosując jednokanalikową dyszę. Włókniny wytwarzane metodą z rozdmuchu z PCL o masie 60000 g/mol realizowano przy temperaturze głowicy 160⁰C, sile przepływu polimeru w głowicy 13 Nm³, temperaturze powietrza rozdmuchującego 271⁰C, obrotach ślimaka ekstrudera 140 obr/min. Natomiast włókninę zbierano na obrotowym odbieralniku w temp. 25⁰C.

Krótkie włókna z BAC (B7) przygotowane poprzez cięcie mechaniczne na odcinki o długości około 10 mm zostały wprowadzone do formy wyłożonej włóknami z PCL. Dodatkowo całość przykryto następną warstwą z włókien PCL

i poddano prasowaniu w temperaturze bliskiej temperaturze mięknienia polimeru ok. 40°C. Otrzymano w ten sposób kompozyt warstwowy, w którym włókna z BAC zostały przykryte włóknami z PCL (rys. 7.60).



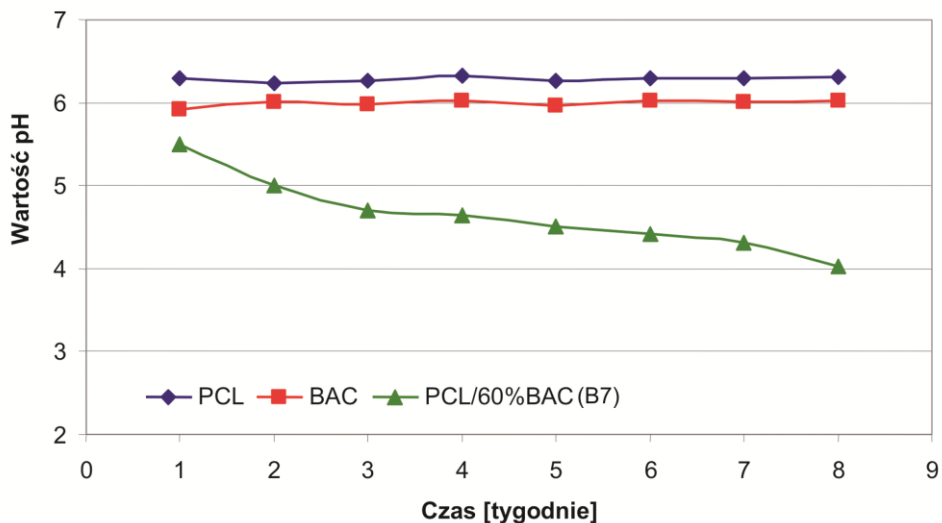
Rysunek 7.59. Widok ogólny włókien z PCL



Rysunek 7.60. Mikrostruktura kompozytu warstwowego PCL/BAC (B7)/PCL

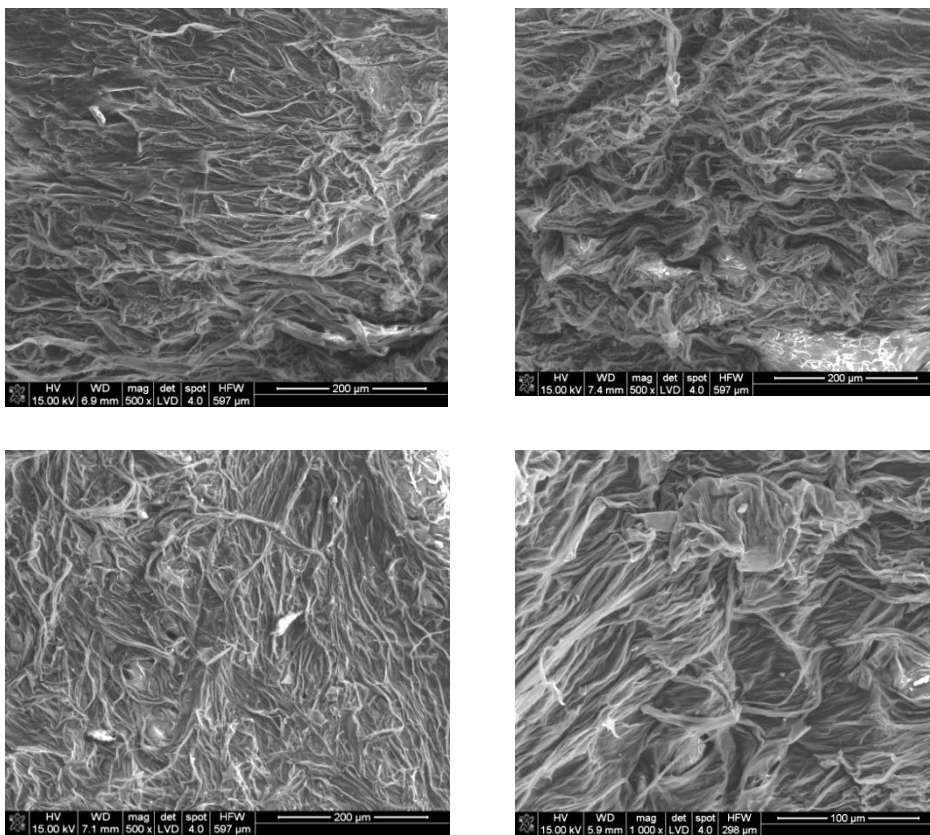
Materiały otrzymane w trakcie eksperymentów poddano testom *in vitro* w warunkach zbliżonych do warunków naturalnych: inkubacji w buforze fosforanowym (PBS) przez okres 2 miesięcy (37°C). Stwierdzono, że o ile materiał otrzymywany na drodze prasowania nie zmienia pH płynu immersyjnego o tyle tworzywo otrzymane na drodze liofilizacji z polimeru rozpuszczonego w kwasie octowym daje silny odczyn kwaśny (pH ok. 4, rys. 7.61). W związku z tym

wynikiem prowadzono nadal prace nad otrzymywaniem materiału na bazie PCL, którego obróbka chemiczna nie prowadziłyby do tak drastycznych zmian uniemożliwiających zastosowanie go do aplikacji medycznych.



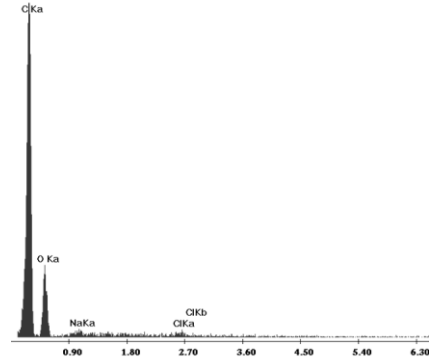
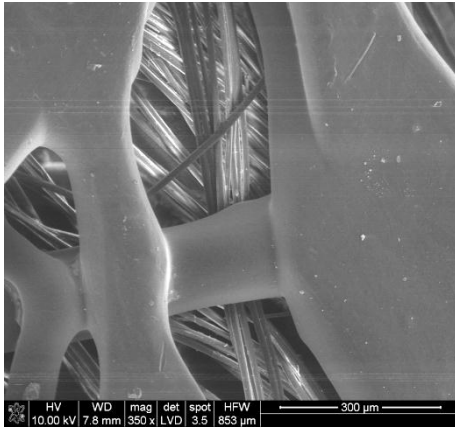
Rysunek 7.61. Zmiany pH płynu immersyjnego (PBS) w trakcie miesięcznego monitorowania zachowania tworzywa kompozytowego otrzymanego metodą liofilizacji w warunkach *in vitro*

Rezultaty eksperymentu wskazały na konieczność zastąpienia niekorzystnego rozpuszczalnika, jakim okazał się lodowaty kwas octowy, innym dopuszczonym do zastosowań medycznych. Dodatkowo konieczne było zastosowanie innej metody otrzymania porowatych rusztowań typu 3D. W tym celu wykorzystano znany w inżynierii biomateriałów DMF, w którym rozpuszczono PCL (1:10). W dalszej kolejności zastosowano metodę polegającą na inwersji fazowej rozpuszczalnika, do którego dodano uprzednio przygotowane włókna krótkie z BAC (B7). W ostatnim etapie pracy materiał wymrażano w taki sposób, który umożliwił otrzymanie licznej populacji drobnych porów. Otrzymany materiał charakteryzował się mikrostrukturą podobną do układu z 60% udziałem włókien (rys. 7.62), a przeprowadzone badania trwałości w warunkach *in vitro* udowodniły brak zmian pH w medium (PBS/37°C/2miesiące).



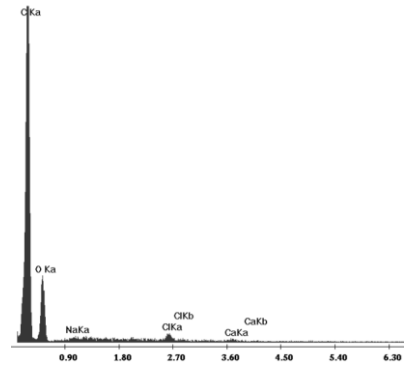
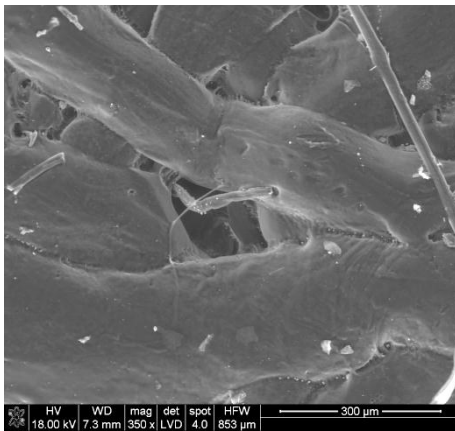
Rysunek 7.62. Mikrostruktura tworzywa PCL/60%wt BAC (B7) otrzymana techniką inwersji faz i liofilizacji

Obydwa badane materiały: kompozyt warstwowy PCL /BAC(B7) /PCL i kompozyt 3D PCL /60%BAC(B 7) poddano testowi bioaktywności. W tym wypadku włókna z BAC zostały wzbogacone w nanonapełniacz ceramiczny (TCP – symbol próbki BT2 lub HAp – symbol próbki BH1). Przygotowane w analogiczny sposób jak poprzednio kompozycje inkubowano w SBF (skład płynu zawiera tabela 7.28) przez okres 7 dni w temperaturze 37°C. Po tym czasie tworzywa poddano obserwacjom w mikroskopie skaningowym z przystawką do mikroanalizy EDS. Nie stwierdzono charakterystycznych struktur apatytowych na powierzchni tworzyw, nie wykazała ich również analiza EDS (rys. 7.63 i rys. 7.64).



b

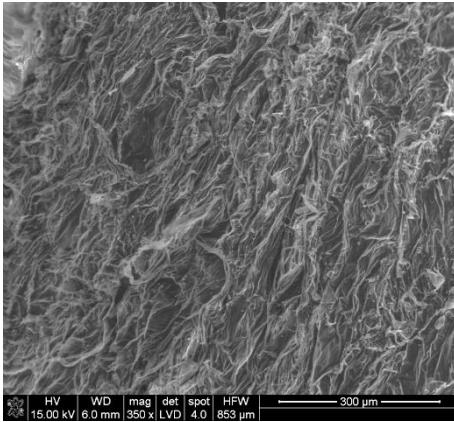
a



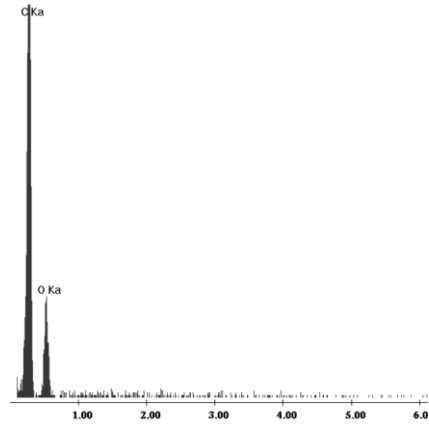
d

c

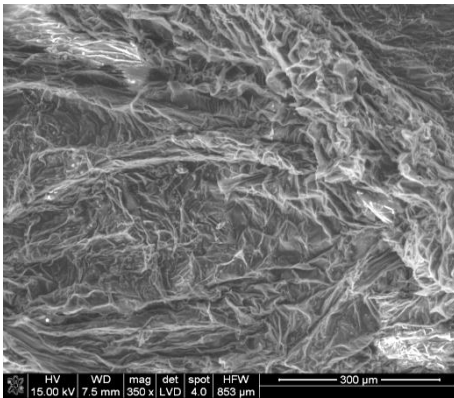
Rysunek 7.63. Mikrostruktura kompozytu MD - PCL/BAC(BH1)/PCL wraz z analizą EDS (a-b), PCL/BAC(BT2)/PCL wraz z analizą EDS (c-d)



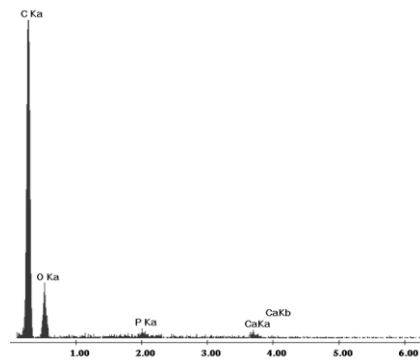
a



b



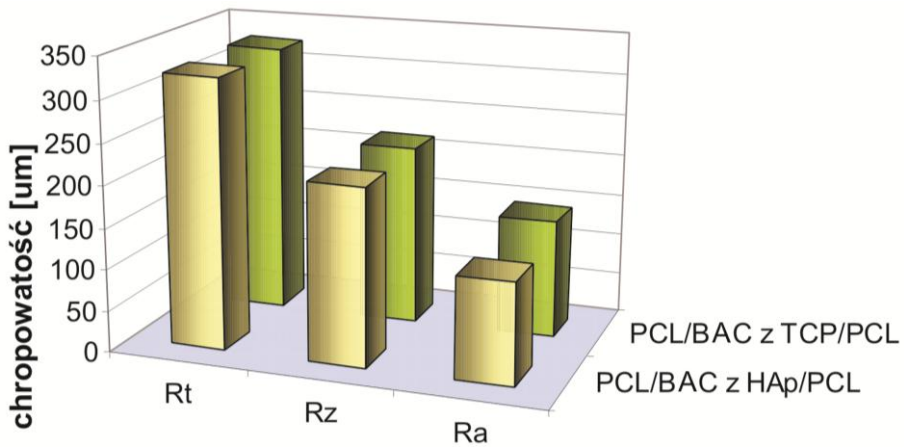
c



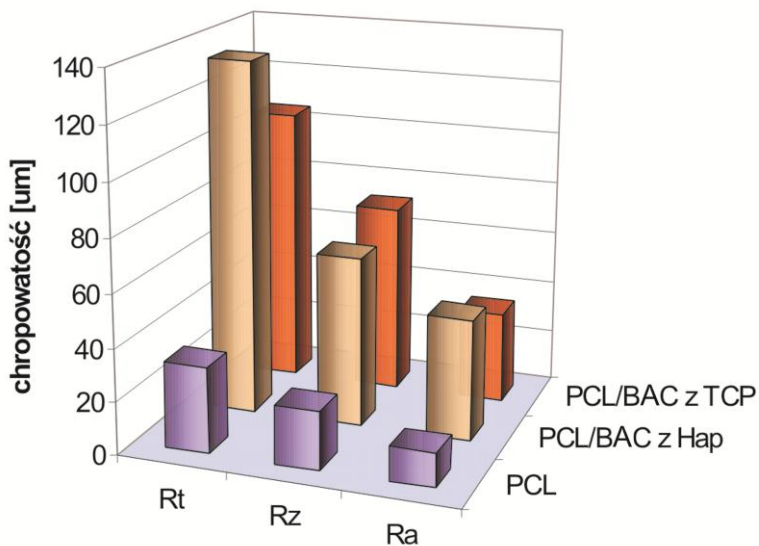
d

Rysunek 7.64. Mikrostruktura kompozytu 3D - PCL/BAC (BH 1) wraz z analizą EDS (a-b), PCL/BAC (BT 2) wraz z analizą EDS (c-d)

Badania fizykochemiczne, takie jak zwilżalność i topografia powierzchni kompozytów MD i 3D (rysunki 7.65-7.67) wskazują, że obydwa rodzaje materiałów należą do grupy tworzyw hydrofobowych, których stopień zwilżalności zależy silnie do chropowatości powierzchni. Im wyższa chropowatość tym niższy kąt zwilżania (krople w trakcie pomiaru wpadają w przestrzeń między włóknami stąd duże odchylenie standardowe).



Rysunek 7.65. Chropowatość kompozytowych warstwowych typu MD: PCL/BAC(BT2)/PCL i PCL/BAC(BH1)/PCL

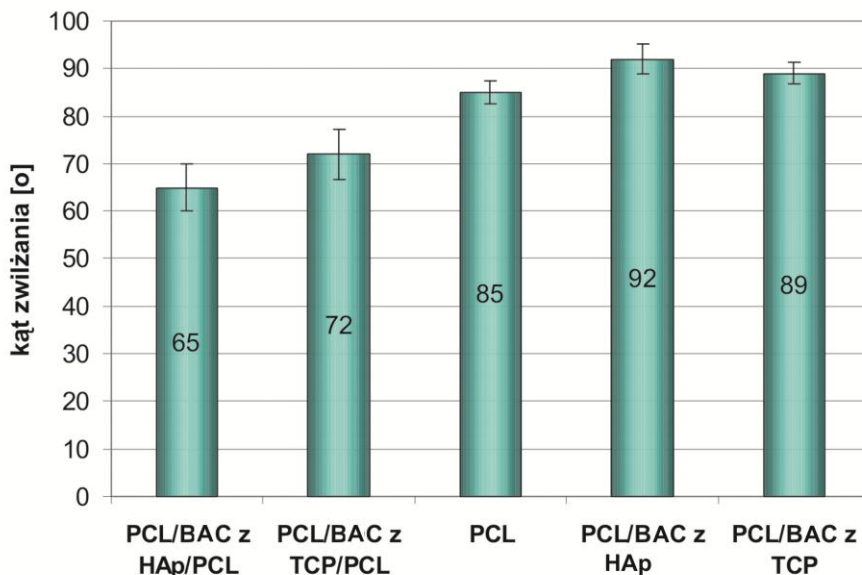


Rysunek 7.66. Chropowatość tworzyw kompozytowych typu 3D: PCL/BAC (BT2) i PCL/BAC (BH1)

gdzie: R_a – średnia arytmetyczna odchylenia profilu od linii średniej,

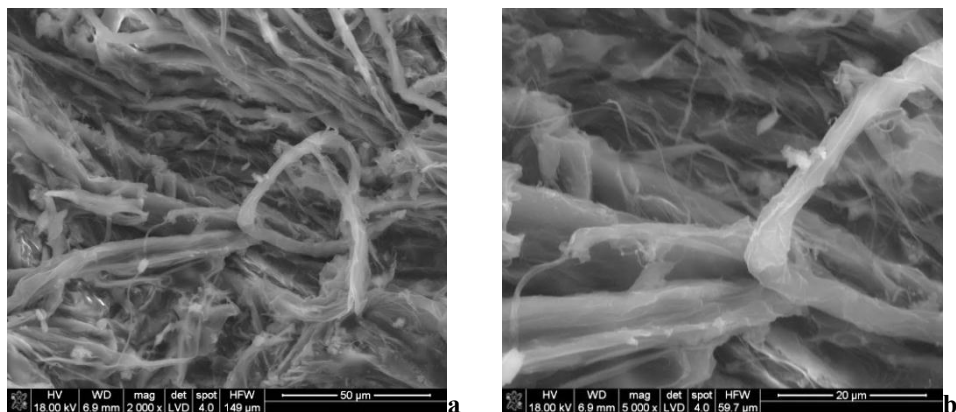
R_t – całkowita wysokość nierówności,

R_z – wysokość chropowatości według dziesięciu punktów profilu.



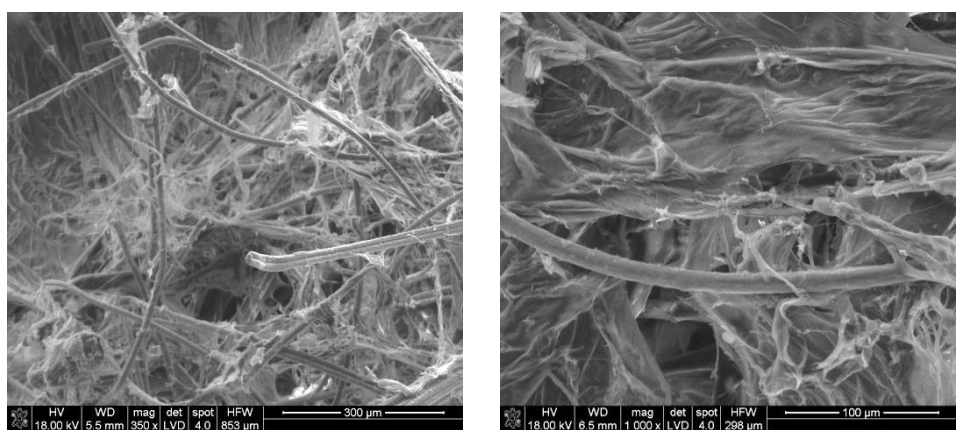
Rysunek 7.67. Zwilżalność powierzchni tworzyw kompozytowych typu MD: PCL/BAC (BT2)/PCL i PCL/BAC(BH1)/PCL oraz typu 3D PCL/BAC(BT2) i PCL/BAC(BH1). Jako referencje potraktowano PCL liofilizowany typu 3D

Przygotowane materiały PCL/BAC(B7)/PCL w formie podłoży 3D są trudnym materiałem badawczym ze względu na niską homogeniczność włókien biopolimerowych (niejednorodny rozkład włókien krótkich z BAC w warstwie włókien ciągłych z PCL). Tak więc, wyniki badań przeprowadzonych poprzednio, a dotyczące chropowatości i zwilżalności, są konsekwencją złożenia warstwy hydrofobowej (PCL) z warstwą „pseudo” silnie hydrofilową włókien (BAC). W efekcie otrzymuje się podłoże o zmiennym charakterze powierzchni (hydrofilowo-hydrofobowym) i mikrostrukturze, która z jednej strony jest silnie porowata jednak wielkość porów powstałych, jako przestrzenie między włóknowe jest powyżej 1 mm, co może utrudniać zasiedlanie włóknistego podłoża. W trakcie przebywania w medium komórkowym obecne w podłożu włókna z BAC(B7) pęcznią, kumulując składniki medium i niwelując przestrzenie międzywłóknowe. Jednocześnie, ze względu na charakter włókien z BAC – żelowa postać włókna, osiadanie komórek i ich proliferacja może być trudna. Przeprowadzono przyspieszoną degradację tworzywa, podczas której stwierdzono, że pH medium (PBS) utrzymuje się na tym samym poziomie (pH = 7.2) po okresie inkubacji równym 7 dni/40°C. Przeprowadzono również obserwacje mikroskopowe SEM włókien krótkich z BAC pochodzących z badanego układu włóknistego PCL/BAC(BH1)/PCL i stwierdzono zmniejszenie się średnicy włókna o ok. 10-20% (z 10 um do 8 um, rys. 7.68). Bez zmian pozostaje średnica włókien z PCL po zadanym okresie inkubacji.



Rysunek 7.68. Włókna z BAC95/5/HClO₄ (BH1) po degradacji przyspieszonej (7 dni/PBS/40°C)

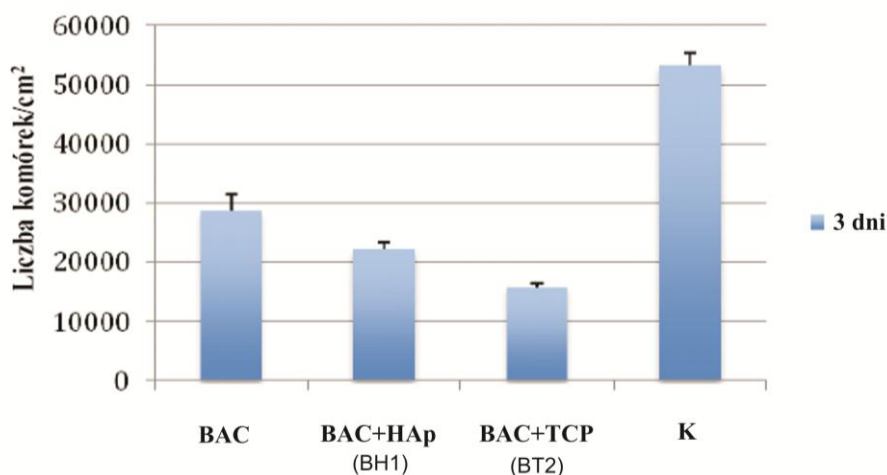
Celem przyspieszonej degradacji warstwy z PCL materiał włóknisty poddawano obróbce chemicznej (kąpiele w wodorofosforanie amonu), a następnie obserwowano powierzchnię warstwy z PCL. Stwierdzono, że morfologia warstwy włókien nie ulega znaczącym zmianom. Ze względu na żelowy charakter włókien z BAC (B7) nie udało się odplukać wodorofosforanu, stąd w trakcie inkubacji kompozytu w PBS widoczne jest równomierne rozmieszczenie włókien BAC (B7) okrywających i przenikających warstwę włókien z PCL. Uzyskany charakter tworzywa jest jednak nierównomierny i na części powierzchni materiału znajdują się miejsca wzbogacone w PCL i miejsca wzbogacone w BAC (B7) (rys. 7.69). Jednakże zachowanie się tych tworzyw w warunkach *in vitro* (odpowiednie pH, czas degradacji, jak również poręczność materiału) pozwoliły na ich dalsze badania biologiczne.

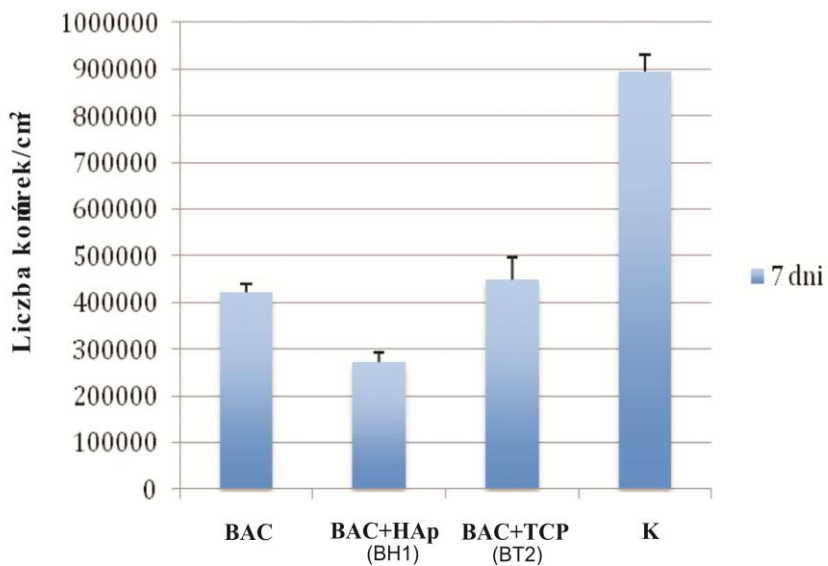


Rysunek 7.69. Podłoże z PCL/BAC 95/5/HClO₄ (B7) po obróbce chemicznej i przyspieszonej degradacji (7 dni/PBS/40°C)

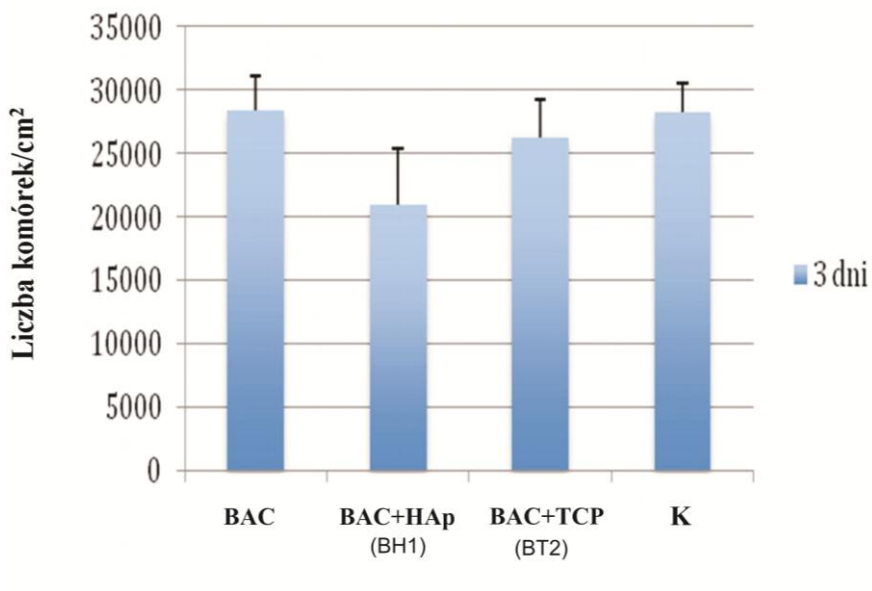
7.10.4. Badania biologiczne z wykorzystaniem hodowli komórek linii ciągłych MG-63

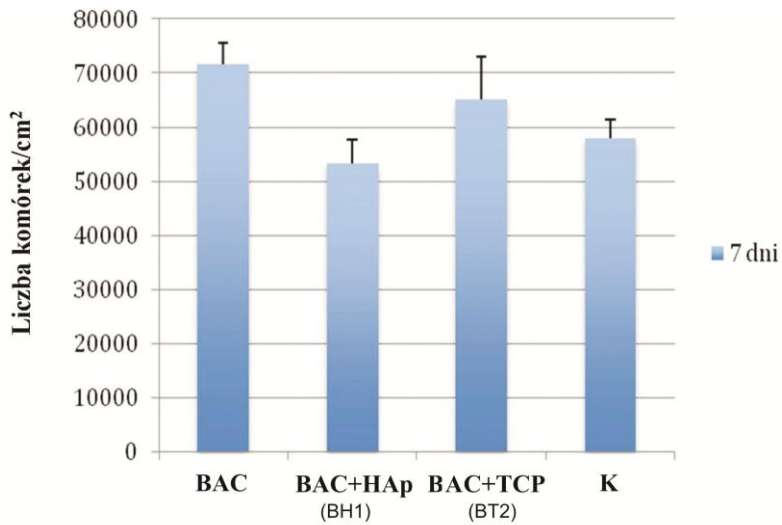
Badania biozgodności materiałów przeprowadzono w hodowli pierwotnej ludzkich osteoblastów NHOst (Lonza, USA). Komórki hodowano w plastikowych butelkach (Nuncclon, Dania) o pojemności 75 ml w pożywce hodowlanej OGM BulletKit (Lonza, USA), składającej się z medium hodowlanego OGM i 10% surowicy cielęcej FBS, w atmosferze 5% CO₂ i temperaturze 37°C (w inkubatorze HeraCell (Heraeus, Thermo Scientific, Niemcy)). Do badań użyto komórki z pasażu 3. Zawiesinę komórek uzyskano przez dodanie 5% trypsyny z EDTA (Lonza, USA). Po przepłukaniu i odwirowaniu komórki doprowadzono do stężenia 3×10^4 komórek/ml, po czym 1 ml zawiesiny komórek umieszczano w studzienkach 24-dołkowej płytki hodowlanej (Nuncclon, Dania), zawierających sterylne krążki badanych materiałów o średnicy 13 mm. Kontrolę pozytywną stanowił polistyren dna dołków płytki hodowlanej (TCPS). Hodowlę komórek NHOst w obecności krążków prowadzono przez 3 i 7 dni (rys. 7.70). Po upływie wyznaczonego czasu w próbkach nadsącza znad hodowli komórek z biomateriałami oznaczono cytotoksyczność (rys. 7.71) za pomocą testu ToxiLight (Lonza, USA), natomiast komórki rosnące na powierzchni próbek i pod nimi (ze względu na strukturę materiałów część komórek osiadła na dnie płytki zamiast na samym materiale) poddano testowi żywotności ViaLight (Lonza, USA). Oceniono również morfologię komórek (rysunki 7.72 i 7.73) w optycznym mikroskopie fluorescencyjnym (Olympus, Japonia), po uprzednim wybarwieniu ich oranżem akrydyny.



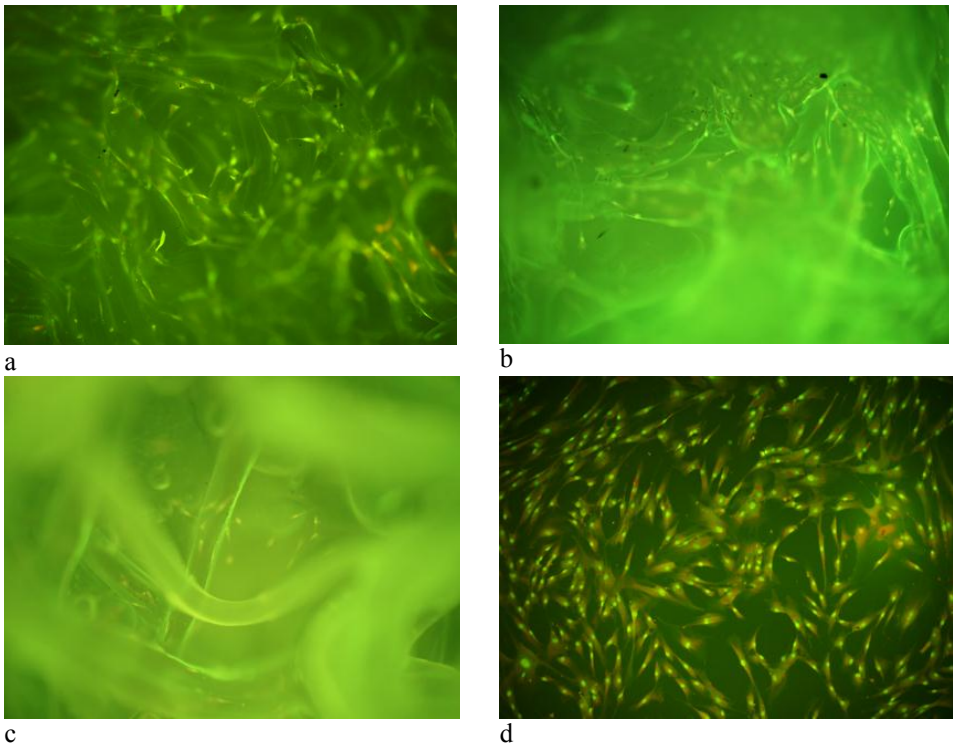


Rysunek. 7.70. Żywotność komórek NHOst oznaczona testem ViaLight w 3 i 7 dniu hodowli na powierzchni kontrolnej TCPS oraz w studzienkach z badanymi biomateriałami

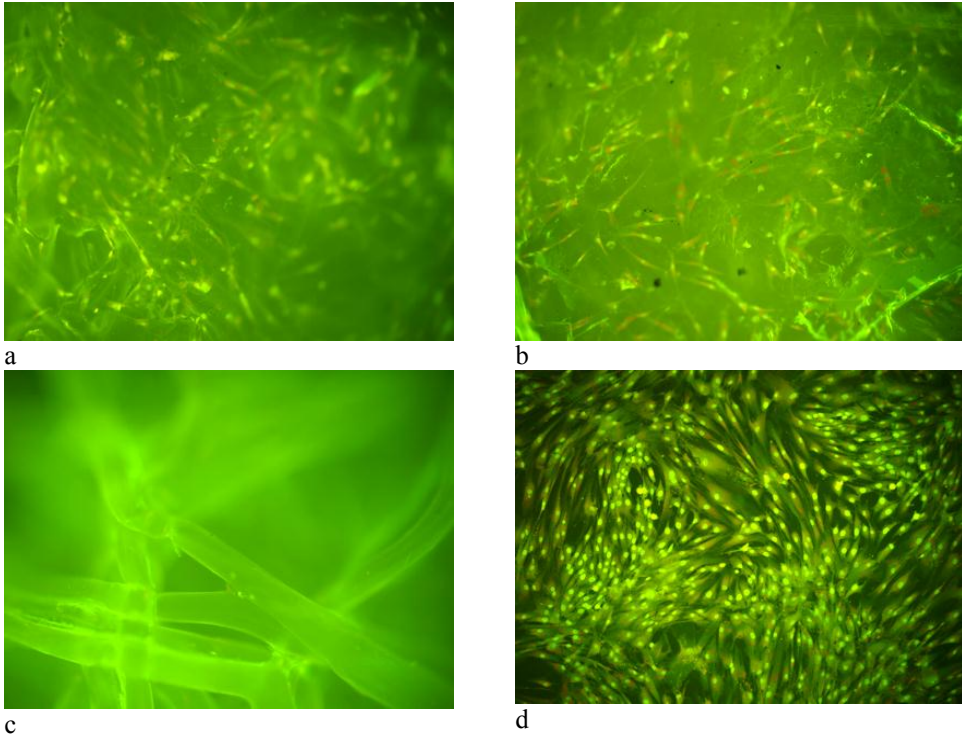




Rysunek 7.71. Cytotoksyczność oznaczona testem ToxiLight w 3 i 7 dniu hodowli NHOst na powierzchni kontrolnej TCPS oraz w studzienkach z badanymi biomateriałami

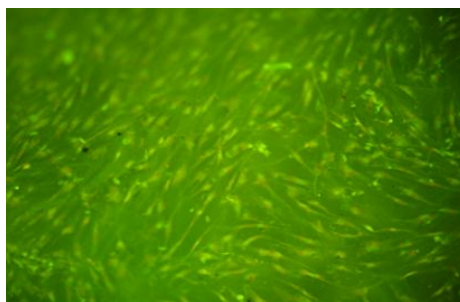


Rysunek 7.72. Obraz komórek rosnących na powierzchniach biomateriałów w 3 dniu hodowli: a) BAC, b) BAC+HAp (BH1), c) BAC+TCP (BT2), d) K (TCPS). Barwienie oranżem akrydyny, powiększenie obiektywu 10x



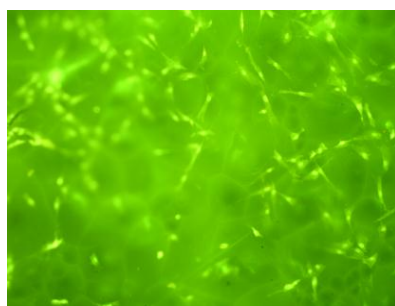
Rysunek 7.73. Obraz komórek rosnących na powierzchniach biomateriałów w 7 dniu hodowli: a) PCL/BAC (B7), b) PCL/BAC+HAp (BH1), c) PCL/BAC+TCP (BT2), d) K (TCPS). Barwienie oranżem akrydyny, powiększenie obiektywu 10x

Wszystkie stosowane kompozyty polimerowo-włókniste: PCL/BAC (B7)/PCL, PCL/BAC (B7), PCL/BAC+HAp (BH1), PCL/BAC+TCP (BT2) są biokompatybilne i umożliwiają wzrost komórek (wyraźny jest wzrost liczebności komórek w 7 dniu hodowli w stosunku do 3 dnia), choć w mniejszym stopniu niż kontrola pozytywna TCPS. Nie wszystkie materiały natomiast sprzyjają przyleganiu komórek. W 7 dniu hodowli obserwuje się zaledwie kilka pojedynczych komórek rosnących na materiale z dodatkiem TCP, dość wysoką wartość testu żywotności materiał ten zawdzięcza komórkom rosnącym pod nim, a przylegającym do powierzchni TCPS. Materiał BAC+HAp wykazuje natomiast zróżnicowanie przylegania i proliferacji komórek. Miejsca wzbogacone powierzchniowo w BAC z HAp zasiedlone są równomierną warstwą dobrze rozpostartych komórek (rys. 7.74).

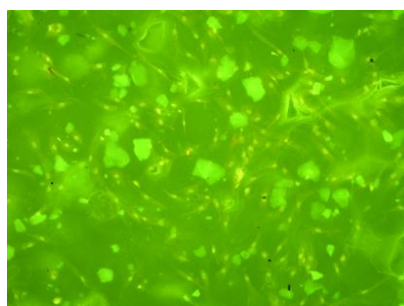


Rysunek 7.74. Obraz komórek rosnących na powierzchni BAC+HAp (BH1) w miejscu wzbogaconym włókna z BAC/HAp (BH1) w 7 dniu hodowli. Barwienie oranżem akrydyny, powiększenie obiektywu 10x

Jednocześnie w trakcie realizacji tego punktu opracowania przeprowadzono badania biologiczne w bioreaktorze. Dotychczas stosowane dwuwymiarowe hodowle zapewniały stały dostęp jednowarstwowej hodowli do medium. W takim wypadku dyfuzja np. składników odżywczych i ich metabolitów, tlenu i czynników wzrostowych jest wystarczająca dla przeżycia komórek. W przypadku podłoży trójwymiarowych warstwy znajdujące się poniżej 2 mm mają niewystarczający odstęp do medium. W konsekwencji zazwyczaj przeżywały komórki znajdujące się tylko na powierzchni materiału. W przypadku badanych materiałów w postaci 3D stwierdzono dobrą ich poręczność w trakcie przygotowania materiałów do eksperymentu w bioreaktorze (hodowla 24h komórek MG-63 w ilości 20000/cm²). Przepływ na poziomie 0.25 ml/min prowadzono przez 72 h utrzymując warunki hodowli (5% CO₂, 39°C). Po tym czasie materiał poddano obserwacjom mikroskopowym, stosując jako barwnik – oranż akrydyny (rys. 7.75).



a



b

Rysunek 7.75. Obraz komórek rosnących na powierzchni a) PCL/BAC+HAp (BH1) i b) PCL/BAC+TCP (BT2) po 72 h hodowli w warunkach dynamicznych. Barwienie oranżem akrydyny, powiększenie obiektywu 10x

Stwierdzono, że na materiale kompozytowym modyfikowanym włóknem BAC 95/5/HClO₄/3%TCP (BT2) następuje dość szybkie uwalnianie się jonów fosforanowych lub wręcz cząstek TCP widocznych w postaci ziaren na rysunku 7.73b, co może być korzystne ze względu na działanie osteokonduktywne i osteoinduktywne tworzonych materiałów. Natomiast bardziej równomierne rozmieszczenie komórek i brak ziaren na powierzchni obserwowanego tworzywa ma miejsce na materiale PCL/BAC+3%HAp (BH1).

Podsumowując ten etap pracy, stwierdzono, iż możliwe jest wytworzenie kompozytów typu MD oraz 3D, stosując techniki prasowania i liofilizacji. Włókna BAC 95/5/HClO₄ (B7) oraz włókna BAC 95/5/HClO₄ zawierające HAp bądź TCP w ilości 3% (próbki włókien o symbolu BH1 i BT1) zastosowane do wytwarzania kompozytów typu MD oraz 3D, gdzie jako matrycy użyto poli-ε-kaprolaktanu, charakteryzują się właściwościami biokompatybilności. Zastosowanie tego rodzaju kompozytów w hodowli komórek linii ciągłych typu MG-63 daje pozytywny efekt wzrostu komórek.

8. PODSUMOWANIE WYNIKÓW I WNIOSKI KOŃCOWE

Wykorzystanie chityny do syntezy nowej estrowej pochodnej kopoliestru butyrylo-acetylowego o założonym udziale odpowiednich reszt kwasowych, daje możliwość wykorzystania tego tworzywa, jako nowego materiału do zastosowań biologicznych. Tworzywo to odznacza się dobrą podatnością na deformację podczas procesu rozciągu w metodzie formowania włókien z roztworu na mokro. Wykorzystanie dodatkowo nanotechnologii w postaci nanododatków ceramicznych HAP oraz TCP doprowadziły do uzyskania nowej generacji biomateriałów polimerowo-włóknistych przeznaczonych do regeneracji ubytków tkanki kostnej. W oparciu o wyniki uzyskane w trakcie realizacji pracy oraz analizy poszczególnych etapów można wysnuć następujące wnioski końcowe.

- Ciała pszczoł miodnych mogą być perspektywnym źródłem chityny krajowego pochodzenia. Chityna pozyskiwana z tego źródła, posiada takie same właściwości fizykochemiczne jak komercyjne chityny pozyskiwane z klasycznych źródeł, natomiast istnieje możliwość wpływania na właściwości fizykochemiczne, takie jak lepkość istotna, stopień acetylacji poprzez odpowiednie ukierunkowanie parametrów procesowych.
- Synteza kopoliestrów butyrylo-acetylowych chityny może być realizowana przy użyciu dwóch katalizatorów: kwasu metanosulfonowego i kwasu nadchlorowego. Obie zastosowane metody syntezy kopoliestrów butyrylo-acetylowych chityny o różnym udziale grup maślanowych i octanowych, katalizowanej kwasem nadchlorowym (w warunkach heterogenicznych) lub kwasem metanosulfonowym (w warunkach homogenicznych) pozwalają na otrzymywanie produktu o wymaganym składzie chemicznym i wymaganej masie molowej, prezentowanej przez proporcjonalną jej wartość lepkości istotnej. Obie zastosowane metody mają swoje wady i zalety. Reakcja prowadzona w kwasie metanosulfonowym charakteryzuje się wyższą wydajnością gotowego produktu, jednak wymaga zużycia dużych ilości agresywnego kwasu metanosulfonowego. Usuwanie go wymaga wielokrotnego mycia produktów reakcji wodą i generuje znaczne ilości ścieków, wymagających ich oczyszczenia. Ponadto prowadzenie reakcji jest związane z trudnościami mieszania żelowej postaci mieszaniny reakcyjnej, stawiającej duży opór dynamiczny. W celu uniknięcia tych trudności należałoby użyć zwiększonej ilości kwasu metanosulfonowego lub prowadzić reakcję w kwasoodpornym reaktorze o specjalnej konstrukcji, np. typu gniotownik. Synteza w obecności kwasu nadchlorowego przebiega w lekko spęcznionej masie chityny, praktycznie w zwilżonym proszku. Mieszanie takiego układu jest łatwe i może być realizowane poprzez mieszanie mechaniczne lub poprzez wytrząsanie zawartości reaktora. Reakcja może być prowadzona w reaktorach wykonanych ze stali kwasoodpornej lub w pojemnikach polietylenowych dostosowanych do tych celów. Praca w takich reaktorach pozwala na łatwą kontrolę warunków reakcji i masy molowej produktów,

zasadniczo wpływającej na właściwości fizykochemiczne otrzymywanych kopoliestrów. Wadą tego sposobu prowadzenia reakcji estryfikacji chityny jest niższa wydajność procesu niż w przypadku syntezy w środowisku kwasu metanosulfonowego. Pewne niebezpieczeństwo może stwarzać operacja sporządzania mieszaniny acylującej, dlatego bardzo ważnym warunkiem bezpieczeństwa pracy jest utrzymywanie niskiej temperatury mieszaniny bezwodników podczas powolnego wkraplania do niej kwasu nadchlorowego. Obie ww. metody pozwalają na otrzymywanie gotowych produktów w postaci proszku z przeznaczeniem na długotrwałe ich przechowywanie lub w postaci stabilnych roztworów w etanolu, przeznaczonych do formowania włókien.

- Znaczące zwiększenie udziału grup octanowych w produkcie końcowym pogarsza jego rozpuszczalność w etanolu, rozpuszczalniku wybranym do sporządzenia roztworów przędzalniczych i dlatego rekomenduje się użycie bezwodnika octowego w mieszaninie acylującej w ilości nie większej niż 10% molowych od łącznej ilości bezwodników.
- Niezależnie od budowy chemicznej kopoliestru butyrylo-acetylowego chityny oraz lepkości istotnej polimeru roztwory przędzalnicze są cieczami nienewtonowskimi rozrzedzonymi ścinaniem bez granicy płynięcia. Zmniejszenie udziału grup acetylowych w kopolimerze powoduje, iż uzyskane roztwory przędzalnicze są bliższe cieczy newtonowskiej.
- Dla wytypowanych kopoliestrów chityny BAC 95/5/HClO₄ oraz BAC 90/10/HClO₄ o lepkości istotnej na poziomie 1,83-1,93 dL/g i zdefiniowanym składzie oraz określonej charakterystyce reologicznej płynu stężenie roztworu przędzalniczego powinno się zawierać w granicach 10,6-12,8%, co odpowiada lepkości dynamicznej pozornej na poziomie 22,7-26,5 Pas. Wartość lepkości dynamicznej pozornej na tym poziomie jest wartością dogodną dla roztworów przędzalniczych dla metody formowania włókien z roztworu na mokro.
- Pomimo różnic w wartościach rozciągu całkowitego oraz rozciągach w poszczególnych etapach procesu (związanych ze zmianą wyciągu filierowego w szerokim zakresie od ujemnych do dodatnich wartości), właściwości wytrzymałościowe włókien z BAC 95/5/HClO₄ kształtują się na dość zbliżonym poziomie. Najwyższe wartości wytrzymałości właściwej na poziomie 24,77 cN/tex wykazują włókna formowane przy umiarkowanie dodatniej wartości wyciągu filierowego +10%. Wynika to z pozytywnego wpływu deformacji jeszcze płynnej strugi podczas zestalania włókien.
- W całym zakresie zmian wyciągu filierowego uzyskane włókna z BAC 95/5/HClO₄ posiadają wysoką całkowitą objętością porów, co pozwala na zaliczenia ich do grupy włókien wysokoporowatych. Z charakterem wytworzonej struktury porowatej oraz wartością całkowitej objętości porów związane są wysokie, jak dla hydrofobowego tworzywa, właściwości sorpcyjne oraz bardzo wysokie wartości retencji wody. Dla włókien z BAC 95/5/HClO₄ uzyskano unikatowe połączenie wysokiej porowatości z dobrą wytrzymałością właściwą powyżej 24 cN/tex.

- Wprowadzenie do roztworów BAC 95/5/HClO₄ w alkoholu etylowym ceramicznych nanododatków HAp bądź TCP w ilości 1% i 3% nie zmienia charakteru reologicznego płynu, pozostają one cieczami nienewtonowskimi rozrzedzonymi ścinaniem bez granicy płynięcia. Zmianie ulegają tylko wartości parametrów reologicznych n i k . Bliższe cieczy nienewtonowskich są roztwory przędzalnicze o niższym stężeniu polimeru.
- Korzystne ze względu na uzyskiwanie wytrzymałości właściwej na poziomie 20,3 cN/tex, przy jednocześnie wysokich właściwościach sorpcyjnych i retencji wody jest prowadzenie procesu formowania włókien z BAC 95/5/HClO₄ o 1% zawartości nanododatku HAp bądź TCP przy nieznacznie ujemnych wartościach wyciągu filerowego odpowiednio -20% i -10%. Ze zwiększeniem udziału nanododatku HAp bądź TCP w tworzywie włókien do 3% związane jest obniżenie ich właściwości wytrzymałościowych odpowiednio do 18,37 cN/tex i 14 cN/tex. Wprowadzenie do tworzywa włókien z BAC 95/5/HClO₄ 3% nanododatku HAp bądź TCP nie powoduje istotnych zmian w strukturze krystalicznej w porównaniu do włókien bez nanododatków formowanych w analogicznych warunkach. Zarówno stopień krystaliczności, jak i rozmiary krystalitów utrzymują się na zbliżonym poziomie. Porowatość włókien z BAC 95/5/HClO₄ uzależniona jest głównie od warunków ich formowania. Nieco wyższą porowatością w zakresie do 1000 nm odznaczają się włókna zawierające TCP, przy zachowaniu tego samego charakteru struktury porowatej. Wysoka chropowatość powierzchni włókien BAC 95/5/HClO₄, wyższa w przypadku zawierających nanododatek HAp bądź TCP, związana jest nie tylko z metodą formowania włókien, ale także z obecnością na niej nanododatków. Zarówno strukturę porowatą, jak i charakter powierzchni włókien z BAC 95/5/HClO₄ zawierających nanododatek HAp bądź TCP można uznać za korzystne ze względu na przeznaczenie włókien, jako składnika kompozytów polimerowo włóknistych.
- Stosując tworzywo BAC 95/5/HClO₄ jako matrycę włókien nanokompozytowych, można spodziewać się dobrej dyspersji nanododatków ceramicznych. Z podanych kompozycji możliwa jest do otrzymania zarówno folia nanokompozytowa, jak i włókno. Obecność nanododatku niewątpliwie wpływa na parametry mechaniczne, jak i fizykochemiczne tworzywa (zarówno w formie płaskiej folii 2D jak i w formie włóknistej), zmianę zwilżalności, zmianę nasiąkliwości, obniżenie parametrów mechanicznych.
- Włókna z BAC 95/5/HClO₄ wykazują silniejsze predyspozycje do krystalizacji apatyty od referencyjnych włókien z DBC, silne skłonności sorpcyjne włókien stwarzają możliwość do lokalnych przesyceń sprzyjających nukleacji apatyty. Ze względu na charakter włókna nie jest możliwe zaobserwowane charakterystycznych wykwitów, jednakże wykonana analiza EDS potwierdza obecność pierwiastków typowych dla apatyty. Dodatkowo analiza zmian stężenia wykonana metoda ICP potwierdza także ubytek jonów wapniowych i fosforanowych w medium imersyjnym, zjawiska takiego nie zaobserwowano

w przypadku włókien referencyjnych (DBC). Włókna z BAC 95/5/HClO₄ ulegają również szybszej degradacji w warunkach *in vitro*; zmiana średnicy włókien, obecność włókien submikronowych. Obydwa badane materiały stanowią jednak mogą trójwymiarowe podłoża ze względu na łatwość formowania i nadawania kształtów po wcześniejszej immersji w podanym roztworze PBS lub SBF.

- Włókna z BAC 95/5/HClO₄ oraz włókna z BAC 95/5/HClO₄ zawierające nanododatki są dobrym materiałem do wytworzenia kompozytów typu 2D, 3D oraz MD z użyciem PCL jako matrycy.
- Wszystkie materiały kompozytowe typu MD – PCL/BAC 95/5/HClO₄/PCL, oraz kompozyty typu 3D – PCL/BAC 95/5/HClO₄, PCL/BAC 95/5/HClO₄+HAp, PCL/BAC95/5/HClO₄+TCP są biokompatybilne i umożliwiają wzrost komórek (wyraźny jest wzrost liczebności komórek w 7 dniu hodowli w stosunku do 3 dnia), choć w mniejszym stopniu niż kontrola pozytywna TCPS. Nie wszystkie materiały natomiast sprzyjają przyleganiu komórek. W 7 dniu hodowli obserwuje się zaledwie kilka pojedynczych komórek rosnących na materiale z dodatkiem TCP, dość wysoką wartość testu żywotności materiał ten zawdzięcza komórkom rosnącym pod nim, a przylegającym do powierzchni TCPS. Materiał BAC+HAp wykazuje natomiast zróżnicowanie przylegania i proliferacji komórek. Miejsca wzbogacone powierzchniowo w BAC95/5/HClO₄ z 3% HAp zasiedlone są równomierną warstwą dobrze rozpostartych komórek.
- W przypadku wytworzonych materiałów w postaci kompozytów 3D, stwierdzono ich dobrą poręczność w trakcie przygotowania materiałów do eksperymentu w bioreaktorze. Potwierdzono, że na materiale modyfikowanym włóknem BAC95/5/HClO₄/3%TCP następuje dość szybkie uwalnianie się jonów fosforanowych lub wręcz cząstek TCP widocznych w postaci ziaren. Natomiast lepsze rozmieszczenie komórek i brak ziaren na powierzchni obserwowanego tworzywa ma miejsce na materiale: PCL/BAC95/5/HClO₄+3%HAp.

LITERATURA

1. Muzzarelli R.A.A., *Chitin*, Oxford: Pergamon. Press, 1977.
2. Muzzarelli R.A.A., Jenieux R. and Gooday GW., *Chitin in Nature and Technology*, New York: Plenum Press, 1986.
3. Chirano S., Tokura S., *Chitin and Chitosan*, Japan Society of Chitin and Chitosan, 1982.
4. Roberts G.A.F., *Chitin Chemistry*, McMillan Press, Ltd., London, 1992.
5. Braconnot H., *Recherches analytique sur la nature des champignons*, Ann Chim **79**, 265, 1811.
6. Odier A., *Memoire sur la composition chimique des parties cornees des insects*, Mem Soc Hist Nat Paris **1**, 29, 1823.
7. Kurita K., *Chitin and chitosan: Functional biopolymers from marine crustaceans*, Marine Biotechnology **8**, 203, 2006.
8. Subasinghe S., *Chitin and Chitosan, The versatile environmentally friendly modern materials*, M.B. Zakaria, W.M.W. Muda, M.P. Abdullach, eds., Ampang Press, K.L., Malaysia, 27, 1995.
9. Hackman R.H., *Studies on chitin. I. Enzymatic degradation of chitin and chitin esters*, Australian Journal of Biological Sciences, **7**, 168, 1954.
10. Blumberg R., Southall C.L., Van Rensburg N.J. and Volckman O.B., *South African fish products. XXXII-The rock lobster: a study of chitin production from processing wastes*, Journal of the Science of Food and Agriculture, **2**, 571, 1951.
11. No H.K., Meyers S.P. and Lee K.S., *Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, **37**, 575, 1989.
12. Kamasastri P.V. and Prabhu P.V., *Preparation of chitin and glucosamine from prawn shell waste*, Journal of Scientific and Industrial Research, **20D**, 466, 1961.
13. Mima S., Miya M., Iwamoto R. and Yoshikawa S., *Highly deacetylated chitosan and its properties*, Journal of Applied Polymer Science, **28**, 1909, 1983.
14. Anderson C.G., de Pablo N. and Romo C.R., *Antarctic krill (Euphausia superba) as a source of chitin and chitosan*, R.A.A. Muzzarelli, E.R. Pariser, Editors, Proceeding of the first international conference on chitin/chitosan, MIT Sea Grant Program, Cambridge 54, 1978.
15. Brine C.J. and Austin P.R., *Chitin variability with species and method of preparation*, Comparative Biochemistry and Physiology, **69B**, 283, 1981.
16. Moorjani M.N., Achutha V. and Khasim D.I., *Parameters affecting the viscosity of chitosan from prawn waste*, Journal of Food Science and Technology, **12**, 187, 1975.
17. Brzeski M.M., *Concept of chitin/chitosan isolation from Antarctic krill (Euphausia superba) shells on a technical scale*, S. Hirano, S. Tokura, Editors, Proceedings of the second international conference on chitin and chitosan, The Japan Society of Chitin and Chitosan, Sapporo, Japan, 15, 1982.
18. No H.K. and Lee M.Y., *Isolation of chitin from crab shell waste*, Journal of the Korean Society of Food and Nutrition, **24**, 105, 1995.
19. Nitschke J., Altenbach H.-J., Małolepszy T., Mölleken H., *A new method for the quantification of chitin and chitosan in edible mushrooms*, Carbohydrate Research, **346** (11), 1307, 2011.
20. Draczynski Z., *Honeybee corpses as an available source of chitin*, Journal of Applied Polymer Science **109** (3), 1974, 2008.

21. Nemstew S.V., Zueva O.Yu., Kihsmatullin M.R., Albulov A.I., Varlamov V.P., *Isolation of chitin and chitosan from honeybees*, Applied Biochemistry and Microbiology **40**, No. 1, 39, 2004.
22. Zhang M., Haga A., Sekiguchi H., Hirano S., *Structure of insect chitin isolated from beetle larva cuticle and silkworm (Bombyx mori) pupa exuvia*, International Journal of Biological Macromolecules **27**, 99, 2000.
23. Majtan J., Bilikora K., Markowicz O., Grof J., Kogan G., Simuth J., *Isolation and characterization of chitin from bumblebee (Bombus terrestris)*, International Journal of Biological Macromolecules **40**, 237, 2007.
24. Sajomsang W., Gonil P., *Preparation and characterization of α -chitin from cicada sloughs*, Materials Science and Engineering, **30C** (3), 357, 2010.
25. Mathur N.K. and Narang C.K., *Preparation and characterization of α -chitin from cicada sloughs*, J. Chem. Educ., **67**, 938, 1990.
26. Rudall K.M., Kenchington W., *The chitin system*, Biological Reviews **40**, 597, 1973.
27. Minke R., Blackwell J., *The structure of α -chitin*, Journal of Molecular Biology **120** (2), 167, 1978.
28. Paralikar K.M., Balasubramanya R.H., *Electron diffraction study of alpha – chitin*, J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed. **22**, 543, 1984.
29. Rinaudo M., *Chitin and chitosan: Properties and applications*, Prog. Polym. Sci. **31**, 603, 2006.
30. Rudall K.M., *Chitin and its association with other molecules*, J. Polym. Sci., C Polym. Symp., **28**, 83, 1969.
31. Gaill F., Persson J., Sugiyama P., Vuong R., Chanzy H., *The chitin system in the tubes of deep sea hydrothermal vent worms*, J. Struc. Biol. **109**, 116, 1992.
32. Kurita K., *Controlled functionalization of the polysaccharide chitin*, Prog Polym Sci, **26**, 1921, 2001.
33. Atkins E., *Conformations in polysaccharides and complex carbohydrates*, J. Biosci., **8**, 375, 1985.
34. Pillai C.K.S., Paul W., Sharma C.P., *Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation*, Prog. Polym. Sci., **34**, 641, 2009.
35. Minke R., Blackwell J., *The structure of alpha-chitin*, J. Mol. Biol. **120**, 167, 1978.
36. Struszczyk H., *Microcrystalline chitosan. I. Preparation and properties of microcrystalline chitosan*, J. of App. Polymer Sci., **33**, 177, 1987.
37. Terbojevich M., Carraro C., Cosani A. and Marsano E., *Solution Studies of the Chitin Lithium Chloride-N,N-Dimethylacetamide System*, Carbohydrate Research **180(1)**, 73, 1988.
38. Flory P., *Principles of Polymer Chemistry*, Cornell University Press. 1953.
39. Roberts G.A.F., *The Road is long...*, Adv. Chitin Sci., **10**, 3, 2007.
40. Kasai M.R., *Various Methods for Determination of the Degree of N-Acetylation of Chitin and Chitosan: A Review*, J. Agric. Food Chem. **57**, 1667, 2009.
41. Sabnis S., Block L.H., *Improved infrared spectroscopic method for the analysis of degree of Ndeacetylation*, Polym. Bull., **39**, 67, 1997.
42. Muzzarelli R.A.A., Tanfani F., Scarpini G., Laterza G., *The degree of acetylation of chitins by gas chromatography and infrared spectroscopy*, J. Biochem. Bioph. Methods **2**, 299, 1980.
43. Domszy J.G.; Roberts G.A.F., *Evaluation of infrared spectroscopic techniques for analyzing chitosan*, Die Makromolekulare Chemie, **186**, 1671, 1985.

44. Baxter A., Dillon M., Taylor K.D., Roberts G.A.F., *Improved method for IR determination of the degree of N-acetylation of chitosan*, Inter. J. Biolog. Macromol., **14**, 166, 1992.
45. Shigemasa Y., Matsuura H., Sashiwa H., Saimato H., *An improved IR spectroscopic determination of degree of deacetylation of chitin*, In *Advances in Chitin Science*; Domard A., Jeuniaux C., Muzzarelli R.A.A., Roberts G.A.F., Eds.; André Publisher: Lyon, France, Vol. 1, 204, 1996.
46. Shigemasa Y., Matsuura H., Sashiwa H., Saimato H., *Evaluation of different absorbance ratios from infrared spectroscopy for analyzing the degree of deacetylation in chitin*, Int. J. Biol. Macromol., **18**, 237, 1996.
47. Brugnerotto J., Lizardi J., Goyoolea F.M., Argülles-Monal W., Desbrières J., Rinaudo M., *An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization*, Polymer, **42**, 3569, 2001.
48. Duarte M.L., Ferreira M.C., Marvão M.R., Rocha J., *An optimized method to determine the degree of acetylation of chitin and chitosan by FTIR spectroscopy*, Int. J. Biol. Macromol., **31**, 1, 2002.
49. Moore G.K., Roberts G.A.F., *Determination of the degree of N-acetylation of chitosan*, Int. J. Biol. Macromol., **2**, 115, 1980.
50. Austin P.R., Brine C.J., *Chitin films and fibers*, US Patent 4029727, 1977.
51. Capozza R.C., *Spinning and shaping poly-(N-acetyl-D-glucosamine)*, US Patent 3988411, 1976.
52. Kobayashi Y., Nishi N., Nishiyama M., Tokura S., *Paper-making process with regenerated chitin fibers*, US Patent 4392916.
53. Cosgrove J., *The Global Chitosan Market*, Nutraceuticals World Magazine 2010.
54. Struszczyk H., Kivekäs O., *Microcrystalline Chitosan – Some Areas of Application*, Brit. Polym. J. **23**, 261, 1990.
55. Praca zbiorowa pod redakcją Z. Florjańczyka i S. Penczka – *Chemia polimerów tom III*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa 1998.
56. Bourne E.J., Stacey M., Tatlow J.C., Tedder J.M., *Studies on trifluoroacetic acid. Part I. Trifluoroacetic anhydride as a promoter of ester formation between hydroxy-compounds and carboxylic acids*, Journal of the Chemical Society p. 2976, 1949.
57. Yang B.Y., Ding Q., Montgomery R., *Preparation and physical properties of chitin fatty acids esters*, Carbohydrate Research **344** (3), 336, 2009.
58. Bhatt L.R., Kim B.M., Hyun K., Kang K.H., Lu C., Chai K.Y., *Preparation of chitin butyrate by using phosphoryl mixed anhydride system*, Carbohydrate Research **346** (5), 691, 2011.
59. Bhatt L.R., Kim B.M., An C.Y., Lu C.C., Chung Y.S., Soung M.G., Park S.H., Chai K.Y., *Synthesis of chitin cycloalkyl ester derivatives and their physical properties*, Carbohydrate Research **345** (14), 2102, 2010.
60. Bhatt L.R., Kim B.M., Hyun K., Kwak G.B., Lee C.H., Chai K.Y., *Preparation and characterization of chitin benzoic acid esters*, Molecules **16** (4), 3029, 2011.
61. Muzarelli R.A.A. and Giacomelli G., *The blood anticoagulant activity of N-carboxymethyl chitosan trisulfate*, Carbohydrate. Polym. **7**, 87, 1987.
62. Suzuki K., Oda D., Shinobu T., Saimoto H., Shigemasa Y., *New selectively N-substituted quaternary ammonium chitosan derivatives*, Polymer Journal **32** (4), 334, 2000.

63. Szosland L., *Di-O-butyrylchitin*, Chitin Handbook; Muzzarelli R.A.A, Peter M.G., eds.; CHITIN HANDBOOK; Atec, Grottammare, 1997; p. 53.
64. Szosland L., East G.C., *The dry spinning of dibutyrylchitin fibers*, Journal of Applied Polymer Science, **58**, 2459, 1995.
65. Van Luyen D., Rossbach V., *Mixed esters of chitin*, Journal Applied Polymer Science **55**, 679, 1995.
66. Szosland L., *Soluble Chitin Mixed Esters: Synthesis And Characteristic*, Progress in the Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives, t. V, p. 27, 1999.
67. Szosland L., *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives*, t. V, 1999.
68. Szosland L., Stęplewski W.; in: Advances in Chitin Science; Domard A., Roberts G.A.F, Varum K.M., eds.; Jacques Andre Lyon France, vol 2 p. 531, 1998.
69. Szosland L., Stęplewski W., *Sposób wytwarzania włókien z estrów chityny*, patent PL 187224.
70. Biniś D., Boryniec S., Włochowicz A., Biniś W., *Alkaline Treatment of Dibutyrylchitin Fibres. Fluorescent Microscopy Studies*, Polish Chitin Society, Monograph XI, p. 21, 2006.
71. Cisko R., Bilka J., Szosland L., *Wytwarzanie Włóknin z Włókien Chitynowych I Dibutyrylochitynowych*, materiały konferencji 3rd International Scientific Textile Conference MEDTEX'99 10-11.05.1999.
72. Chilarski A., Szosland L., Krucińska I., Błasińska A., Cisko R., *Zastosowanie pochodnych chityny w postaci opatrunku biologicznego w leczeniu termicznych i mechanicznych obrażeń powłok*, Rocznik Dziecięcej Chirurgii Urazowej, 8, XXXII, 59-62, 2004.
73. Krucińska I., Szosland L., Cisko R., Błasińska A., Komisarczyk A., Chilarski A., Bilka J., Pilas B., *Materiał opatrunkowy, opatrunek, zastosowanie dibutyrylochityny i chityny regenerowanej z dibutyrylochityny do wytwarzania opatrunku oraz sposób wytwarzania materiału opatrunkowego i opatrunku*, PL 367163.
74. Krucińska I., Komisarczyk A., Chrzanowski M., Paluch D., *Producing Wound Dressing Materials from Chitin Derivatives by Forming Nonwovens Directly from Polymer Solution*, Fibres & Textiles in Eastern Europe **15**, No. 5-6, 64, 2007.
75. Krucińska I., Komisarczyk A., Chrzanowski M., Gliscinska E., Wrzosek H., *Electrostatic field in electrospinning with a multicapillary head – Modelling and experiment*, Fibres & Textiles in Eastern Europe **74** (3), 38, 2009.
76. Kornobis E., Krucińska I., Włodarczyk B., Szosland L., Ledwoń J., Komisarczyk A., *Dziane Biomateriały Chirurgiczne z Udziałem Nitek Dibutyrylochitynowych*, VII Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna Knitt Tech. 2006.
77. Özdemir D., Schoukens G., Göktepe Ö. and Göktepe F., *Preparation of di-butyrylchitin scaffolds by using salt leaching method for tissue engineering and their characteristics*, J. Appl. Polym. Sci., **109**, 2882, 2008.
78. Mori T., Irie Y., Nishimura S.I., Tokura S., Matsuura M., Okumura M., Kodosawa T., Fujinaga T., *Endothelial cell response to chitin and its derivatives*, J. Biomed. Mater. Res. (appl Biomater), **43**, 469, 1998.
79. Singh R., Chacharkar M.P., Mathur A.K., *Chitin membrane for wound dressing application- preparation, characterisation and toxicological evaluation*, Int. Wound J. **5**, 665, 2008.

80. Sugamori T., Iwase H., Maeda M., Inoue Y., Kurosawa H., *Local hemostatic effects of microcrystalline partially deacetylated chitin hydrochloride*, J. Biomed. Res. **49**, 225, 2000.
81. Xu H., Ma L., Shi H., Gao Ch., Han Ch., *Chitosan-hyaluronic acid hybrid film as a novel wound dressing: in vitro and in vivo studies*, Polym. Adv. Technol. **18**, 869, 2007.
82. Wang L., Khor E., Wee A., Lim L.Y., *Chitosan-alginate PEC membrane as a wound dressing: assessment of incisional wound healing*, J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater) **63**, 610, 2002.
83. Tianhong D., Masamitsu T., Ying-Ying H., and Michael R.H., *Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects*, Expert Review of Anti-infective Therapy, **9** (7), 857, 2011.
84. Azad A.K., Sermsinyham N., Chandkrachang S., Stevens W.F., *Chitosan membrane as a wound-healing dressing: characterization and clinical application*, J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater **69B**, 216, 2004.
85. Hung W.S., Fang Ch.L., Lai W.F.T., Chang Y.Ch., Tsai Y.H., *Cytotoxicity and immunogenicity of SACCHACHITIN and its mechanism of action on skin wound healing*, J. Biomed. Mater. Res. **56**, 93, 2001.
86. Paluch D., Szosland L., Kołodziej J., Staniszevska-Kuś J., Szymonowicz M., Solski L., Żywicka B., *A Biological Investigation of Dibutyrylchitin*, Izynieria Biomateriałów, 7 (8), 52. 1999.
87. Pelka S., Paluch D., Staniszevska-Kuś J., Żywicka B., Solski L., Szosland L., Czarny A., Zaczyńska E., *Wound Healing Acceleration by a Textile Dressing Containing Dibutyrylchitin and Chitin*, Fibres & Textiles in Eastern Europe, **12** (41), 79, 2003.
88. Szosland L., Pelka S., Paluch D., Staniszevska-Kuś J., Żywicka B., Solski L., Czarny A., Zaczyńska E., *Biological Properties of Dibutyrylchitin and Regenerated Chitin*, Agro Food Industry hi-tech, Special Highlight: Chitin and Chitosan, Anno 14, 2003, 9/10, 44-45.
89. Szymonowicz M., Paluch D., Solski L., Pelka S., Błasińska A., Krucińska I., Szosland L., *Evaluation of the Influence of Dibutyrylchitin Material for Activation of Blood Coagulation System*, Inżynieria Biomateriałów, **38-42**, 123, 2004.
90. Wawro D., Stęplewski Wł., Ciechański D., Krucińska I., Wesółowska E., *The effect of solvent type on the mechanical properties of dibutyrylochitin (DBC) fibres*, Fibres&Textiles in Eastern Europe, **15** (3), p. 14, 2007.
91. Włochowicz A., Szosland L., Biniś D., Szumilewicz J., *Crystalline structure and mechanical properties of wet-spun dibutyrylchitin fibers and products of their alkalinetreatment*, Journal of applied polymer science, Vol. 94, p. 1861-1868, 2004.
92. Szosland L., *Synthesis of highly substituted butyryl chitin in the presence of perchloric acid*, J. BioactCompatPolym. **11**, 61, 1996.
93. Krucińska I., Komisarczyk A., Chrzanowski M., Paluch D., *Producing Wound Dressing Materials from Chitin Derivatives by Forming Nonwovens Directly from Polymer Solution*, Fibres & Textiles in Eastern Europe **15**, No. 5-6, 64, 2007.
94. Krucińska I., Komisarczyk A., Chrzanowski M., Gliścinska E., Wrzosek H., *Electrostatic field in electrospinning with a multicapillary head – Modelling and experiment*, Fibres & Textiles in Eastern Europe **74** (3), 38, 2009.

95. Kornobis E., Krucińska I., Włodarczyk B., Szosland L., Ledwoń J., Komisarczyk A., *Dziane Biomateriały Chirurgiczne z Udziałem Nitek Dibutyrylochitynowych*, VII Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna Knitt Tech 2006.
96. Szosland L. in: *Advances in Chitin Science*; Domard A., Jeuniaux C., Muzzarelli R.A.A., Roberts G., eds.; Jacques Andre, Lyon, France, Vol. 1, p. 297, 1996.
97. Szosland L., *Alkaline Hydrolysis of Dibutyrylchitin: Kinetic and Selected Properties of Hydrolysis Products*, Fibers & Textiles in Eastern Europe 4, 76, 1996.
98. Szosland L., Szocik H., *Products of alkaline hydrolysis of dibutyrylchitin: chemical composition and DSC investigation*, in: *Advances in Chitin Science*; Peter M.G., Domard A., Muzzarelli R.A.A., eds.; Universitat Potsdam; Potsdam Germany, Vol. 8, p. 375, 2000.
99. Szosland L., Krucińska I., Cisło R., Paluch D., Staniszevska-Kuś J., Solski L., Szymonowicz M., *Synthesis of Dibutyrylchitin and Preparation of New Textiles Made from Dibutyrylchitin and Chitin for Medical Applications*, Fibers & Textiles in Eastern Europe 9, 54, 2001.
100. Paluch D., Pielka S., Szosland L., Kołodziej J., Staniszevska-Kuś J., Szymonowicz M., Solski L., *Biological investigation of the regenerated chitin fibres*, Eng. Biomater; **3**, 17, 2000.
101. Paluch D., Szosland L., Staniszevska-Kuś J., Solski L., Szymonowicz M., Gebarowska M., *Biological investigation of the regenerated chitin fibres*, Polym Med. **30**, 3, 2000.
102. Chilarski A., Szosland L., Krucińska I., Kickens P., Błaśnińska A., Schoukens G., Cisło R., Szumilewicz J., *Novel Dressing Materials Accelerating Wound Healing Made from Dibutyrylchitin*, Fibres & Textiles in Eastern Europe **15**, 4(63), 77, 2007.
103. Krucińska I., Komisarczyk A., Paluch D., Szymonowicz M., Zywicka B., Pielka S., *The impact of the dibutyrylchitin molar mass on the bioactive properties of dressings used to treat soft tissue wounds*, Journal of Biomedical Materials Research – Part B Applied Biomaterials 100 B (1), pp. 11, 2012.
104. Komisarczyk A., *Włókniny opatrunkowe wytwarzane metodą rozpuszczalnikową spod filiiery*, praca doktorska.
105. Błażewicz S., Stoch L., *Biocybernetyka i inżynieria biomedyczna 2000*, Tom 4 Biomateriały; 1. Wydawnictwo EXIT; 2000.
106. Marciniak J., *Biomateriały*, Wyd. Politechniki Śląskiej, Gliwice 2002.
107. Williams D.F., *Definitions in biomaterials. Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials*, Chester, England, March 3-5, 1986, Vol. 4, Elsevier, Amsterdam, 1987.
108. Schoen F.J., *Tissue engineering – Introduction*; Ratner B., Hoffman A., Schoen F.J., Lemons J.E. (Editors); *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*; Elsevier, Amsterdam, p. 709-712, 2004.
109. Anderson J.M., *The future of biomedical materials*, Journal of Materials Science: Materials in Medicine, Vol. 17, No. 11, p. 1025-1028, 2006.
110. Williams D.F., *To engineer is to create: the link between engineering and regeneration*, Trends in Biotechnology, Vol. 24, issue 1, p. 4-8, 2006.
111. Williams D.F., *Biomaterials and tissue engineering in reconstructive surgery*, Sadhana, Vol. 28, No. 3-4, p. 563-574, 2003.
112. Ramakrishna S., Mayer J., Winermantel E., Leong K.W., *Biomedical applications of polymer-composite based materials: a review*, Composites Science and Technology, 61, 103-109, 1999.

113. Chłopek J., Błażewicz S., Pamuła E., Błażewicz M., Wajler C., Staszaków E., *Carbon and polymer composites in bone surgery*, Materials for Medical Engineering; Euromat 2, 103-109, 1999.
114. Rasmusson L., Meredith N., Kahnberg K.E., Sennerby L., *Stability assessments and histology of titanium implants placed simultaneously with autogenous onlay bone in the rabbit tibia*, International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Vol. 27, No. 3, p. 229-235.
115. Pamuła E., *Biomateriały dla inżynierii tkankowej. Badania nad kształtowaniem struktury i właściwości biologicznych poliestrów alifatycznych*, Prace monograficzne, Inżynieria Biomateriałów, Vol. 1, Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów, Kraków 2008.
116. Majola A., Vainionpää S., Rokkanen P., Mikkola H.-M., Tomala P., *Absorbable serlreinforced polylactide (SR-PLA) composite rods for fracture fixation: strength and strength retention in the bone and subcutaneous tissue of rabbit*, Journal of Materials Science: Materials in Medicine, Vol. 3, No. 1, p. 43-47, 2000.
117. More N., Baquey C., Barthe X., Rouais F., Rivel J., Trinquescoste M., Marchand A., *Biocompatibility of carbon-carbon materials: "in vivo" study of their erosion using 14 carbon labeled samples*, Biomaterials, Vol. 8, p. 328-334, 1988.
118. Adams D., Williams D.F., Hill J., *Carbon fiber-reinforced carbon as a potential implant material*, Journal of Biomedical Materials Research, Vol. 12, No. 1, p. 35-42, 1978.
119. Boguń M., *Nanokompozytowe włókna alginianowe i kompozyty z ich udziałem do zastosowań w inżynierii biomateriałowej*, Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej nr 1062, Rozprawy Naukowe, z. 389, Łódź, 2010.
120. Mikołajczyk T., *Modyfikacja sposobu wytwarzania włókien poliakrylonitrylowych*, Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej nr 781, Łódź, 1997.
121. Boguń M., *Nowej generacji prekursorowe włókna PAN z nanododatkami ceramicznymi*, Praca doktorska, Politechnika Łódzka, Łódź 2007.
122. Szparaga G., *Włókna prekursorowe z nanokompozytu PAN do zastosowań medycznych i technicznych*, Praca doktorska, Politechnika Łódzka, Łódź 2011.
123. Projekt rozwojowy nr R0804303 *Wytwarzanie włókien alginianowych z aktywnymi nanododatkami i otrzymywanie z ich udziałem porowatych biokompozytów polimerowych*, kierownik projektu: Mikołajczyk T., Łódź 2010.
124. Blasinska, A., Drobnik, J., *Effects of nonwoven mats of di-o-butyrylchitin and related polymers on the process of wound healing*, Biomacromolecules 9 (3), 776, 2008.
125. Stawski D., Rabiej S., Herczyńska L., Draczyński Z., *Thermogravimetric analysis of chitins of different origin*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 93 (2), 489, 2008.
126. Draczyński Z., *Synthesis and solubility properties of chitin acetate/butyrate copolymers*, J. Appl. Polym. Sci., 122, 175, 2011.
127. Draczyński Z., Boguń M., Mikołajczyk T., Szparaga G. and Król P., *The influence of forming conditions on the properties of the fibers made of chitin butyryl-acetic copolyester for medical applications*, J. Appl. Polym. Sci., 127, 3569, 2013.

ABSTRACT

The paper presents a new perspective source of chitin – bodies of naturally dead honeybees. A method for obtaining and purification of chitin suitable for further work physicochemical parameters was developed. It has been shown that chitin obtained from this source has the structure and physicochemical properties compliant with commercial chitin extracted from the food industry. It has been shown possible to carry out the synthesis of a new polymer – ester derivative of chitin containing the two different pendant groups derived from butyric acid (butyryl groups) and acetic acid (acetyl groups). This derivative of chitin, which has good solubility in common organic solvents, is formed by esterification of chitin by a mixture of butyric acid anhydride and acetic acid anhydride. In the course of the work optimal synthesis conditions of the copolyester butyrylacetyl chitin (BAC) with established physical and chemical parameters was developed.

For the synthesis of chitin copolyester two methods of preparation were used: synthesis in homogeneous conditions in an environment of methanesulfonic acid, which is the reaction catalyst and solvent of the reactants and reaction products at the same time, and the synthesis under heterogeneous conditions in the presence of the perchloric acid as the esterification catalyst. A series synthesis of a chitin copolyester, which involving differed molar of acetyl and butyryl moieties, and the intrinsic viscosity values which is proportional to the molar mass. Developed conditions of carrying out the synthesis allows to obtain final products with the appropriate, expected chemical composition in powder form intended for long-term storage thereof or in the form of stable solutions in ethanol, for the formation from them fibers. Optimal conditions of copolyester fiber made from the butyrylacetyl chitin solution using wet method as well as fibers from the polymer-containing ceramic additives: hydroxyapatite (HAp), or calcium triphosphate (TCP) in the form of nanoparticles was developed. Differing in chemical structure of TCP and HAp nanoadditives were introduced into the spinning solution in the form of a suspension in a solvent previously subjected to the process of sonication. Obtained fiber BAC containing 95% of butyryl and 5% of the acetyl groups additionally contain the nanoparticles of HAp or TCP under the optimal conditions of a fiber spinning process, were characterized by tenacity of 16-24 cN/tex at the degree of crystallinity of 24-25%. This is an appropriate strength range to a produce the composite polymer-fiber type MD. On the basis of both the fibers of a copolyester BAC containing nanoadditives the polymer-fiber composites were prepared using the poly (ϵ -caprolactone) as a template (PCL) of composite. These composites were tested for their use as a new implant material. Prepared composites have a porous structure. Porosity of 2D structure is produced as a result of resorption of BAC fiber component after application of the implant. A two-level porous structure (3D) of the composite has been obtained by the solvent of the PCL matrix sublimation at the stage of its manufacture, and then as a result of gradual resorption of the fiber component

from implantation material. BAC resorption is accompanied by the release of nanoadditives HAp or TCP, which migrate to the bone surrounding the implant, causing its reconstruction. The presence of chitin copolyester in the composites beneficial for increasing the wettability, change the profile of the surface, increases the stability and bioactivity of the material in an environment *in vitro* especially when the fiber are the fibers of the BAC containing nano HAp. It was found that microstructure of a fibrous composites 3D has a favorable environment for cell adhesion and the subsequent neovascularization of tissue.

These composites exhibit the biocompatibility, characterized by positive response to the cell, and by the presence of fibrous phase increases the number and activity of bone cells. Depending on the presence of the fiber phase in the composite introduced in the form of short fibers BAC, it is possible to obtain a controlled its biodegradability. Thus selected on the basis of the mechanical properties appropriate participation phase in the composite fiber type 2D should be 2%. For 3D composites favorable higher proportion of fibrous phase of 20% appears.

CHARAKTERYSTYKA ZAWODOWA AUTORA

Dr inż. Zbigniew Draczyński ukończył w 1996 r. studia na Wydziale Włókienniczym Politechniki Łódzkiej, uzyskując dyplom mgr inż. ze specjalizacją Chemiczna Obróbka Włókna. Tematyka jego pracy dyplomowej realizowanej w Katedrze Chemii Fizycznej Polimerów dotyczyła badań kompleksów polimerowych.

Od 1996 roku dr inż. Zbigniew Draczyński był doktorantem Studium Doktoranckiego uruchomionego na Wydziale. Pracę doktorską zatytułowaną „Chemiczna modyfikacja multimonomerów winylowych”, wykonaną pod kierunkiem dr hab. Romana Jantasa obronił w 2001 roku.

Jego zainteresowania naukowe dotyczą głównie syntezy oraz modyfikacji chemicznej polimerów, szczególnie polimerów ze źródeł odnawialnych mających zastosowanie w materiałach kompozytowych.

Autor jest stypendystą Japan Society of Promotion of Science, w latach 2002-2004 odbył staż naukowy w National Institute of Agrobiological Sciences w Tsukubie, Japonia. W trakcie stażu dr inż. Zbigniew Draczyński pracował w Laboratorium „Insect Biomaterial and Technology Department Insect Products Utilization Laboratory”, gdzie zajmował się badaniami nad możliwością pozyskiwania chityny z pancerzy owadów.

Autor jest kierownikiem ukończonego projektu rozwojowego „Wytwarzanie nowej generacji biodegradowalnych kopoliestrów chityny, otrzymywanie z nich włókien nanokompozytowych oraz biokompozytów do celów implantacyjnych”. Był wykonawcą projektów badawczych „Chemiczna modyfikacja multimonomerów winylowych”, „Makrocząsteczkowe multimonomery jako nowe środki sieciujące”. Jest wykonawcą w projektach: celowym dotyczącym materiałów opatrunkowych z kopoliestrów chityny oraz projektu BIOGRATEX – projekt kluczowy POIG - POIG.01.03.01-10-007/08-00.

Dorobek naukowy autora w okresie 2002-2013 obejmuje 11 prac opublikowanych w renomowanych czasopismach z listy filadelfijskiej, 4 prace opublikowane w czasopismach o zasięgu krajowym (we współautorstwie bądź samodzielnie), jest autorem bądź też współautorem 24 pełnotekstowych publikacji pokonferencyjnych, 10 komunikatów wygłoszonych na konferencjach krajowych i międzynarodowych. Autor jest również współtwórcą 3 zgłoszeń patentowych.

Dorobek naukowy autora związany z pracą habilitacyjną obejmuje 4 prace opublikowane w renomowanych czasopismach z listy filadelfijskiej, jest autorem bądź też współautorem 9 pełno tekstowych publikacji pokonferencyjnych, 4 komunikatów wygłoszonych na konferencjach krajowych i międzynarodowych.

W ramach pracy dydaktycznej autor prowadzi wykłady z chemii, chemii organicznej, chemii fizycznej, chemii fizycznej polimerów, fizyko-chemii polimerów, chemii materiałów polimerowych, metod instrumentalnych w chemii polimerów, polimery specjalne, polimery biomedyczne, postęp w chemicznej modyfikacji polimerów, towaroznawstwo materiałów biomedycznych.

Autor był opiekunem naukowym 3 prac magisterskich, 3 prac inżynierskich. Aktualnie sprawuje opiekę nad 4 pracami inżynierskimi. Autor jest wydziałowym koordynatorem programu wymiany studenckiej ERASMUS.

ISSN 0137-4834