

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

BIOPOLIMERY

Część I

Alina Sionkowska

1. Wprowadzenie do chemii biopolimerów	3
2. Aminokwasy, peptydy, polipeptydy, białka	5
3. Struktury białek	7
4. Kolagen – budowa i właściwości	9
5. Żelatyna	12
6. Skóra wyprawiona	15
7. Elastyna i keratyna	17
8. Fibroina jedwabiu	20
9. Metody pozyskiwania polipeptydów i białek	23
10. Kwasy nukleinowe	25
11. Cukry proste i cukry złożone	27
12. Skrobia	29
13. Polilaktyd	31
14. Metody badań struktury białek	33
15. Zmiana struktury białek a choroby tkanki łącznej	35
Literatura do części I	38

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Część II

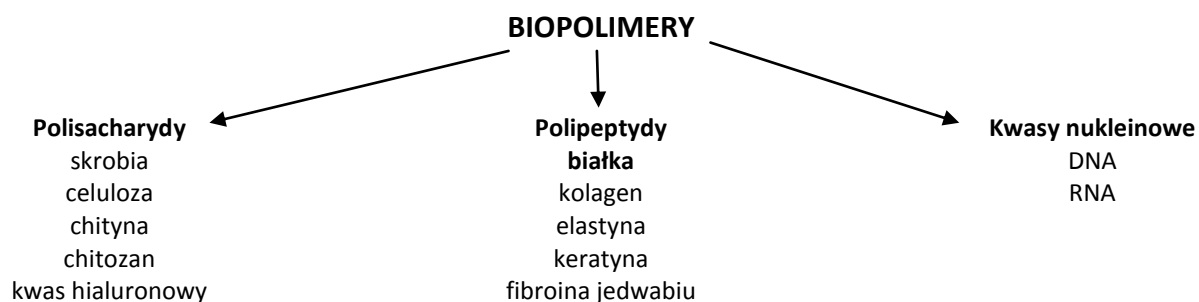
Katarzyna Lewandowska

1. Polielektrolity	40
2. Średnia masa cząsteczkowa i metody jej oznaczenia	42
3. Celuloza	45
4. Pochodne celulozy	48
5. Chityna	51
6. Chitozan	53
7. Badania struktury chityny i chitozanu	56
8. Pochodne chitozanu	59
9. Dibutyrylochityna	61
10. Kwas hialuronowy	64
11. Właściwości reologiczne biopolimerów	66
12. Źródła pozyskiwania polisacharydów	69
13. Kierunki przerobu polisacharydów	72
14. Mieszaniny polimerowe zawierające biopolimery	74
15. Kompozyty biopolimerowe	77
Literatura do części II	79

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

1. Wprowadzenie do chemii biopolimerów

Polimer jest dużą cząsteczką zbudowaną z powtarzających się jednostek połączonych wiązaniami kowalencyjnymi. Polimery naturalne, nazywane też biopolimerami, produkowane są przez organizmy żywe [1]. Najważniejsze grupy biopolimerów to: polinukleotydy, polipeptydy (białka) i polisacharydy (rysunek 1). Do grupy biopolimerów zaliczane są także lipidy. W przyrodzie występuje wiele biopolimerów, np. celuloza (główny składnik drewna i liści) czy skrobia (składnik wielu zbóż, ziemniaków) używana jako składnik żywności. Niektóre biopolimery są głównymi składnikami skóry i włosów, jak kolagen, elastyna, keratyna [2]. Podstawową jednostką w polisacharydach jest cząsteczka cukru, natomiast w białkach podstawową jednostką jest cząsteczka aminokwasu.



Rysunek 1. Wybrane przykłady biopolimerów

Biopolimery pozyskiwane są ze źródeł naturalnych, często nazywanych źródłami odnawialnymi, w przeciwieństwie do polimerów syntetycznych produkowanych z nieodnawialnego źródła jakim jest ropa naftowa. Polimery pochodzenia naturalnego są biodegradowalne, a zatem nie są szkodliwe dla środowiska naturalnego.

Skóra jest największym organem ciała człowieka. Jest barierą, która chroni przed czynnikami fizycznymi i chemicznymi środowiska. Zawiera wiele receptorów wysyłających bodźce do mózgu. Z kosmetycznego punktu widzenia, skóra jest odpowiedzialna za wygląd zewnętrzny oraz kreuje rozpoznawalny unikatowy wygląd identyfikowalny przez otoczenie [3].

Skóra składa się z trzech poziomów, nazywanych warstwami. Przedstawia je rysunek 2.

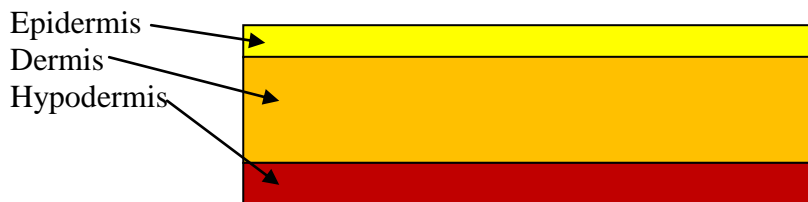
Warstwy te to:

- Epidermis – naskórek (kilka warstw)
- Dermis – skóra właściwa
- Hypodermis - warstwa najgłębsza. Zawiera komórki tłuszczowe, które działają jak poduszki ochronne dla narządów wewnętrznych i izoluje głębiej położone struktury przed nagłymi zmianami temperatury.

We wszystkich warstwach skóry występują biopolimery, głównie białka strukturalne, jako podstawowy składnik budulcowy.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Epidermis (naskórek) jest zewnętrzną warstwą skóry i zbudowany jest głównie z keratynocytów. Głównym składnikiem keratynocytów jest biopolimer, białko włókniste, keratyna. Warstwa rogowa naskórka (stratum corneum) jest zbudowane z korneocytów, w skład których wchodzi biopolimer, keratyna. Ale nie tylko naskórek zbudowany jest z biopolimerów. Biopolimery są również głównymi składnikami skóry właściwej oraz wielu tkanek umiejscowionych w organizmach żywych. Są składnikami zarówno tkanki miękkiej jak i tkanki twardej, np. kości. Skóra właściwa ma złożoną budowę; oprócz biopolimerów w jej skład wchodzi wiele innych związków chemicznych i komórek. Warstwową budowę skóry przedstawiono schematycznie na rysunku 1. Struktura biopolimerów w skórze wpływa znacząco na zewnętrzny wygląd skóry.



Rysunek 2. Schemat struktury skóry [3]

Składniki skóry właściwej można podzielić na:

- Komórkowe - fibroblasty (synteza kolagenu, elastyny, retikuliny), histiocyty, komórki endothelium, macrofagi, komórki dendrytyczne, komórki podporowe, mięśnie gładkie, komórki nerwowe i ich zakończenia - receptory.
- Fibrylarne - kolagen i retikulina – odpowiadają za odporność mechaniczną. Włókna elastyny- odpowiadają za powrót do kształtu po deformacji.
- Pozostałe składniki – glikozoaminoglikany, kwas hialuronowy, siarczan chondroityny, siarczan dermatanu.

Większość z wymienionych składników to właśnie biopolimery.

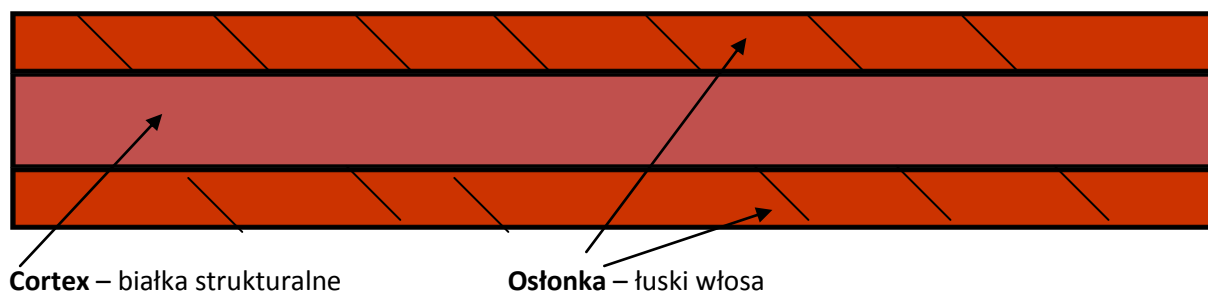
Biopolimery wchodzi również w skład przydatków skóry, takich jak:

- włosy (głównie keratyna)
- paznokcie, rogi, kopyta (również keratyna)
- pióra ptasie

Włosy, podobnie jak skóra, są skomplikowanym systemem biologicznym, który został zaprojektowany przez naturę do pełnienia specyficznych funkcji. Włosy składają się głównie z keratyny oraz niewielkiej ilości lipidów. Struktura chemiczna włosów może zmieniać się z wiekiem, po działaniu sił mechanicznych, na skutek wpływu szkodliwych czynników otoczenia, głównie promieniowania słonecznego. Wraz ze zmianą struktury włosa zmieniać się mogą jego naturalne właściwości oraz wygląd. Włosy zbudowane są z obumarłych, zrogowaciałych komórek. Część włosa wystająca poza warstwę rogową naskórka jest nazywana trzonem włosa. Poniżej naskórka znajduje się korzeń włosa otoczony mieszkem włosowym. Schemat budowy włosa przedstawiono na rys.3.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Osłonka włosa (cuticle) stanowi ciekłą warstwę otaczającą warstwę korową (cortex). Zbudowana jest z łusek, twardych, skeratynizowanych komórek różniących się między sobą. Warstwa korowa jest główną częścią włosa i jest zbudowana z nitkowatych komórek korowych zawierających keratynę.

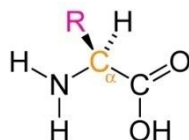


Rysunek 3. Schemat struktury włosa

Warstwa korowa (cortex) jest odpowiedzialna za wytrzymałość trzonu włosa, ale musi mieć nieuszkodzoną osłonkę aby osłaniać przed zewnętrznymi siłami mechanicznymi. Najważniejszą właściwością mechaniczną włosów jest ich elastyczność pozwalająca na odkształcenia deformacyjne a następnie powrót do normalnego wyglądu. Zawartość wody w trzonie włosa wpływa na jego właściwości fizyczne i kosmetyczne. To właśnie biopolimer keratyna zapewnia włosom wymienione wyżej właściwości [4].

2. Aminokwasy, peptydy, polipeptydy, białka

Wszystkie białka w organizmach żywych są zbudowane z aminokwasów. Ogólny wzór aminokwasu przedstawia rysunek 4. W białkach występuje ponad 20 aminokwasów, które pełnią różne funkcje w organizmie.

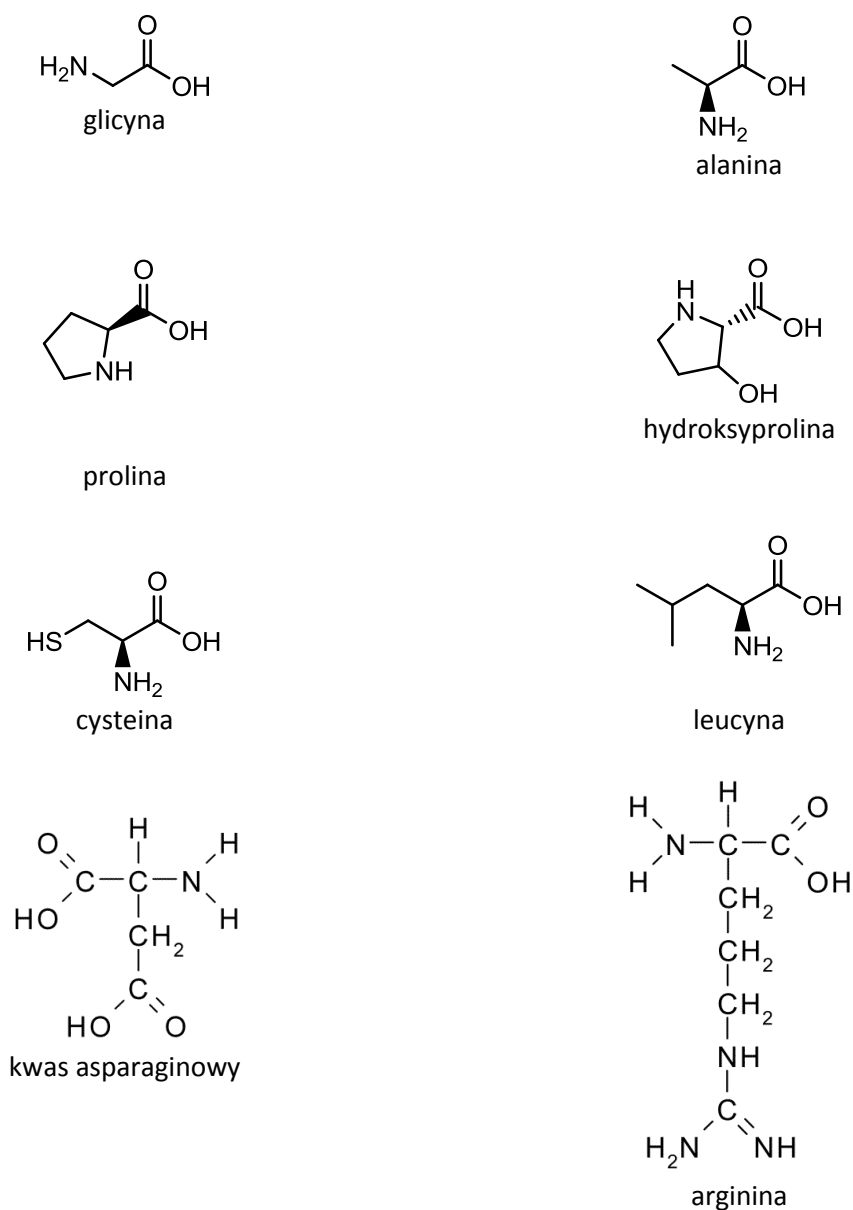


Rys. 4. Wzór ogólny aminokwasu. R- grupa boczna, -COOH- grupa kwasowa, NH₂- grupa aminowa

Białka zbudowane są z reszt aminokwasowych połączonych wiązaniami peptydowymi. Ze wszystkich znanych białek wyodrębniono tylko 25 aminokwasów tzw. białkowych. W aminokwasach białkowych jedna grupa aminowa jest związana z tym samym atomem węgla, z którym związana jest grupa karboksylowa oraz atom wodoru (atom węgla α). Wszystkie aminokwasy białkowe są α-aminokwasami. Z atomem węgla α związane są cztery różne

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

podstawniki a więc są to cząsteczki chiralne (za wyjątkiem glicyny) i mogą występować w dwóch odmianach czynnych optycznie (enancjomerach). Konfiguracja grup związanych z atomem węgla α jest dla wszystkich aminokwasów białkowych taka sama i oznacza się ją jako L. Wszystkie aminokwasy białkowe są więc L- α -aminokwasami. Przykładowe aminokwasy występujące w białkach pokazano na rysunku 5.

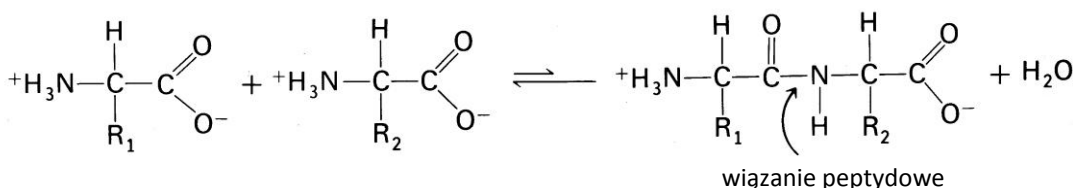


Rysunek 5. Przykładowe aminokwasy występujące w białkach

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

3. Struktury białek

Białka to wielkocząsteczkowe związki organiczne stanowiące materiał budulcowy organizmów żywych. Pod względem chemicznym to makropeptydy składające się z ponad 100 reszt α -aminokwasów związanych wiązaniem peptydowym. Wiązanie peptydowe to wiązanie chemiczne (zwane też wiązaniem amidowym) łączące grupę α -aminową jednego aminokwasu z grupą α -karboksylową drugiego aminokwasu. Występuje ono w dwóch formach rezonansowych: cis i trans. Dzięki bliskości wiązania podwójnego pomiędzy węglem karbonylowym i tlenem wiązanie peptydowe wykazuje częściowo cechy wiązania podwójnego. Powstawanie wiązania peptydowego przedstawiono na rysunku 6.



Rysunek 6. Powstawanie wiązania peptydowego

Białka można podzielić na:

- białka proste - ich cząsteczki są zbudowane z samych aminokwasów.
- białka złożone - ich cząsteczki są zbudowane z aminokwasów oraz innych części niebiałkowych (np. kwas fosforowy, cukier, jony metalu, tłuszcze) [5,6].

Tetraedryczne ułożenie podstawników wokół węgla α nadaje aminokwasom charakter związku optycznie czynnego, jednak w skład białek mogą wchodzić wyłącznie izomery lewoskrętne, czyli L-aminokwasy. Ich rodzaj i wzajemne powiązanie decydują o właściwościach i funkcji budowanej cząsteczki.

Łańcuch peptydowy składa się z części głównej (szkieletu) oraz łańcuchów bocznych. Oba jego końce są reaktywne, przy czym grupa aminowa wyznacza jego początek, a reszta karboksylowa koniec. Struktury złożone z kilku – kilkunastu monomerów nazywa się oligopeptydami, natomiast kilkadziesiąt reszt aminokwasowych tworzy strukturę polipeptydu.

Wzajemne oddziaływanie reszt aminokwasowych powoduje powstawanie bardziej skomplikowanych struktur, których poziom organizacji określa się mianem rzędowości. Przestrzenne ułożenie łańcucha polipeptydowego (konformacja), wpływa na właściwości cząsteczki i pełnione przez nią funkcje. Zmiany w strukturze prowadzą do utraty aktywności biologicznej białka.

Białka wykazują strukturę hierarchiczną, która wynika z budowy ich cząsteczek. *Struktura pierwszorzędowa* to sekwencja aminokwasów w łańcuchu polipeptydowym.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Struktura drugorzędowa wynika z właściwości wiązań peptydowych - umożliwiają one cząsteczce obrót jedynie w miejscu wiązania C-C_α. Grupy boczne sąsiadnych aminokwasów wzajemnie ograniczają swoje zdolności rotacyjne [5,6].

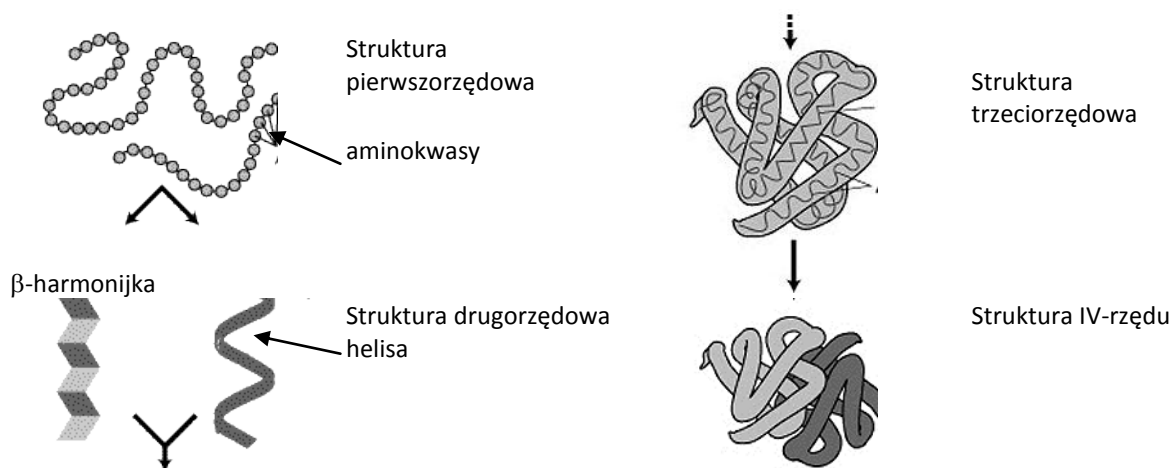
Istnieją dwie podstawowe struktury drugorzędowe w białkach:

- α- helisa – kształt łańcucha polipeptydowego w przestrzeni podobny do spirali. Struktura taka stabilizowana jest wiązaniami wodorowymi powstającymi między grupą CO aminokwasu, a grupą NH innego aminokwasu oddalonego o kilka reszt aminokwasowych.
- β-harmonijka (β- kartka) – łańcuch polipeptydowy przyjmuje rozciągnięty kształt. Struktura taka stabilizowana jest wiązaniami wodorowymi tworzącymi się pomiędzy grupami CO i NH aminokwasów leżących w jednej płaszczyźnie. Może być ona utworzona przez kilka łańcuchów polipeptydowych ułożonych w jednym kierunku (równoległa β-harmonijka) lub w kierunku przeciwnym (antyrównoległa β-harmonijka).

Wiele białek wykazuje struktury wyższych rzędów: III-, IV-rzędową oraz V-tego rzędu.

Struktura trzeciorzędowa powstaje w wyniku tworzenia się wiązań (innych niż wodorowe) pomiędzy aminokwasami – np. mostków solnych lub mostków dwusiarczkowych. Ważną rolę odgrywa także oddziaływanie reszt aminokwasowych z rozpuszczalnikiem. Reszty hydrofobowe rozpuszczalnych w wodzie białek koncentrują się we wnętrzu cząsteczki, natomiast niosące ładunek reszty polarne wysuwają się na zewnątrz i ulegają hydratacji.

Struktura czwartorzędowa charakteryzuje białka oligomeryczne, czyli złożone z kilku podjednostek. Ona również stabilizowana jest za pomocą wzajemnych oddziaływań między resztami aminokwasowymi, za pomocą wiązań wodorowych oraz dzięki wpływom rozpuszczalnika [5,6].



Rysunek 7. Struktury białek

Niektóre białka fibrylarne, jak np. kolagen wykazują również obecność struktur wyższych rzędów. Struktura V-go rzędu to organizowanie się fibryl białka we włókna. Tego typu struktury włókniste utrzymywane są za pomocą wiązań kowalencyjnych powstałych pomiędzy grupami funkcyjnymi aminokwasów bocznych i najczęściej powodują, że białka włókniste są nierozpuszczalne w wodzie [7].

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

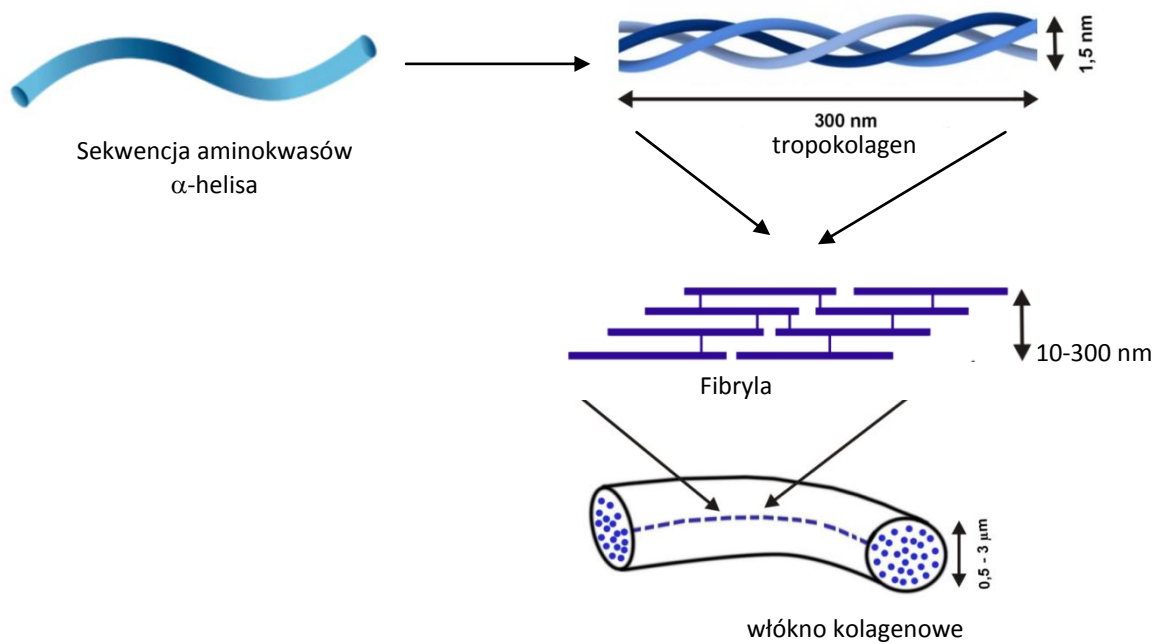
4. Kolagen – budowa i właściwości

Kolagen jest białkiem strukturalnym występującym w organizmach żywych. Pełni on główne funkcje strukturalne a także jest mechanicznym wsparciem dla narządów ciała [7,8]. Biopolimer ten jest przykładem białka o budowie heliakalnej, które tworzy jakby linę dającą umocnienie ścięgnom, rozległym i elastycznym płaszczynom, które podpierają skórę i narządy wewnętrzne. Tkanki twarde, takie jak kości i zęby, zbudowane są z kolagenu z dodatkiem kryształów mineralnych, głównie hydroksyapatytu. Nazwa *kolagen* nie odnosi się raczej do jednego tylko prostego białka. Rodzina kolagenów składa się z wielu genetycznie różnych typów kolagenu [9]. Dotychczas zidentyfikowano i scharakteryzowano 28 genetycznych typów kolagenu, różniących się składem i sekwencją aminokwasów, masą cząsteczkową, długością cząsteczki, strukturą przestrzenną, lokalizacją tkankową, a także stopniem skomplikowania budowy [10]. Powodem wielopostaciowości kolagenu są różnice w ekspresji genów kodujących enzymy odpowiedzialne za biosyntezę tego białka [10]. Wspólną cechą cząsteczek kolagenów wszystkich genetycznych typów jest to, że zbudowane są z trzech łańcuchów polipeptydowych.

Główne typy kolagenu to: typ I (występowanie: skóra, ścięgna, kości), typ II (chrząstka) i typ III (skóra i naczynia krwionośne). Powyższe typy kolagenu występują w strukturach fibrylarnych, które są odpowiedzialne za integralność i architekturę tkanek. Każdy łańcuch kolagenowy zawiera około 1000 aminokwasów i tworzy α -helisę. Mocna, zwarta struktura jest utworzona przez powtarzającą się sekwencję trzech głównych aminokwasów. Hierarchiczna struktura kolagenu pokazana jest na rysunku 8. Każdy co trzeci aminokwas to glicyna, mały aminokwas dopasujący się perfekcyjnie do wnętrza helisy. Pozostałe główne aminokwasy to prolina, i jej zmodyfikowana wersja, hydroksyprolina. Hydroksyprolina jest odpowiedzialna za stabilność kolagenu, produkowana jest jako modyfikacja proliny dopiero po utworzeniu łańcucha kolagenowego. Kolagen wewnątrz fibryl jest stabilizowany licznymi wiązaniami wewnątrz- i międzycząsteczkowymi. Główną rolę w utrzymywaniu struktury potrójnej helisy odgrywają wiązania wodorowe. Naładowane grupy boczne aminokwasów tworzą oddziaływania elektrostatyczne odpowiedzialne za utrzymywanie struktury międzycząsteczkowej. Każda cząsteczka kolagenu oddziałuje z otaczającymi cząsteczkami kolagenu, dlatego przyłożona siła może być przekazywana wewnątrz fibryli. Wiązania sieciujące odgrywają ważną rolę w tworzeniu stabilnej struktury fibrylarnej. Kolagen w ścięgnach jest upakowany bocznie, tworząc strukturę podobną do kryształu, natomiast w skórze upakowanie jest luźne, przypominające brak uporządkowania jak w płynach. Rodzaj upakowania sprawia, że ścięgno jest długie i wytrzymałe. Skóra natomiast stanowi przypadkowo uporządkowane fibryle kolagenowe, które nadają właściwości mechaniczne w obrębie płaszczyny. Kolagen jest materiałem usieciowanym i zwykle nie jest rozpuszczalny w wodzie. Jest też nierozpuszczalny w olejach. Jako nierozpuszczalny w wodzie jest raczej niezbyt dobrym surowcem do produkcji kosmetyków. Rozpuszczalny jest jedynie kolagen pozyskiwany z tkanek bardzo młodych zwierząt. Proces dojrzewania i starzenia powoduje, że przybywa wiązań sieciujących, co ma wpływ na właściwości mechaniczne i rozpuszczalność kolagenu. Oprócz tego ekspozycja na promieniowanie UV indukuje sieciowanie kolagenu w

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

fibrylach a także rozrywanie wiązań peptydowych na drodze mechanizmów rodnikowych. Reakcje fotochemiczne są następstwem absorpcji promieniowania UV przez tyrozynę i fenyloalaninę oraz wiązania peptydowe. Dostosowanie dawki promieniowania może zatem powodować proces degradacji albo sieciowania [11].



Rysunek 8. Hierarchiczna struktura kolagenu [12]

W cząsteczce kolagenu atomy w łańcuchach połączone są za pomocą wiązań kowalencyjnych, natomiast trzy łańcuchy między sobą połączone są za pomocą słabszych wiązań dając strukturę potrójnej helisy. Cząsteczki tropokolagenu mogą być homotrimerami, złożonymi z trzech identycznych łańcuchów lub heterotrimerami, zawierającymi dwa jednakowe łańcuchy i trzeci inny lub też trzy łańcuchy o różnym składzie aminokwasowym. Słabymi wiązaniami są: wiązania wodorowe, wiązania dipole-dipol, wiązania jonowe, van der Waalsa. Kiedy białko jest ogrzewane wtedy słabe wiązania ulegają rozerwaniu i łańcuchy ulegają oddzieleniu, a struktura helikalna ulega zniszczeniu dając strukturę kłębków statystycznych. Włókna kolagenu *in vivo* muszą być na tyle wytrzymałe aby nie ulec denaturacji termicznej, ale zdolne do tworzenia uporządkowanych ugrupowań. Temperatura rozkładu struktury kolagenu w roztworze (rozpuszczalnego typu kolagenu) jest tylko kilka stopni wyższa niż temperatura ciała organizmu, z którego ten kolagen wyizolowano. Natomiast dla cząsteczek po agregacji, utrzymywanych dodatkowymi wiązaniami temperatura przejścia fazowego wzrasta nawet o $\sim 27^{\circ}\text{C}$. Temperatura denaturacji kolagenu (nazywana też temperaturą topnienia) zależy od zawartości wody (stężenia), pH, stopnia usieciowania. Kolagen jak większość białek w czasie ogrzewania traci swoją naturalną strukturę. Potrójna helisa rozwija się i łańcuchy oddzielają się. Taka zdenaturowana masa

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

skłębionych łańcuchów po schłodzeniu absorbuje otaczającą wodę tworząc gabkę - rodzaj tak zdenaturowanego kolagenu nazywany jest żelatyną. Żelatyna jest mieszaniną białek o różnych łańcuchach, które pochodzą głównie z kolagenu. Żelatyna zwykle wiąże większe ilości wody niż kolagen ponieważ jest to zdegradowana forma kolagenu i posiada więcej grup funkcyjnych zdolnych do wiązania wody za pomocą wiązań wodorowych. Kolagen i żelatyna ze względu na ich rolę i zgodność z żywym organizmem są szeroko stosowane jako biomateriały w przemyśle medycznym, farmaceutycznym i kosmetycznym. W formulacjach kosmetycznych stosowane są głównie hydrolizaty kolagenu, ponieważ sam kolagen jest nierozpuszczalny. Krótkie peptydy i polipeptydy pochodzące z kolagenu są dobrze rozpuszczalne i łatwe do wprowadzenia do wielu form kosmetycznych.

Materiały na bazie kolagenu są szeroko stosowane w medycynie rekonstrukcyjnej oraz w farmacji. Właściwości takich materiałów są zależne od źródła pozyskiwania kolagenu, metody izolowania oraz oczyszczania a także sposobu tworzenia fibryl, filmów czy ewentualnego sieciowania. Do zastosowań kosmetycznych używany jest głównie kolagen pochodzący ze skór rybich. Kolagen bydlęcy lub świński ze względu na choroby odzwierzęce może być niebezpieczny. Głównym problemem w zastosowaniu kolagenu rybiego jest jego niska temperatura denaturacji, znacznie niższa niż temperatura ciała ludzkiego. Najlepszą metodą zastosowania kolagenu w kosmetykach jest jego hydroliza do mniejszych peptydów, takich, które są zdolne do penetracji skóry i przenikania do jej głębszych warstw.

Właściwości biologiczne białek, w tym kolagenu, zależą od ich konformacji. Zmiana konformacji natywnej na inną powoduje zwykle całkowitą utratę aktywności biologicznej białka. Zmiana właściwości białka w wyniku przekształcenia jego konformacji nosi nazwę denaturacji białka. Denaturacja jest spowodowana przemianami w obrębie II, III i IV rzędowej struktury białka, nie dochodzi natomiast do rozrywania wiązań kowalencyjnych, tzn. zachowana zostaje struktura I rzędowa. Zmiany struktury I rzędowej związane są z degradacją białka, tj. z hydrolizą wiązań peptydowych. W wyniku hydrolizy wiązań peptydowych w białkach otrzymuje się krótsze łańcuchy, czyli polipeptydy i oligopeptydy. W przypadku gdy białko jest nierozpuszczalne w wodzie, po częściowej hydrolizie, krótsze polipeptydy i oligopeptydy mogą już być rozpuszczalne w wodzie i innych rozpuszczalnikach.

W trakcie denaturacji w białkach zachodzą następujące procesy:

- rozpad agregatów;
- niszczenie wiązań wodorowych i jonowych;
- deformacja układów helikalnych, struktur β i innych struktur.

Denaturację powodują następujące czynniki:

- podwyższona lub obniżona temperatura;
- rozpuszczalniki organiczne;
- detergenty i reduktory;
- promieniowanie twarde (X, UV, γ);
- elektrolity lub substancje tworzące silne wiązania wodorowe (np. mocznik, guanidyna).

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

5. Żelatyna

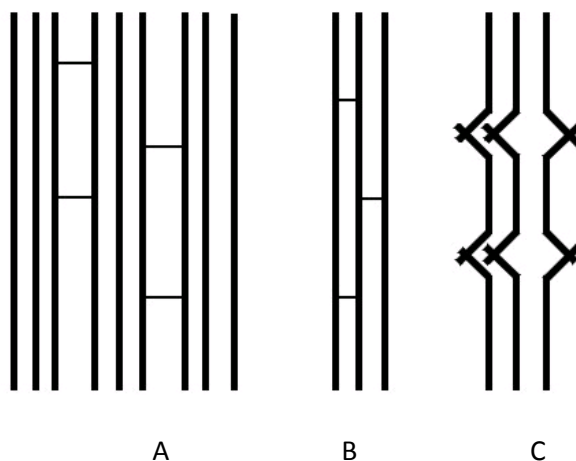
Żelatyna jak wcześniej wspomniano, jest mieszaniną białek o różnych łańcuchach, które pochodzą głównie z kolagenu. Do produkcji żelatyny można stosować zarówno kolagen nieusieciowany jak i dojrzały kolagen usieciowany (włókno kolagenowe).

Włókna kolagenowe stanowią strukturę piątego rzędu. Setki fibryl kolagenowych układają się obok siebie i tworzą wiązkę. Z kolei zgrupowane obok siebie wiązki fibryl tworzą elementarne włókno kolagenowe o średnicy w granicy 0,5-3 μm [7,8]. Rysunek 8 przedstawia schematycznie hierarchiczną strukturę kolagenu.

Powstanie struktur (z wyjątkiem pierwszorzędowej) jest możliwe dzięki wiązaniom sieciującym obecnym w kolagenie:

- pomiędzy dwoma łańcuchami polipeptydowymi dwóch różnych cząsteczek kolagenu (wiązania sieciujące międzycząsteczkowe),
- jako mostki między dwoma łańcuchami polipeptydowymi tej samej cząsteczki (wiązania sieciujące wewnątrzcząsteczkowe),
- między tzw. podjednostkami elementarnego łańcucha polipeptydowego cząsteczki kolagenu, wydłużając łańcuch polipeptydowy (wiązania podłużne wewnątrzłańcuchowe) (rysunek 9).

Poprzez zniszczenie sieci wiązań utrzymujących naturalną strukturę hierarchiczną kolagenu otrzymuje się masę skłębionych łańcuchów nazywanych żelatyną.



Rysunek 9. Wiązania w kolagenie: a) sieciujące międzycząsteczkowe, b) sieciujące wewnątrzcząsteczkowe, c) podłużne wewnątrzłańcuchowe

Obecnie głównymi źródłami pozyskiwania kolagenu do produkcji żelatyny są skóry bydlęce i świńskie. Jednak, na skutek wystąpienia u bydła zwyrodnienia gąbczastego (BSE) oraz innych zakaźnych encefalopatii gąbczastych (TSE), a także pryszczycy (FMD) u świń i bydła, surowce rzeźne są już mniej atrakcyjnym źródłem tego białka. Poszukuje się nowych bezpieczniejszych źródeł pozyskiwania kolagenu. Dobrym źródłem kolagenu są np. skóry, kości, płetwy czy łuski ryb. Ryby spożywane są codziennie na całym świecie w dużych

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

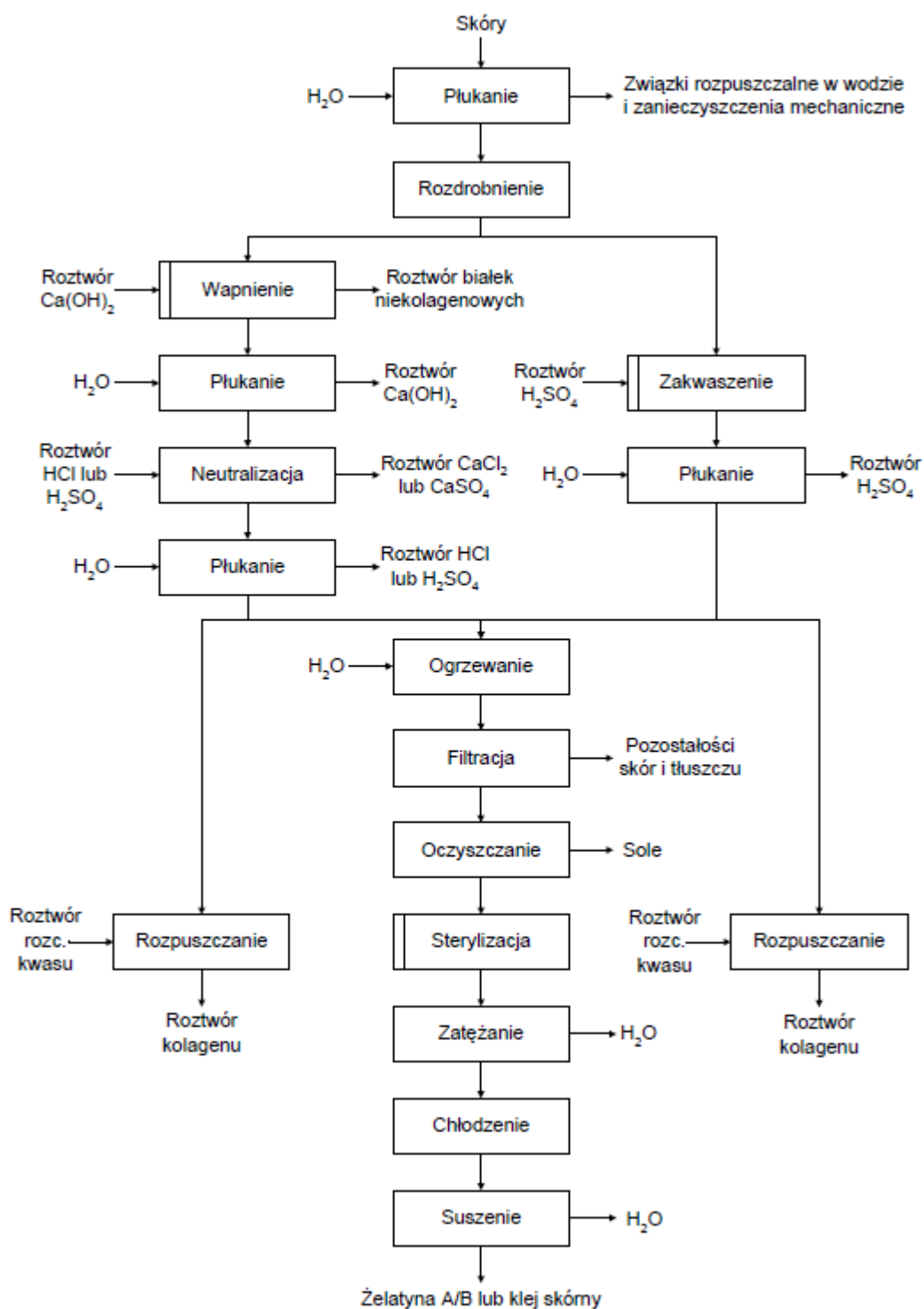
ilościach. Ponad 30% rybich odpadów to skóry, łuski i kości, które są bogatym źródłem kolagenu. Z każdej tkanki łącznej zawierającej kolagen można ekstrahować od 3 do 15% całej ilości tego białka, w zależności od rodzaju i wieku tkanki. Przez bezpośrednią ekstrakcję młodej tkanki łącznej otrzymuje się kolagen rozpuszczalny, natomiast kolagen nierozpuszczalny otrzymuje się po poddaniu dojrzałego kolagenu obróbce enzymatycznej, chemicznej lub mechanicznej. Dojrzały kolagen z uwagi na międzycząsteczkowe usieciowanie jest nierozpuszczalny w rozcieńczonych kwasach i roztworach buforowych.

Najczęściej jednak żelatynę otrzymuje się ze skór i kości zwierząt lądowych, w szczególności z trzody chlewnej i bydła. Żelatynę ze skór można otrzymać dwiema metodami: alkaliczną i kwasową. W przypadku stosowania skór świńskich jako surowca stosuje się proces kwasowy, natomiast w procesie alkalicznym są przetwarzane skóry wołowe. Pierwszym etapem przerobu skór jest ich krótkie płukanie, a następnie rozdrobnienie przy użyciu krawalnicy. W ten sposób przygotowany surowiec w metodzie alkalicznej poddaje się następnie procesowi wapnienia. Jest to etap, od którego zależy wydajność i jakość otrzymanej żelatyny. Ponieważ w skórze oprócz kolagenu znajdują się również inne białka (albuminy, globuliny, elastyna i inne) niezbędnie jest ich usunięcie. Podczas procesu wapnienia białka niekolagenowe rozpuszczane są w mleku wapiennym i zostają w ten sposób usunięte z surowca. W trakcie tego procesu zachodzi również rozluźnienie struktury kolagenu, co powoduje silne pęcznienie skóry. Podczas wapnienia skóry są zanurzone przez 20 – 60 dni, w nasyconym roztworze wapna $[Ca(OH)_2]$ lub roztworze wodorotlenku sodu, który jest okresowo wymieniany na świeżą porcję. W regularnych odstępach czasu do roztworu wpompowywane jest powietrze, które zapewnia mieszanie oraz napowietrzanie roztworu w celu zapobieżenia rozwoju mikroflory beztlenowej. Wapnienie prowadzi się w zbiornikach w temperaturze do 20°C.

Po etapie wapnienia, skóry są płukane w wodzie zawierającej rozcieńczony roztwór H_2SO_4 w celu neutralizacji. Następnie skóry są dokładnie płukane w wodzie, aby usunąć pozostałość kwasu i wytworzone sole. Podczas procesu kwasowego rozdrobnione skóry świńskie znajdują się w roztworze rozcieńzonego kwasu o pH 2 – 3,5 przez 12 – 24 h celem spęcznienia. Następnie są kilkakrotnie płukane w wodzie, w celu usunięcia pozostałości kwasu.

W celu otrzymania żelatyny po wstępnym przygotowaniu surowca następuje etap ogrzewania skór w wodzie w temperaturze od 50°C - 60°C aż do około 100°C, stopniowo zwiększając temperaturę. Żelatynę o najlepszych właściwościach fizykochemicznych otrzymuje się w temperaturze 50°C. Z niej wytwarza się żelatynę jadalną czy techniczną lub klej skórny dobrego gatunku. Żelatyny otrzymane w procesach alkalicznym i kwasowym różnią się właściwościami fizykochemicznymi. W wyniku procesu alkalicznego otrzymuje się żelatynę typu B, natomiast stosując kwasy powstaje żelatyna typu A. Sposób obróbki surowców kolagenowych ma istotny wpływ na zdolność roztworów żelatyny do żelowania. Rodzaj stosowanego procesu wpływa na długość łańcuchów polipeptydowych cząsteczek żelatyny. Im mniejsza masa cząsteczkowa żelatyny, tym większe stężenie tej formy biopolimeru jest potrzebne do uzyskania żelu [13]. Schemat otrzymywania żelatyny ze skór zwierzęcych przedstawia rysunek 10.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki



Rysunek 10. Schemat przedstawiający proces otrzymywania żelatyny ze skór zwierzęcych [14]

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

6. Skóra wyprawiona

Kolagen jest biopolimerem, który głównie pozyskuje się ze skór zwierząt. Po odpowiednim przygotowaniu skóry zwierzęcej uzyskuje się skórę wyprawioną o bardzo dobrych właściwościach użytkowych. W rozdziale 1 pokazano, że skóra zwierząt składa się z 3 warstw:

- naskórka – warstwa zewnętrzna, ochronna, na której znajdują się również przydatki skóry (włosy, pierze lub łuski)
- skóry właściwej zbudowanej z tkanki łącznej (przestrzenne sploty włókien kolagenowych)
- warstwy podskórnej

W przemyśle skórzanym wykorzystywana jest skóra właściwa, którą oddziela się od naskórka i warstwy podskórnej. Warstwa skóry właściwej ma dwie powierzchnie: tę która stykała się z naskórkiem (tzw. *lico*), oraz tę która stykała się z warstwą podskórną (tzw. *mizdra*) [14].

W przemyśle skórzanym wyprawia się skóry kręgowców, głównie ssaków oraz gadów, płazów, ryb i ptaków.

Proces technologiczny prowadzący do zabezpieczenia skóry surowej przed procesami gnilnymi i prowadzący do wzrostu odporności termicznej nazywany jest garbowaniem. W procesie garbowania następuje chemiczne wiązanie się garbnika z kolagenem skóry przy jednoczesnym zachowaniu jej włóknistej struktury. Garbowanie powoduje, że skóra staje się elastyczna i miękka, nie ulega procesowi rozkładu, wzrasta jej odporność termiczna i odporność na procesy hydrolityczne. W zależności od zastosowanego garbnika rozróżnia się m.in. garbowanie roślinne, chromowe, glinowe, aldehydowe, cyrkonowe, tłuszczowe oraz kombinowane (np. aldehydowo-tłuszczowe).

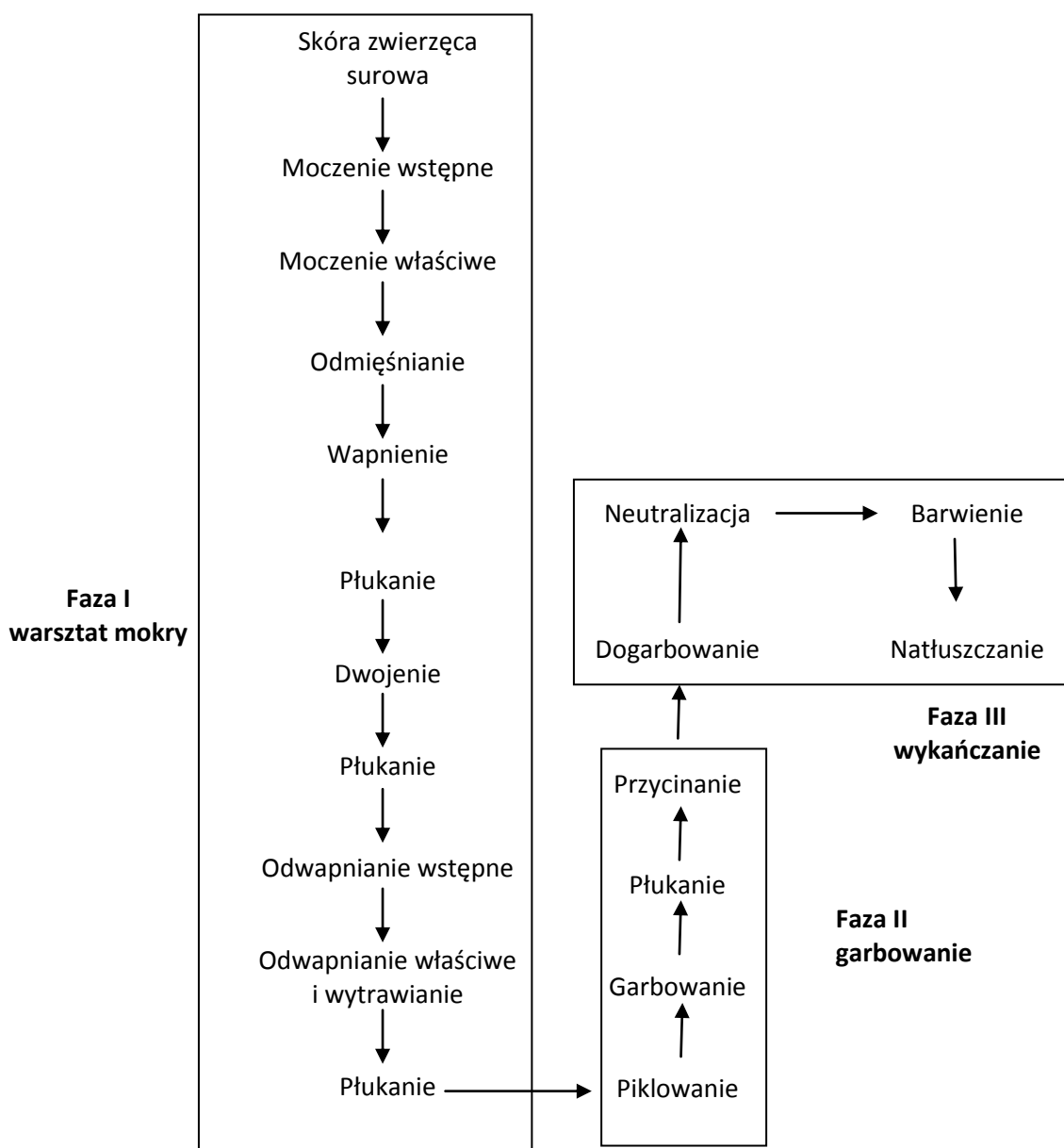
Technika garbowania skóry jest procesem złożonym, składającym się z wielu procesów i operacji technologicznych. Główny proces garbowania skóry poprzedzają liczne procesy chemiczne i operacje mechaniczne, które powszechnie nazywane są warsztatem mokrym. Po wygarbowaniu skóra poddawana jest kolejnym procesom wykańczania, które podnoszą jej walory użytkowe i nadają pożądany wygląd [14,15].

Istotą garbowania jest wnikanie cząsteczek garbnika do wnętrza skóry i tworzenie mostków sieciujących między włóknami kolagenu skóry a zaadsorbowanym garbnikiem na włóknach kolagenu. Zdolność garbowania ma wiele związków chemicznych, nieorganicznych, jak związki chromu (III), cyrkonu (IV), glinu (III), żelaza (III), tytanu (IV) i organicznych np. formaldehyd, glutaraldehyd. Do garbowania skór stosowane są również garbniki pochodzenia roślinnego, jak np.: kora świerkowa, kora brzozy, kora dębu, drzewo quebracho, owoce szafranu garbarskiego. Innymi czynnikami stosowanymi do garbowania skór są syntany - sztuczne garbniki opracowane z myślą zastąpienia garbników roślinnych oraz tłuszcze i rozpuszczalniki organiczne. Schemat garbowania przedstawiono na rysunku 11.

Pierwszym procesem z licznych procesów warsztatu mokrego jest moczenie (nawodnienie skóry, usunięcie różnego rodzaju zanieczyszczeń). Kolejnym procesem warsztatu mokrego jest wapnienie. W tym procesie następuje rozluźnienie struktury włóknistej kolagenu skóry,

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

usunięcie naskórka, włosów i zbędnych tkanek. W kolejnych etapach następuje piklowanie, garbowanie właściwe i wykańczanie.



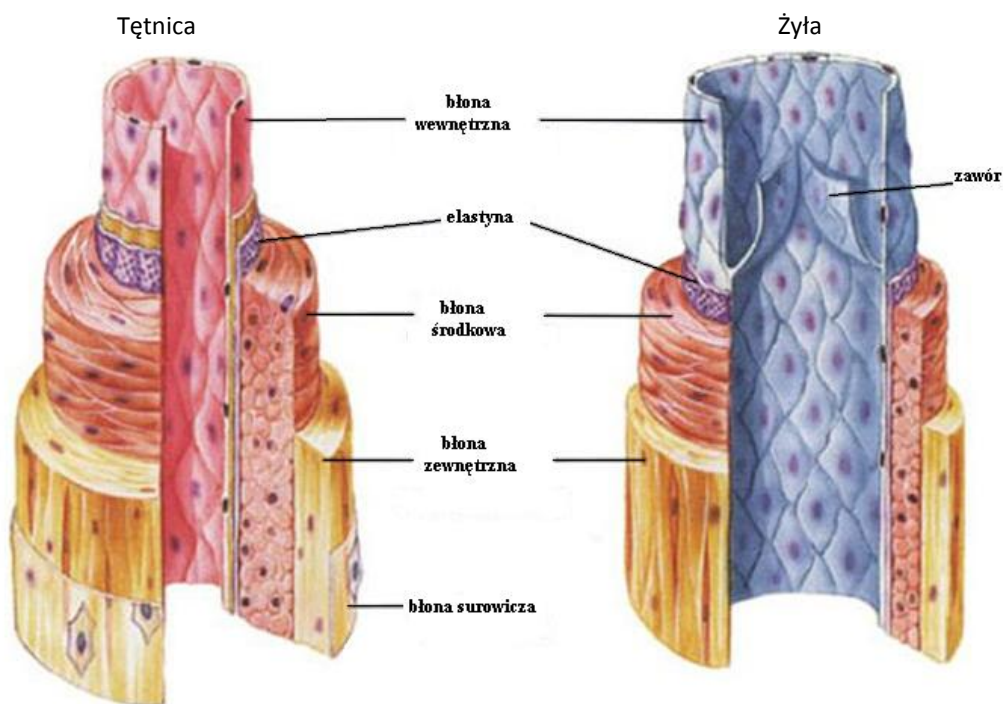
Rysunek 11. Schemat procesu wyprawiania skóry zwierzęcej

Ze skóry produkuje się przede wszystkim wyroby powszechnego użytku, jak obuwie, odzież, pasy, torby, namioty, tarcze wojowników, hełmy, elementy zbroi, uprzęż dla zwierząt pociągowych, pojemniki i oprawy na dokumenty, pergaminy i księgi.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

7. Elastyna i keratyna

Elastyna jest białkiem macierzy zewnątrzkomórkowej gdzie jest głównym składnikiem skóry, naczyń krwionośnych takich jak aorta, oraz tkanek np. płuc [16]. Występowanie elastyny w naczyniach krwionośnych przedstawia rysunek 12. Elastyna to nierozpuszczalne białko występujące w przestrzeniach międzykomórkowych tkanek kręgowców zapewniające tym elementom ciała wymaganą elastyczność.



Rysunek 12. Przekroje naczyń krwionośnych [17].

Głównymi aminokwasami elastyny są glicyna, prolina i alanina. W elastynie występują specyficzne wiązania sieciujące – desmozynowe i izodesmozynowe, odpowiedzialne za tworzenie trójwymiarowej sieci zawierającej 60-70 aminokwasów pomiędzy dwoma punktami sieciującymi. Obecność wiązań sieciujących sprawia, że elastyna jest elastyczna i rozciągliwa. Oprócz tego elastyna obecna w elastycznych blaszkach arterii redukuje migrację komórek mięśni gładkich do wnętrza ściany naczynia.

Elastyna jest syntetyzowana jako rozpuszczalny prekursor (tropoelastyna), o masie cząsteczkowej około 72 kDa przez różne komórki, np. mięśnia gładkiego, śródbłonne, fibroblasty (komórki tkanki łącznej) i komórki tkanki chrzęstnej.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Proces powstawania nie jest prosty i zachodzi w kilku etapach [16]:

- tworzenie tropoelastyny w komórkach,
- wydzielanie tropoelastyny poza komórkę,
- koacercwacja, czyli łączenie się poszczególnych molekuł tropoelastyny,
- deaminacja oksydacyjna lizyny - powstają allizyny, które są niezbędne do usieciowania elastyny,
- tworzenie się włókien sprężystych poprzez asocjację z glikoproteinami występującymi w tkance łącznej.

Elastyna podobnie jak inne białka strukturalne charakteryzuje się dużą zawartością niepolarnych alifatycznych aminokwasów. Zawiera bardzo mało aminokwasów polarnych i tioaminokwasów oraz znikomą ilość hydroksyproliny. W elastynie możliwe jest wyróżnienie dwóch odmiennych obszarów. Regiony hydrofobowe łańcuchów polipeptydowych, odpowiedzialne za elastyczność, można opisać jako zbiór powtarzających się di-, tri-, tertra-, penta-, hexa i nona-peptydów. Obszary hydrofilowe odpowiedzialne są za wiązanie wody w cząsteczce elastyny.

Elastyna jest dobrym materiałem biomedycznym do otrzymywania protez, substytutów skóry i hydrożeli. Jednak w preparatach kosmetycznych nie jest używana w naturalnej formie ze względu na jej nierozpuszczalność. Bardzo często są natomiast używane hydrolizaty elastyny o mniejszej masie cząsteczkowej i rozpuszczalne w wodzie. Hydrolizaty elastyny dodawane są do kondycjonerów do włosów, kremów do ciała, czy sprayów do włosów.

Hydrolizaty elastynowe zawierają takie same aminokwasy co elastyna, również niektóre właściwości mają podobne do naturalnej elastyny, mogą np. poprawiać biogodność innych materiałów. Materiał zrobiony z samych tylko hydrolizatów elastyny jest jednak zbyt elastyczny i mało odporny mechanicznie. Dobrą metodą jest otrzymywanie nowych biomateriałów na bazie mieszanin hydrolizatów elastyny z kolagenem. W organizmach ssaków elastyna i kolagen występują łącznie w mieszaninach o różnym składzie w zależności od funkcji tkanki pełnionych w organizmie. W tym kontekście elastyna i jej mieszaniny mogą stanowić alternatywny materiał do zastosowania w regeneracji tkanek.

Keratyna

Keratyna jest białkiem bardzo rozpowszechnionym w świecie zwierzęcym. Jest głównym składnikiem włosów, piór, paznokci, rogów, kopyt i pazurów. Keratyna powinna być tanim surowcem, ponieważ jest odpadem w produkcji żywności. Jak każde białko keratyna zbudowana jest z aminokwasów. Sekwencja aminokwasów determinuje miejsca możliwych wiązań sieciujących w keratynie. Obecność cysteiny w łańcuchu keratyny (aminokwasu zawierającego siarkę) daje możliwość tworzenia międzycząsteczkowych wiązań disiarczkowych determinujących właściwości keratyny. Odporność na degradację jest spowodowana występowaniem wiązań sieciujących pomiędzy resztami cysteiny w keratynie, tzw. mostki disiarczkowe (wysoce odporne na degradację). Keratyna z punktu widzenia nauk polimerowych jest biopolimerem nierozpuszczalnym w wodzie i innych znanych rozpuszczalnikach.

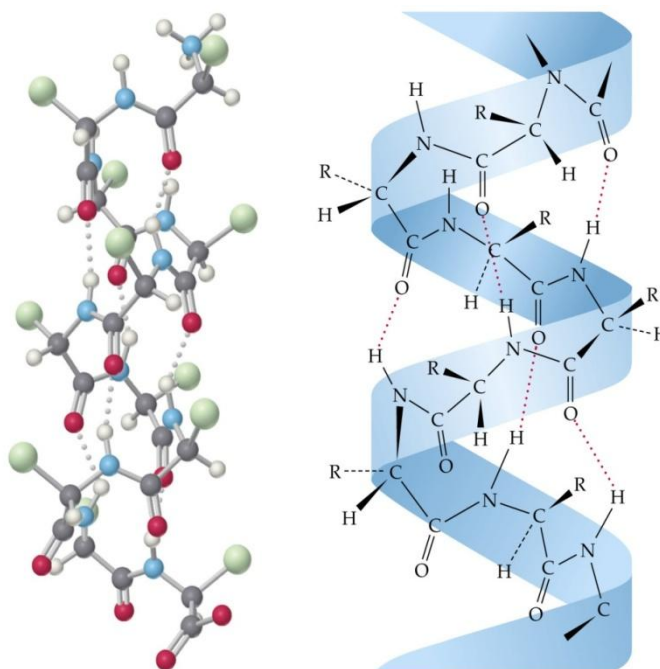
W keratynie wyróżnia się dwa rodzaje struktur II-go rzędu :

- strukturę α -helisy (cząsteczka α keratyny),

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

- strukturę tzw. „pofałdowanej kartki” (cząsteczka β keratyny) [15,18].

Drugorzędową strukturę α -keratyny przedstawia rysunek 13.



Rysunek 13. Drugorzędowa struktura α -keratyny [19]

Keratynę można podzielić na dwa rodzaje:

- keratynę miękką,
- keratynę twardą.

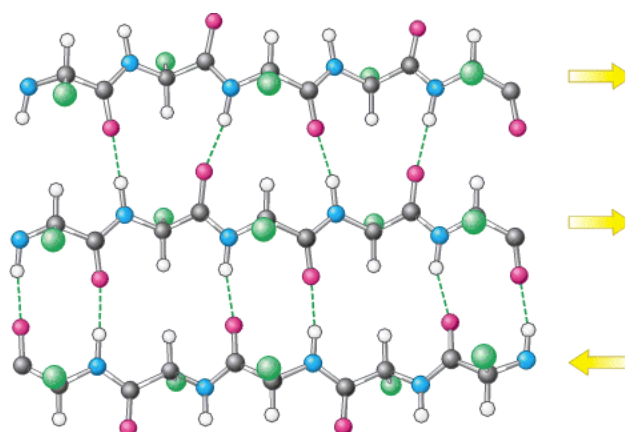
Keratyna miękka występuje w warstwie rogowej naskórka, a keratyna twarda znajduje się we włosach i paznokciach. Keratyna naskórka ulega złuszczeniu, ponieważ keratyna miękka jest mniej trwała niż twarda, a keratyna włosa jest wymieniana znacznie rzadziej (np. wymiana sierści na zimę). W keratynie miękkiej najczęściej występują grupy tiolowe, natomiast w keratynie twardej są one utlenione do mostków disiarczkowych.

Rozpuszczalne formy keratyny i hydrolizaty keratyny mogą być mieszane z innymi polimerami w tym samym rozpuszczalniku i po jego odparowaniu można otrzymać cienkie filmy. Filmy takie mogą być stosowane jako biomateriały do pokrywania innych materiałów wykonanych z polimerów syntetycznych. Keratyna jako odpad jest tanim surowcem, co może być wykorzystane w dziedzinie materiałów biomedycznych do obniżenia kosztów nowych materiałów. Ponieważ keratyna jest głównym składnikiem włosów, jej hydrolizaty są głównie wykorzystywane w kondycjonerach do włosów. Hydrolizaty keratyny są wykorzystywane również w kremach do ciała i sprayach do włosów.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

8. Fibroina jedwabiu

Fibroina jedwabiu jest białkiem, które występuje w jedwabiu produkowanym głównie przez udomowione jedwabniki morwowe *Bombyx mori* i jest używana jako materiał na szwy od wielu dekad. Naturalna fibroina zbudowana jest z powtarzających się sekwencji alaniny i glicyny, których długie łańcuchy tworzą strukturę β -harmonijki odpowiedzialną za właściwości mechaniczne jedwabiu [20]. Strukturę β -harmonijki fibroiny jedwabiu przedstawia rysunek 14.



Rysunek 14. Ułożenie łańcuchów peptydowych tworzących β – harmonijkę

Elastyczność i odporność naturalnego (ale też i syntetycznego) jedwabiu czynią ten związek ważnym kandydatem do zastosowań w produkcji syntetycznych kości, wiązań czy chrząstek. Porównanie właściwości mechanicznych różnych typów jedwabiu z wybranymi biomateriałami przedstawia tabela 1. Jak widać z tabeli 1 jedwab odznacza się wysoką wytrzymałością przy zachowaniu świetnej elastyczności. Z reguły materiały wykazują albo wysoką elastyczność albo wysoką wytrzymałość. Właściwościami jedwab znacznie przewyższa inne biomateriały i wzbudza zainteresowanie badaczy. Niezwykła rozciągliwość jedwabiu nie została jednoznacznie i do końca wyjaśniona.

W skład jedwabiu wchodzi jednak nie tylko fibroina jedwabiu. Jedwab składa się, w zależności od pochodzenia, z fibroiny jedwabiu (75-83 %), serycyny (17-25 %), wosków i tłuszczów (1,5 %) oraz składników mineralnych i barwników (1 %). Serycyna jest bogatym w serynę klejem białkowym otaczającym, jak swoisty płaszcz, fibroiny jedwabne zlepiając je ze sobą. Nadaje ona również elastyczność włóknom jedwabnym. Serycynę można usunąć w procesie zwanym odgumowywaniem lub odserycynowywaniem włókien jedwabnych. Proces ten może spowodować zmiany w strukturze jedwabiu, a w skrajnych przypadkach nawet częściową jego degradację [20].

Białka (proteiny) jedwabiu mają bardzo dużą średnią masę cząsteczkową (od około 10 tys. do kilku mln Da). Są one hydrofobowe w stanie stałym, a w niektórych przypadkach

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

użycie wody działa znakomicie na ich właściwości mechaniczne. Włókna są termicznie trwałe, zarówno w bardzo wysokich jak i niskich temperaturach [20].

Tabela 1. Porównanie właściwości mechanicznych różnych typów jedwabiu z wybranymi biomateriałami [20]

Material	UTS (Wytrzymałość na rozciąganie) [MPa]	Moduł Younga [GPa]	Odształcenie przy zrywaniu [%]
<i>B. mori</i> jedwab (zawiera serycynę)	500	5-12	19
<i>B. mori</i> jedwab (nie zawiera serycyny)	610-690	15-17	4-16
Jedwab pajęczy (<i>Nephila clavipes</i>)	875-972	11-13	17-18
Kolagen ^a	0,9-7,4	0,0018-0,046	24-68
Kolagen usieciowany ^b	47-72	0,4-0,8	12-16
PLA ^c	28-50	1,2-3,0	2-6
Ścięgno	150	1,5	12
Kość	160	20	3
Kevlar (49 włókien)	3600	130	2,7
Guma syntetyczna	50	0,001	850

^aKolagel typu I pozyskany ze ścięgien ogonów szczurzych, badany po rozciągnięciu od 0% do 50%.

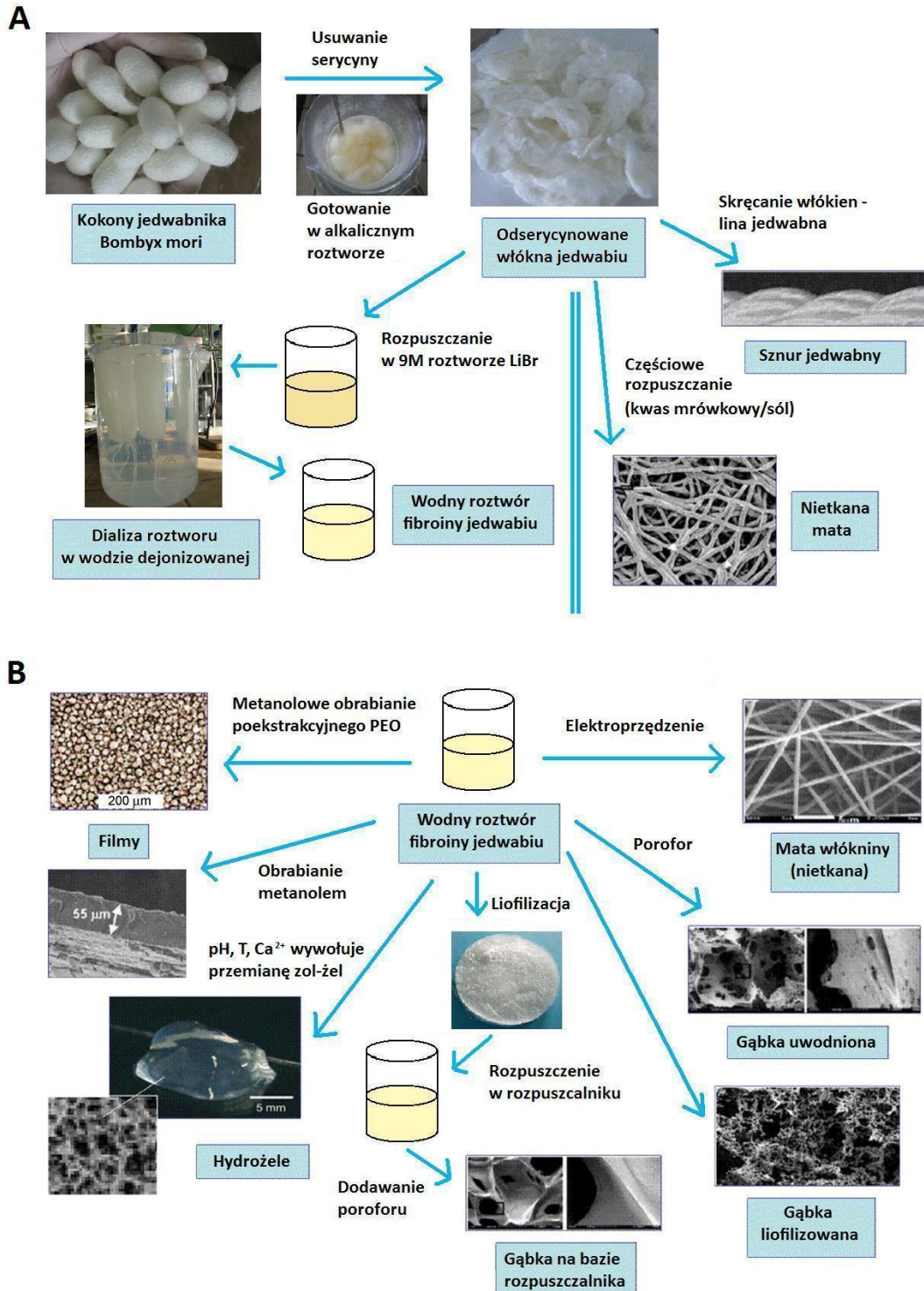
^bKolagen pozyskany ze ścięgien ogonów szczurzych, sieciowany termicznie, badany po rozciągnięciu od 0% do 50%.

^cPLA – masa molowa od 50 000 do 300 000.

Pod względem zgodności komórkowej odserycynowany jedwab jest jednym z najbardziej odpowiednich materiałów do zastosowań w hodowli komórek. Czysta fibroina jest biozgodna, degradowa wolno, dając wsparcie dla wzrostu wielu komórek, np. wspiera różnicowanie osteoblastów. Z fibroiny jedwabiu można otrzymać filmy i rusztowania do poprawy regeneracji tkanek skóry, nerwów, kości i chrząstek. Włókna jedwabiu podatne są na degradację proteolityczną i stopniową absorpcję w długim czasie *in vivo* (w żywym organizmie). Stopień absorpcji jedwabiu zależy jest od miejsca implantacji, warunków mechanicznych (wytrzymałości rusztowania na tarcie lub nacisk), stanu zdrowia pacjenta, rodzaju jedwabiu (naturalny lub przerobiony), średnicy nici, a także od sposobu przygotowania materiału.

W preparatach kosmetycznych jedwab jest zwykle używany w formie hydrolizatów jako składnik kondycjonerów do włosów, kremów do ciała oraz sprayów do włosów. Rysunek 15 przedstawia otrzymywanie fibroiny jedwabiu z kokonów jedwabnika *Bombyx Mori* (A) oraz jego przetwarzanie na różne formy biomateriałów, np. maty, włókniny, filmy, hydrożele, gąbki, skafoldy (B).

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

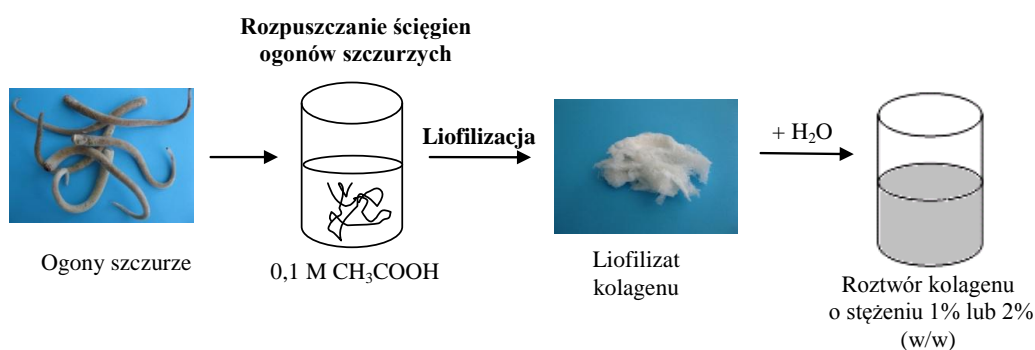


Rysunek 15. Otrzymywanie wodnego roztworu fibroiny jedwabiu i biomateriałów z fibroiny jedwabiu [21]

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

9. Metody pozyskiwania polipeptydów i białek

Źródłem pozyskiwania biopolimerów są głównie surowce pochodzenia biologicznego. Kolagen jest głównym budulcem skóry, kości, ścięgien, chrząstek, zębów oraz błon wewnątrzustrojowych i z tych tkanek jest najczęściej izolowany. Jego obecność stwierdzono również w ściankach większych naczyń krwionośnych, w twardówce i rogówce oka oraz w tkance mięśniowej. Występuje niemal we wszystkich narządach jako substancja spajająca komórki. Kolagen znajdujący się w poszczególnych narządach jest bardzo zróżnicowany pod względem właściwości fizycznych. Rozpuszczalny w rozcieńczonych kwasach jest tylko kolagen pozyskiwany z tkanek bardzo młodych zwierząt, w których nie zaszły jeszcze procesy sieciowania związane z dojrzewaniem kolagenu. W kościach i zębach włókna kolagenu są usztywnione fosforanem wapnia, co tworzy konstrukcję bardzo odporną mechanicznie. Aby pozyskać kolagen z tego typu tkanek należy przeprowadzić demineralizację polegającą na usunięciu związków nieorganicznych. Obecnie głównymi źródłami pozyskiwania kolagenu typu I są skóry bydlęce i świńskie a także ścięgna ogonów młodych szczurów [22]. Schemat otrzymywania rozpuszczalnego kolagenu ze ścięgien ogonów szczurzych przedstawiono na rysunku 16. Wystąpienie u bydła zwyrodnienia gąbczastego (BSE) oraz innych zakaźnych encefalopatii gąbczastych (TSE), a także pryszczycy (FMD) u świń i bydła, spowodowało, że surowce rzeźne są już mniej atrakcyjnym źródłem kolagenu. Dlatego też poszukuje się innych źródeł izolowania tego białka. Kolagen typu I izoluje się ze skór, kości, płetw czy łusek ryb. Ponad 30% rybich odpadów to skóry, łuski i kości, które są bogatym źródłem kolagenu, jednak o niższej temperaturze denaturacji niż dla kolagenu ssaków.



Rysunek 16. Schemat otrzymywania kolagenu ze ścięgna ogona szczura [22]

Elastyna jest głównym składnikiem ścięgien, więzadeł mięśniowych i ścian naczyń krwionośnych i z tych właśnie tkanek jest najczęściej izolowana do badań lub do zastosowań biomedycznych. Ze względu na nierozpuszczalność preparaty elastynowe stosuje się w formie hydrolizatów, otrzymuje się je na drodze zasadowej hydrolizy elastyny wyizolowanej np. z aorty. Materiały elastynowe uzyskuje się także przez odkomórkowywanie odpowiedniej tkanki.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Keratyna jest głównym składnikiem włosów, paznokci ludzkich, kopyt, rogów, łusek gadów, piór ptaków oraz wełny. Najczęściej jest jednak pozyskiwana z piór ptasich oraz wełny. Keratyna piór, w stosunku do keratyn paznokci, rogów i naskórka, różni się 2,5-krotnie wyższą zawartością cystyny (7,8%). Jej budowa odbiega nieco od typowej struktury α -keratyny, ponieważ od 25 do 30% białek tworzy strukturę harmonijki β . Keratyna jest białkiem nierozpuszczalnym w wodzie i innych rozpuszczalnikach. Do celów kosmetycznych używa się najczęściej hydrolizatów keratyny. Ze względu na dużą odporność keratyny na czynniki chemiczne, w celu jej hydrolizy, czyli inaczej degradacji, stosuje się odpowiednie metody. Wykorzystują one podwyższoną temperaturę, działanie kwasów oraz zasad, a także działanie enzymów.

W przypadku otrzymywania hydrolizatów keratyny z piór ptasich najpierw tnie się pióra na kawałki oraz usuwa się sztywne części. Tak przygotowany surowiec przemywa się kilkakrotnie wodą dejonizowaną i oczyszczono za pomocą ekstrakcji w etanolu (96%), w mieszaninie etanol: eter dietylowy 50/50 oraz w eterze dietylowym.

Oczyszczone pióra poddaje się suszeniu a następnie przeprowadza się proces odpowiedniej hydrolizy. Uzyskany roztwór hydrolizatów keratyny jest filtrowany, a następnie odwirowany. Otrzymane klarowne roztwory poddaje się procesowi dializy za pomocą błon półprzepuszczalnych względem wody dejonizowanej. Roztwór hydrolizatów keratyny można poddać procesowi liofilizacji aby ułatwić przechowywanie w postaci suchej.

Oprócz piór ptasich również włosie, szczecinę oraz rogowiznę zalicza się do surowców keratynowych. W związku z dużą ilością generowanych odpadów z przemysłu drobiarskiego i rzeźnego takich jak pióra, włosie, szczecina i rogowizna przetwarza się je głównie na mączkę, która dodawana jest do pasz dla zwierząt.

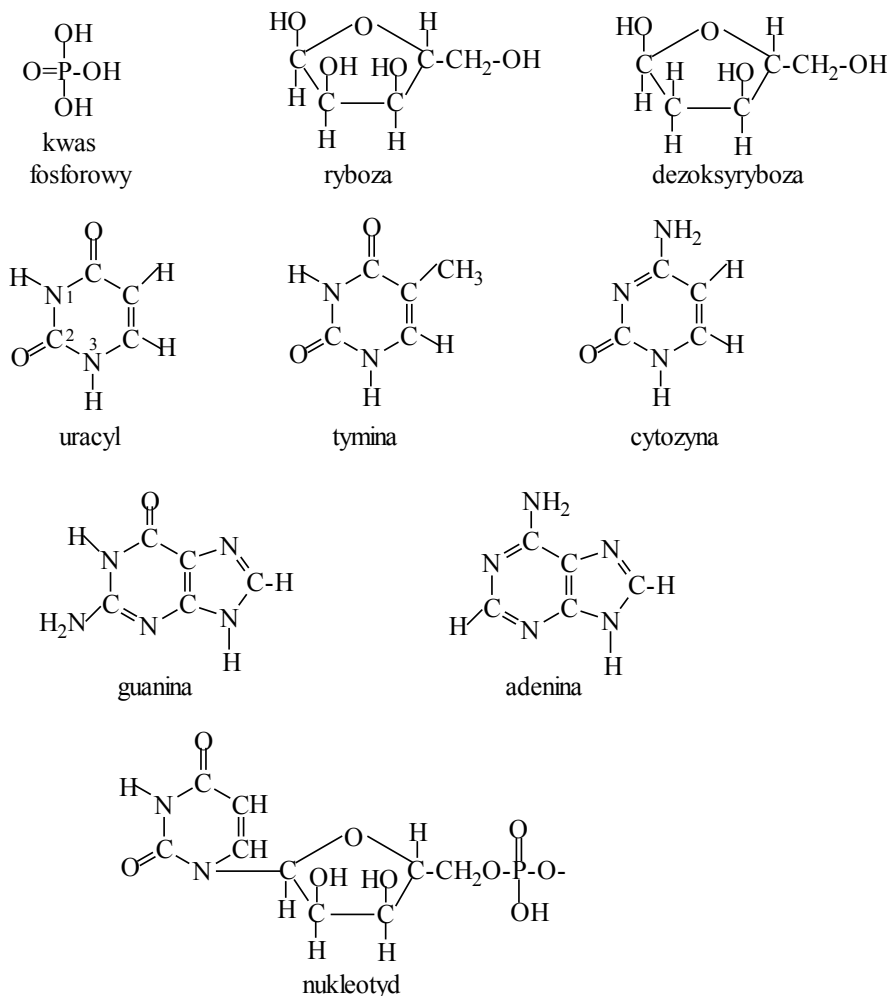
Jedwab pozyskiwany był już w starożytności przez Chińczyków z kokonów jedwabników morwowych (*Bombyx mori*). Jedwab wytwarzają również niektóre stawonogi, głównie pajęczaki, roztocza, muchy oraz niektóre gąsienice. Jedwab różni się znacząco składem, strukturą i właściwościami w zależności od źródła pochodzenia. Do najlepiej poznanych i najczęściej używanych do celów badawczych należą jedwabie pozyskiwane z kokonów jedwabników morwowych (*B. mori*) oraz dwóch gatunków pajaków (*Nephila clavipes* i *Araneus diadematus*). W przeciwieństwie do jedwabników morwowych, które wytwarzają jedwab mający za zadanie ochraniać poczwarki w czasie ich metamorfozy, większość pajaków wytwarza wiele rodzajów jedwabiu, pełniących rozmaite funkcje. Wyróżnia się kilka typów jedwabiu używanych do wytwarzania: kokonów oraz ich miękkiej jedwabnej wyściółki, sieci pajęczych do wychwytywania owadów, pajęczyny oplatającej zdobycz, kleju do mocowania czy łączenia, pomocniczych spiral, itp. Oczywiście każdy z tych typów jedwabiu różni się sekwencją aminokwasów, ułożeniem łańcuchów w przestrzeni (struktury II-rzędowe), a co za tym idzie właściwościami mechanicznymi [20]. Najczęściej w celu pozyskania fibroiny jedwabiu kokony jedwabników morwowych rozpuszcza się w roztworze składającym się z chlorku wapnia, wody destylowanej oraz etanolu. Proces ten prowadzi się w odpowiedniej temperaturze w określonym czasie. Następnie przeprowadza się odserycynowanie oraz oczyszczanie za pomocą dializy. Ogólny schemat otrzymywania fibroiny jedwabiu i materiałów z fibroiny jedwabiu przedstawiono w rozdziale 8 na rysunku 15 [21].

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

10. Kwasy nukleinowe

Kwas nukleinowy jest biopolimerem, w którym jednostką powtarzającą się jest nukleotyd. Każdy nukleotyd zbudowany z kwasu fosforowego (P), cukru rybozy lub dezoksyrybozy (R), zasady pirymidynowej: tyminy (T), cytozyny (C) lub uracylu (U) oraz zasady purynowej: guaniny (G) lub adeniny (A). Struktury zasad purynowych i pirymidynowych przedstawia rysunek 17. Nukleotydy połączone są ze sobą w długi łańcuch polinukleotydowy. Kwas fosforowy z cukrem tworzą łańcuch, w którym zasada jest bocznym podstawnikiem. Te trzy składniki tworzą nukleotyd. Nukleotydy łączą się ze sobą tworząc łańcuch polinukleotydowy (Rys. 18) [2,5,18,19].

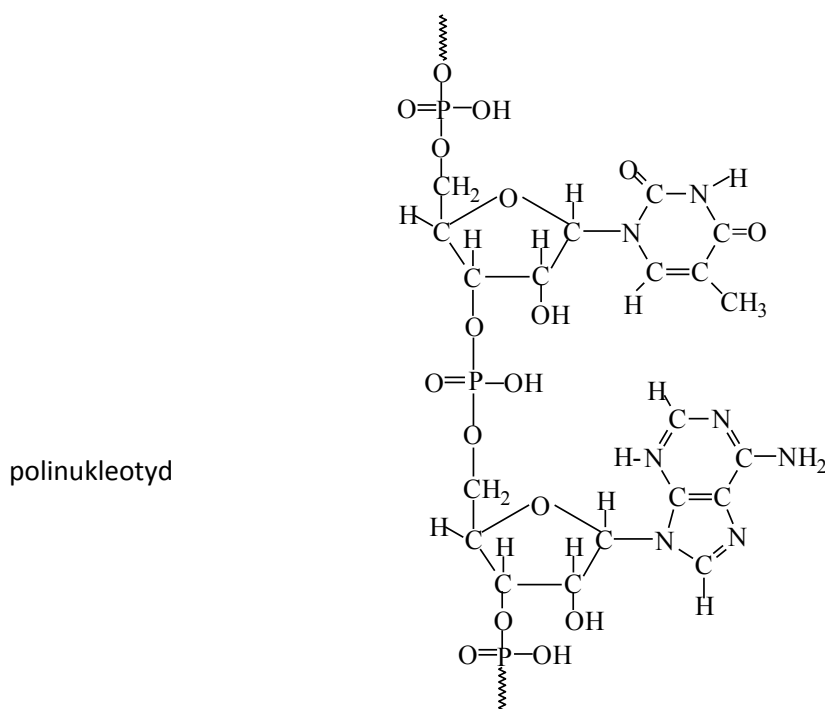
Dwa takie łańcuchy biegnące równoległe tworzą strukturę spiralną (tzw. podwójna spirala), którą utrzymują wiązania wodorowe między występującymi w obu łańcuchach zasadami: purynową i pirymidynową.



Rysunek 17. Struktura chemiczna zasad azotowych wchodzących w skład kwasów nukleinowych oraz struktura przykładowego nukleotydu

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Kwasy nukleinowe, deoksyrybonukleinowy (DNA) i rybonukleinowy (RNA), są chemicznymi nośnikami informacji genetycznej w komórkach. Informację genetyczną stanowi kolejność deoksyrybonukleotydów w łańcuchach DNA, która przechowywana jest głównie w jądrze komórkowym. Informacja genetyczna jest przepisywana (transkrypcja), po czym przekazywana do cytoplazmy w formie sekwencji polirybonukleotydowej łańcuchów RNA. Przepisana informacja genetyczna na jeden z kwasów rybonukleinowych (mRNA) służy do odczytania, przetłumaczenia na nowy „język” (o alfabecie aminokwasowym), tym samym stanowi bezpośrednią matrycę, na której „materializuje się” informacja genetyczna w formie specyficznej sekwencji aminokwasowej polipeptydów (translacja).



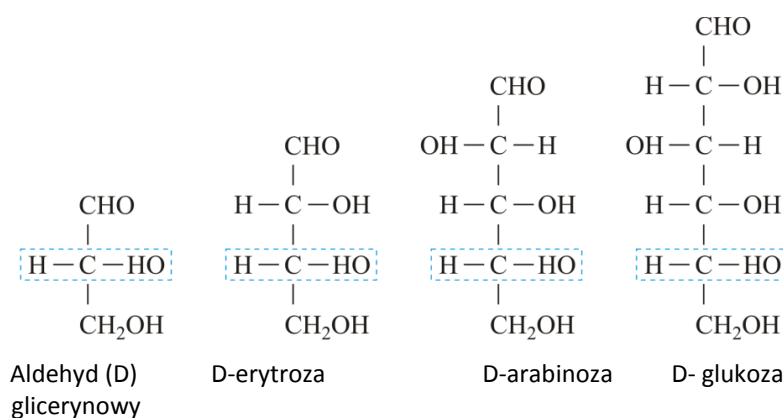
Rys. 18. Struktura polinukleotydu

Kwasy nukleinowe są nierozgałęzionymi łańcuchami polinukleotydowymi, w których kolejne mononukleotydy połączone są wiązaniami 3'5'fosfodiestrowymi, tworzącymi obwodowy, ujemnie naładowany rdzeń fosfocukrowy, od którego sterczą na bok zasady azotowe. Ze specyfiki wiązania fosfodiestrowego wynika, że każdy łańcuch polinukleotydowy jest polarny, czyli ma dwa różne końce, koniec-5' i koniec-3'. Koniec-5' polinukleotydu oznacza, że przy piątym atomie węgla (C5') rybozy lub deoksyrybozy znajduje się fosforan (lub atom tlenu, gdy jest to tylko fragment całości). Z punktu widzenia powstawania polinukleotydu, koniec-5' jest rzeczywistym jego początkiem. Koniec-3' polinukleotydu oznacza, że przy trzecim atomie węgla (C3') rybozy lub deoksyrybozy znajduje się wolna grupa hydroksylowa (lub atom tlenu, gdy jest to tylko fragment całości). Koniec-3' jest rzeczywistym końcem polinukleotydu. Strukturę pierwszorzędową polinukleotydów, zapisuje się poczynając od końca 5' z lewej strony, za pomocą skrótów jednoliterowych nazw nukleozydów.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

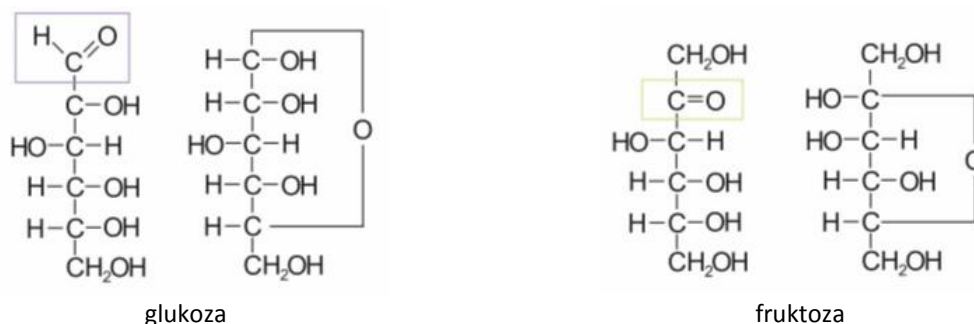
11. Cukry proste i cukry złożone

Cukry proste (monosacharydy) lub inaczej węglowodany, to związki w których strukturze występuje od 3 do 7 atomów węgla. W postaci pierścieniowej występować mogą jeśli posiadają co najmniej 4 atomy węgla w cząsteczce. Z chemicznego punktu widzenia cukry proste to wielohydroksylowe aldehydy lub ketony [5,18,19]. Przykłady cukrów prostych z grupą aldehydową przedstawia rysunek 19.



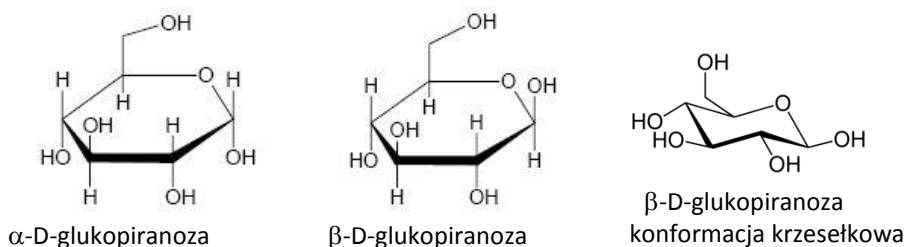
Rysunek 19. Cukry proste z grupą aldehydową (aldozy)

Jeżeli cukry proste posiadają co najmniej 4 atomy węgla w cząsteczce i grupę karbonylową wówczas w wyniku reakcji addycji nukleofilowej grup hydroksylowych do grup karbonylowych powstają struktury pierścieniowe. Przykład cyklizacji glukozy i fruktozy przedstawia rysunek 20, natomiast powstałe formy anomeryczne glukozy przedstawia rysunek 21.



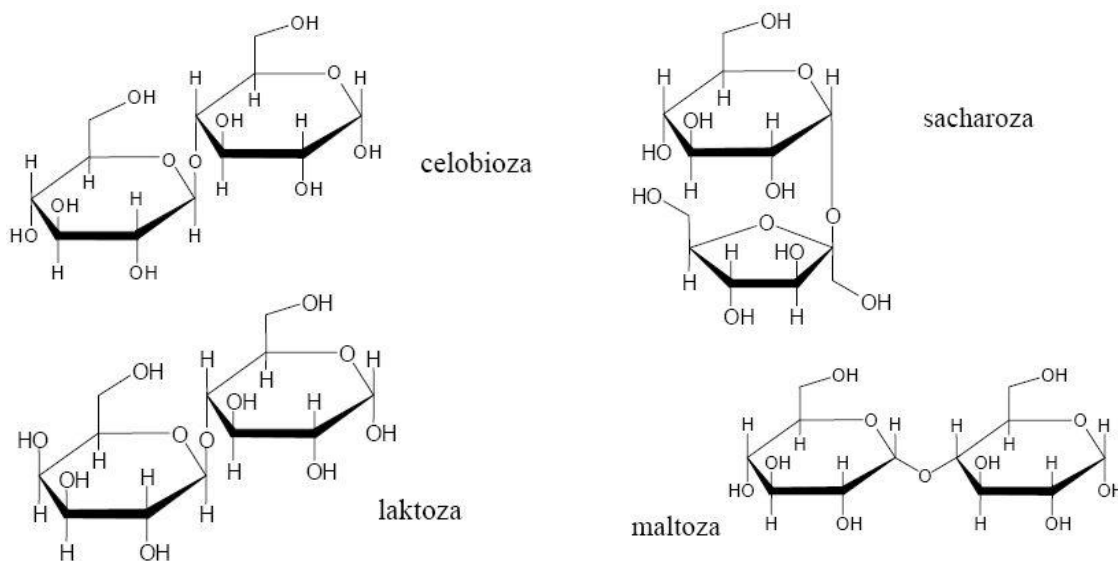
Rysunek 20. Cyklizacja cukrów prostych: glukozy i fruktozy

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki



Rysunek 21. Struktura anomerów glukozy

Dwucukry, lub disacharydy są węglowodanami utworzonymi w wyniku reakcji kondensacji dwóch monosacharydów. Przykładem disacharydów jest: celobioza, maltoza, laktoza i sacharoza (rysunek 22).



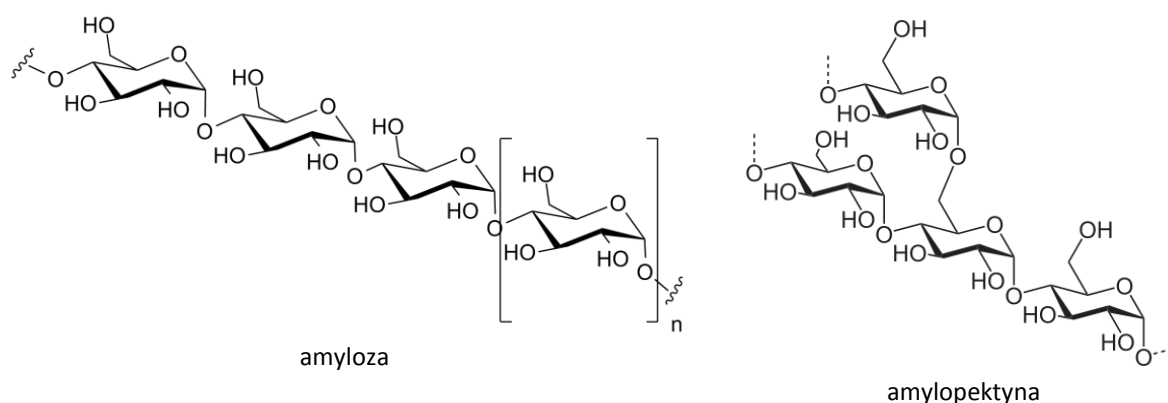
Rysunek 22. Struktura wybranych disacharydów

Disacharydy podobnie jak monosacharydy są rozpuszczalne w wodzie. Disacharydy powstają w wyniku połączenia się dwóch monosacharydów (jednakowych lub różnych cząsteczek) z jednoczesnym usunięciem z powstającego disacharydu cząsteczki wody oraz powstaniem wiązania glikozydowego. W wyniku połączenia więcej niż dwóch monosacharydów powstają oligosacharydy i polisacharydy. Polisacharydy są biopolimerami szeroko rozpowszechnionymi w przyrodzie. Najczęściej stanowią podstawowy materiał budulcowy w roślinach. Druga część tego opracowania poświęcona jest głównie polisacharydom oraz ich właściwościom i zastosowaniom.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

12. Skrobia

Skrobia jest polisacharydem pochodzenia roślinnego. Jest to biopolimer składający się wyłącznie z merów glukozy połączonych wiązaniami α -glikozydowymi. Biopolimer ten pełni w roślinach rolę magazynowania energii. W wyniku hydrolizy skrobi otrzymuje się wyłącznie α -D-glukozę. Skrobia nie jest jednorodnym chemicznie związkem – składa się w rzeczywistości z dwóch frakcji: amylozy i amylopektyny (rysunek 23). Udział poszczególnych frakcji w skrobi jest zależny od jej botanicznego pochodzenia [23].



Rysunek 23. Struktura składowych skrobi: amylozy i amylopektyny

Amyloza jest liniowym polimerem cząsteczek α -D-glukozy powiązanych ze sobą wiązaniami α -(1-4') glikozydowymi zwiniętym dodatkowo w spiralę. Masa cząsteczkowa amylozy wynosi od 30 000 do 60 000 Da (amyloza składa się przeciętnie z 300 do 600 jednostek glukozowych).

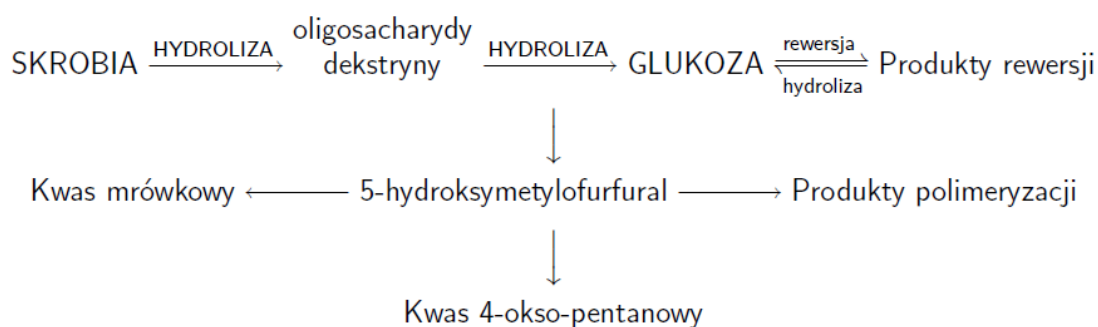
Amylopektyna jest rozgałęzionym polimerem α -D-glukozy o średniej masie cząsteczkowej 400 000 Da (składającym się przeciętnie z 2500 jednostek glukozowych). Są one powiązane ze sobą wiązaniami α -(-4') (prosty łańcuch główny) oraz α -(1-6') i α -(3') (rozgałęzienia).

Skrobia, jako biopolimer zbudowany z powtarzających się jednostek glukozowych ulega, podobnie jak dwucukry i inne oligosacharydy, reakcjom hydrolizy. Hydroliza to rozpad wiązania glikozydowego w środowisku wodnym w obecności katalizatorów kwasowych (hydroliza kwasowa) lub enzymatycznych (hydroliza enzymatyczna), połączony dodatkowo z przyłączeniem cząsteczki wody do każdego zhydrolizowanego wiązania. Reakcja hydrolizy kwasowej skrobi prowadzi do jej depolimeryzacji z utworzeniem D-glukozy oraz wytworzeniem szerokiej grupy produktów pośrednich zawierających więcej niż jedną cząsteczkę glukozy (disacharydy np. maltoza, dekstryny itp.). Bardziej podatny na proces hydrolizy jest polimer nierozgałęziony, a więc amyloza [24,25].

Proces hydrolizy jest reakcją stopniową. W jej pierwszym etapie zachodzi rozpad wiązań wodorowych pomiędzy poszczególnymi łańcuchami polimeru połączony ze wstępną depolimeryzacją. Powoduje to zwiększenie rozpuszczalności polimeru, a co za tym idzie, znaczne obniżenie lepkości. Zainicjowany w ten sposób proces zaczyna przebiegać coraz

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

szybciej z wytworzeniem produktów pośrednich o zróżnicowanej długości łańcuchów czyli dekstryn. Wielkość oraz morfologia dekstryn wynika przede wszystkim z faktu, że procesowi hydrolizy ulegają zarówno cząsteczki amylozy jak i amylopektyny. W miarę wzrostu stężenia glukozy w mieszaninie reakcyjnej, pod wpływem kationów wodorowych, zaczynają zachodzić także różnego rodzaju reakcje wtórne i uboczne, niekorzystnie wpływające na proces hydrolizy. Wśród nich niewątpliwie najważniejsze to rewersja oraz tworzenie 5-hydroksymetylofurfuralu wraz z produktami jego rozkładu lub polimeryzacji (Rysunek 24). Szybkość procesu hydrolizy zależy przede wszystkim od stężenia czynnika katalizującego (kwasu) oraz temperatury procesu. Czynnikiem wpływającym na globalną szybkość hydrolizy jest też budowa, a szczególnie wielkość ziarenek skrobiowych.



Rysunek 24. Reakcje chemiczne zachodzące w trakcie kwasowej hydrolizy skrobi

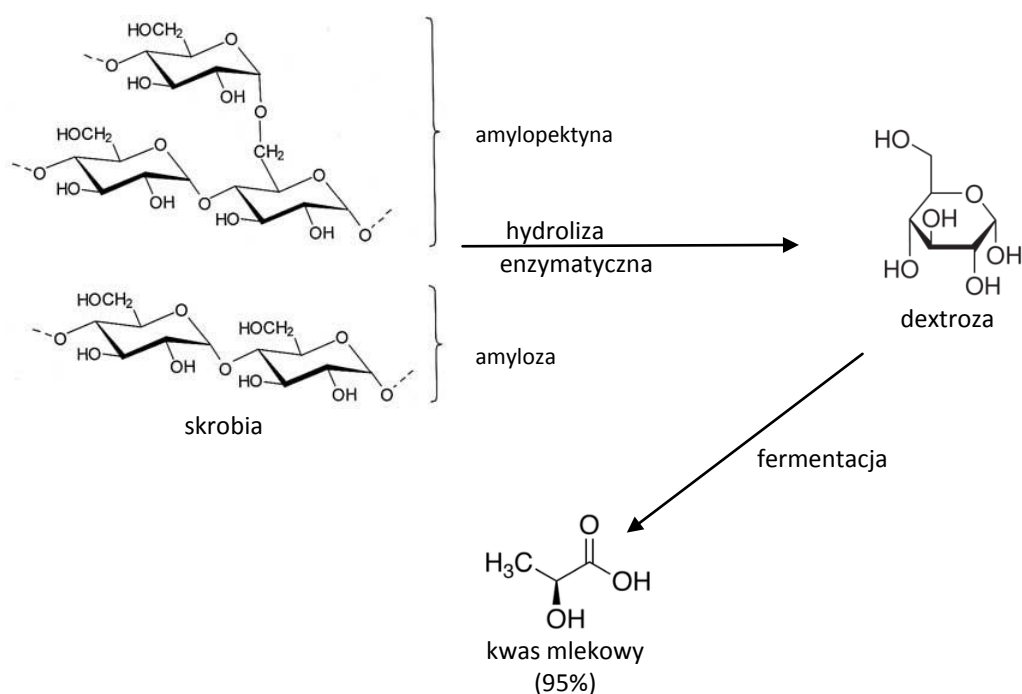
Procesowi hydrolizy może towarzyszyć tzw. reakcja Maillarda prowadząca poprzez stadium zasad Schiff'a do barwnych produktów nazywanych melanoidami. Reakcja Maillarda przebiega między cząsteczką cukru (np. glukozą) oraz aminokwasu. Zwiększona zawartość aminokwasów wynikająca, na przykład z niedokładnego, wstępnego oczyszczenia skrobi, sprzyja temu procesowi, niekorzystnie wpływając na efektywność hydrolizy ze względu na straty glukozy oraz powstawanie trudno usuwalnych barwnych produktów.

Skrobia jest podstawowym surowcem do otrzymywania glukozy na skalę przemysłową oraz tzw. syropu ziemniaczanego i sztucznego miodu. Jest podstawowym środkiem zagęszczającym w przemyśle spożywczym. Poza przemysłem spożywczym skrobia znajduje zastosowanie w przemyśle włókienniczym, kosmetycznym (do wyrobu pudrów i talków), farmaceutycznym (do otrzymywania witamin i antybiotyków), do otrzymywania klejów roślinnych oraz opakowań, które podlegają rozkładowi biologicznemu. Skrobia zawarta w ziemniakach lub nasionach zbóż stanowi podstawowy surowiec do wyrobu alkoholu etylowego. Skrobia jest polimerem biodegradowalnym. Dodana do innych polimerów sprawia, że tworzywa sztuczne z dodatkiem skrobi w bardzo krótkim czasie ulegają biodegradacji. Skrobię można modyfikować na drodze procesów fizycznych, chemicznych lub biochemicznych aby polepszyć jej właściwości użytkowe. Skrobia byłaby dobrym materiałem do produkcji biodegradowalnych opakowań do żywności, gdyby nie fakt, że jest biopolimerem o właściwościach hydrofilowych, chłoniącym duże ilości wody [25].

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

13. Polilaktyd

Polilaktyd inaczej poli(kwas mlekowy), w skrócie PLA (z ang. polylactic acid) jest najbardziej zaawansowanym technologicznie polimerem biodegradowalnym. Otrzymywany jest z naturalnego monomeru jakim jest kwas mlekowy. Kwas mlekowy otrzymuje się na drodze biotechnologicznej wykorzystując skrobię [1,25,26].



Rysunek 25. Hydroliza enzymatyczna skrobi do kwasu mlekowego

Laktydy (heterocykliczne związki organiczne z grupy estrów) otrzymuje się z α -hydroksykwasów w wyniku wzajemnej estryfikacji dwóch cząsteczek tych hydroksykwasów z wydzieleniem dwóch cząsteczek wody (wzór laktydu przedstawia rysunek 26). Ze względu na występowanie chiralnego atomu węgla laktyd występuje w dwóch izomerach optycznych: D i L. Przy syntezie z laktydu pochodzącego z naturalnych źródeł możliwe jest otrzymanie tylko L-polilaktydu oraz D,L-polilaktydu. Homopolimer L-laktydu (LPLA) jest polimerem semikrystalicznym [25].

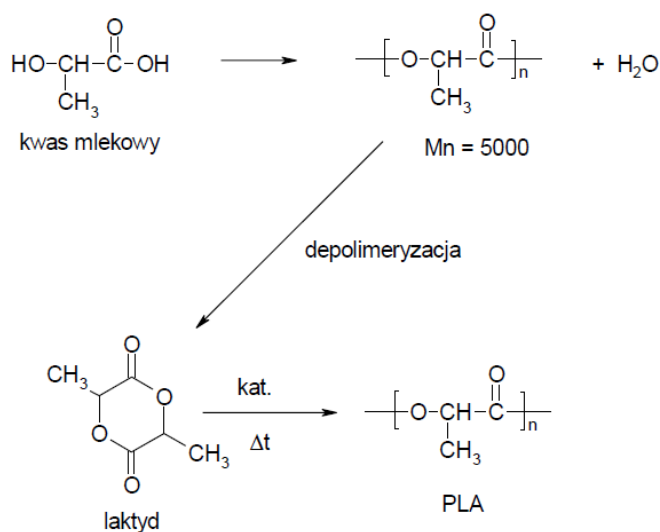
Polilaktyd otrzymuje się dwiema metodami:

- polimeryzacja z otwarciem pierścienia (rysunek 26),
- polikondensacja kwasu mlekowego.

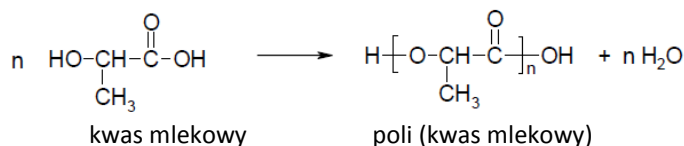
L-polilaktyd wykazuje typowe własności mechaniczne sztywnego termoplastu. Ma też długi czas biodegradacji (do 2 lat).

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

D,L-polilaktyd ma własności mechaniczne podobne do kauczuku i znacznie krótszy czas biodegradacji [27]. Cykliczny monomer otrzymuje się z kwasu mlekowego najpierw przez polikondensację do oligomeru, a następnie prowadząc depolimeryzację połączoną z destylacją pod zmniejszonym ciśnieniem (rysunek 26).



Polimeryzacja laktydu z otwarciem pierścienia.



Rysunek 26. Polikondensacja kwasu mlekowego

PLA jest poliestrem alifatycznym o dużej przezroczystości i połysku, dużej sztywności i łatwym do formowania z wykorzystaniem typowych urządzeń przetwórczych. Wykazuje jednak pewne wady związane ze stosunkowo dużą gęstością (1,25 g/cm³) w porównaniu z polimerami syntetycznymi (np. PP i PS). Jego duża polarność nie pozwala na dobrą adhezję do niepolarnych polimerów (np. PE i PP) w strukturach wielowarstwowych. PLA ma też mniejszą odporność cieplną w porównaniu z innymi polimerami i niekorzystne właściwości barierowe w stosunku do wilgoci i gazów. Polilaktyd jest używany głównie w zastosowaniach biomedycznych do produkcji implantów, nici chirurgicznych i jako nośnik leków. Z PLA mogą być produkowane tekstylia, włókniny rolnicze, sieci rybackie i liny, a także worki na zakupy i odpady kuchenne, laminaty z papierem oraz folie rolnicze. PLA jest również przydatny do produkcji folii stosowanej w przemyśle spożywczym. Prowadzone są intensywne badania nad zastosowaniem polilaktydu jako zamiennika dla poliolefin i innych polimerów pochodzących z nieodnawialnych surowców. Barięą dla zastosowań masowych jest jednak koszt produkcji i przetwarzania tego polimeru [25,26,27].

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

14. Metody badań struktury białek

Do przewidywania struktur białek można stosować metody oparte na bazach danych o strukturze albo ustalić strukturę za pomocą odpowiedniej metody badawczej [18,19,28,29]. Współczesna biologia strukturalna oraz biofizyka białek wykorzystują wiele technik doświadczalnych. Wydaje się jednak, że w dotychczasowym poznaniu trójwymiarowych struktur białek największą rolę odegrała analiza rentgenowska [29]. Drugą podstawową techniką badania struktur przestrzennych cząsteczek białkowych staje się obecnie technika jądrowego rezonansu magnetycznego (skrót angielski NMR i polski JMR) [30]. Te techniki wspomagane są przez cały szereg innych metod, z których najważniejszymi są: metody optyczne (spektrometria fluorescencyjna i absorpcyjna oraz dichroizm kołowy), metody innych odmian rezonansów magnetycznych, takich jak, elektronowy rezonans paramagnetyczny (EPR) oraz podwójny jądrowo-elektronowy rezonans magnetyczny (ENDOR), czy też ostatnio wprowadzona do badań pojedynczych molekuł technika mikroskopii sił atomowych (AFM) wspomagana laserową techniką tzw. szczypczyków optycznych.

Najważniejsze metody badania struktury białek:

1) Krystalografia i dyfrakcja promieni rentgenowskich [29]

Dyfrakcja promieni rentgenowskich dostarcza informacji o strukturze trójwymiarowej tych białek, które udało się zidentyfikować, wyizolować, a następnie wyhodować z nich kryształy odpowiednio dobrej jakości. Krystalografia białek stanowi fundament biologii strukturalnej, a w banku struktur białkowych PDB zgromadzona jest informacja o strukturze przestrzennej około 50 tys. makrocząsteczek. Krystalizacja białek stała się ważną samodzielną dyscypliną naukową dostarczającą obiektów, tj. kryształów makromolekularnych, do badań strukturalnych. Kluczowym ogniwem procesu badania struktury białka metodami krystalograficznymi jest zarejestrowanie obrazu dyfrakcji rentgenowskiej od kryształu białkowego. Polega to na zmierzeniu intensywności, $I(hkl)$, dziesiątków, a nawet setek tysięcy odrębnych promieni dyfrakcyjnych, zwanych refleksami, ugiętych na sieci przestrzennej kryształu. Pomiar dyfrakcyjny w biokrytalografii prowadzi się dziś w temperaturze ciekłego azotu, poprawiającej jakość danych oraz przedłużającej żywotność delikatnych kryształów białkowych. W intensywności refleksów zaszyfrowana jest informacja o strukturze kryształu, tj. o współrzędnych xyz każdego atomu cząsteczki białkowej w przestrzeni. Wzór wiążący strukturę kryształu, $\rho(xyz)$, z jego obrazem dyfrakcyjnym, $I(hkl)$, oparty jest o zwykły szereg Fouriera.

Rozdzielczość rentgenowskiej analizy strukturalnej stale się poprawia i pozwala na precyzyjne określenie położenia zdecydowanej większości atomów w danej cząsteczce białka. Dla wielu wykryzalizowanych białek rozdzielczość ta jest lepsza niż 0,2 nm, co odpowiada prawie 1/2 długości wiązania peptydowego. Coraz częściej do badań strukturalnych białek używane jest promieniowanie synchrotronowe wytwarzane w postaci silnie koherentnej wiązki o bardzo dużym natężeniu. Daje to możliwość bardzo wysokiej rozdzielczości stosowanej metody.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

2) Jądrowy rezonans magnetyczny (NMR) [28,30].

Badania białek za pomocą rentgenowskiej analizy strukturalnej wspomagane są obecnie przez technikę jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR). NMR, w odróżnieniu od rentgenowskich badań prowadzonych na kryształach, pozwala na poznanie trójwymiarowej struktury białek w środowisku bardziej zbliżonym do naturalnego, czyli w roztworach. Ważną zaletą NMR jest także fakt, że ta technika spektroskopowa posługuje się promieniowaniem elektromagnetycznym o stosunkowo niskich energiach od około $1,7 \times 10^{-7}$ eV do około $3,7 \times 10^{-6}$ eV. Ten przedział energii odpowiada falom radiowym o częstościach z zakresu 40-900 MHz. Stosowanie promieniowania elektromagnetycznego o tak niskiej energii w najmniejszym stopniu nie naraża struktury białka na uszkodzenie. Możliwość wygenerowania defektów strukturalnych w badanym białku jest natomiast jednym z podstawowych mankamentów rentgenowskiej analizy strukturalnej wykorzystującej wysokoenergetyczne promieniowanie X.

Metoda NMR wykorzystuje fakt, że część atomów z których zbudowane jest białko wykazuje magnetyzm jądrowy. W szczególności, jądra atomowe zawierające nieparzystą liczbę protonów lub neutronów obdarzone są niezerowym momentem pędu $\mathbf{K} = \hbar \mathbf{I}$, gdzie \mathbf{K} oznacza moment pędu, $\hbar = h/2\pi$, a \mathbf{I} jest spinem jądrowym. Jądra takie wykazują zatem niezerowy moment magnetyczny $\boldsymbol{\mu}$, który może być wyrażony wzorem $\boldsymbol{\mu} = \gamma \hbar \mathbf{I}$, gdzie γ oznacza czynnik giromagnetyczny dla danego jądra. Jeżeli taki układ spinów jądrowych umieści się w silnym zewnętrznym polu magnetycznym \mathbf{B}_0 , nastąpi uporządkowanie jądrowych momentów magnetycznych wzdłuż kierunku pola. Zgodnie z jednym z podstawowych praw fizyki (doświadczenie Sterna i Gerlacha z 1923 roku), momenty magnetyczne jąder ustawią się „równoległe” albo „antyrównoległe” do kierunku pola. Dla jąder atomów wodoru ^1H (protonów), o jądrowym spinie $\mathbf{I} = 1/2$, będzie to odpowiadało dwóm wartościom magnetycznej liczby kwantowej $m_I = +1/2$ oraz $m_I = -1/2$. W ogólności, w zewnętrznym polu magnetycznym, poziomy energetyczne jąder rozszczepiają się na $(2\mathbf{I} + 1)$ podpoziomów różniących się energią $\Delta E = -\gamma \hbar \mathbf{B}_0 \Delta m$, gdzie Δm opowiada różnicy wartości odpowiednich magnetycznych liczb kwantowych m_I . Pojawienie się przerwy energetycznej ΔE między poziomami o różnych jądrowych liczbach magnetycznych w zewnętrznym polu magnetycznym nosi nazwę jądrowego zjawiska Zeemana, a odpowiednie poziomy zwane są poziomami zeemanowskimi. W określonych warunkach doświadczalnych jądrowy układ poziomów zeemanowskich może absorbować energię dostarczoną z zewnątrz. Takie warunki doświadczalne stosowane są właśnie w technice NMR do detekcji jąder atomowych obdarzonych niezerowym spinem. Informacja strukturalna w metodzie NMR pochodzi z precyzyjnego pomiaru tzw. przesunięcia chemicznego (δ), które jest silnie zróżnicowane dla poszczególnych atomów wodoru lub ich ugrupowań w danym białku [28].

W badaniach NMR struktury niektórych białek wykorzystuje się także inne stabilne izotopy, takie jak, np. ^{13}C , ^{14}N , ^{31}P oraz ^{17}O .

Badania struktury białek za pomocą metody NMR napotykają na naturalną trudność wynikającą ze złożonej struktury molekuł białka. Widma protonowe dla większych cząsteczek białka w roztworach mogą być niezwykle skomplikowane (nakładanie się wielu linii).

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

15. Zmiana struktury białek a choroby tkanki łącznej

Całkowita zawartość kolagenu w tkance determinuje jej właściwości mechaniczne, odpowiednie do sprawowanych przez nią funkcji. Wytrzymałość tkanki na przyłożone naprężenie jest również zależna od orientacji włókien. Z wiekiem w kolagenie zachodzą szkodliwe zmiany, objawiające się sztywnieniem stawów, systemu naczyniowego, kruchością tkanek. Główną przyczyną dysfunkcji tkanek w późnym wieku jest wzrost liczby wiązań sieciujących w kolagenie, szczególnie nieenzymatycznych wiązań angażujących glukozę AGEs, skutkujących przemianą kolagenu w odmianę nierozpuszczalną [31].

Kolagen podlega stałej przemianie, czyli metabolizmowi. Podczas dojrzwania i starzenia aktywność metaboliczna kolagenu maleje: zmniejsza się biosynteza kolagenu, co objawia się zmniejszeniem zawartości wolnej hydroksyproliny w tkance, wzrasta zaś jego degradacja [31]. Działalność i wydajność tkanki łącznej zakłócać mogą również czynniki patologiczne. Zaburzenie równowagi pomiędzy syntezą a degradacją kolagenu prowadzi do znaczącego pogorszenia mechanicznej integralności tkanki. Prowadzić może ono między innymi do nadmiernego wytwarzania włókien, związanego ze stwardnieniem danego narządu – marskość wątroby, lub układu – miażdżycy. Podczas takich patologicznych zmian dochodzi do przebudowy tkanki, która wiąże się głównie z ubytkiem elastyny i jej zamianą na kolagen, co skutkuje obniżeniem elastyczności tkanki.

Zaburzenia kolagenu objawiać się mogą:

- niewystarczającą zawartością kolagenu (Zespół Ehlersa-Danlosa, Osteogenesis Imperfecta),
- nadmierną zawartością kolagenu (marskość wątroby, zwłóknienie płuc),
- obecnością kolagenu o niepoprawnej budowie chemicznej bądź morfologicznej,
- nadmiarową lub niewystarczającą resorpcją kolagenu.

Zrozumienie biochemicznych mechanizmów w tworzeniu kolagenu jest niezbędne, ponieważ choroby patologiczne wynikać mogą z błędów na jednym z etapów syntezy. Liczne choroby powiązane zostały z defektami w kolagenie na poziomie molekularnym. Chorobą związaną z upośledzeniem syntezy kolagenu jest skorbut. Pojawia się on przy braku witaminy C w organizmie. Witamina C, czyli kwas askorbinowy, oraz żelazo na drugim stopniu utlenienia niezbędne są do działania enzymów hydroksylazy prolinowej i lizynowej. W przypadku jej braku, syntetyzowany kolagen jest zniekształcony, ulega denaturacji już w temperaturze 24°C [32]. Genetyczny niedobór enzymu hydroksylującego lizynę prowadzi do jednej z form zespołu Ehlersa- Danlosa (typ IV tej choroby), wiążącej się z nadmierną ruchliwością stawów i zniekształceniem kości. Podobnie, genetyczny niedobór peptydazy odpowiedzialnej za przekształcenie prokolagenu w kolagen skutkuje ekstremalnie kruchą skórą u bydła, owiec oraz u ludzi znanej jako typ VII zespołu Ehlersa – Danlosa [33,34,35].

Najczęstszą przyczyną chorób związanych z kolagenem są nieprawidłowości genetyczne. Mutacje prowadzi do zmniejszonej lub zwiększonej syntezy kolagenu, do usuwania aminokwasów z łańcucha czy też ich wbudowywania w łańcuch. Zaburzenia mogą także dotyczyć modyfikacji potranslacyjnej, bądź też bezpośrednio dotyczyć enzymów istotnych dla tej modyfikacji.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Tabela 2. Choroby wywołane mutacją w genach strukturalnych kolagenu

Typ kolagenu	Choroba
Typ I	Osteogenesis imperfecta, zespół Ehlersa-Danlosa typ VIIa
Typ II	Osteoartroza, niektóre typy chondrodysplazji
Typ III	Zespół Ehlersa-Danlosa typ V, Tętniak aorty
Typ IV	Zespół Alporta
Typ V	Zespół Ehlersa-Danlosa typ I i II
Typ VI	Choroba Ullricha
Typ VII	Epidermolysis bullosa
Typ IX	Choroba krążka międzykręgowego
Typ X	Metaphyseal dysplasia, typ Schmida
Typ XI	Otospondylomegaepiphyseal dysplasia, Zespół Marshalla, Zespół Sticklera
Typ XVII	Epidermolysis bullosa

Przyczyną Osteogenesis Imperfecta, czyli choroby łamliwych kości są mutacje punktowe w genach kodujących dwa łańcuchy alfa-1 i alfa-2 kolagenu typu I. Mutacje te powodują podstawienie jednostek glicyny w łańcuchu peptydowym za pomocą innych jednostek, co uniemożliwia utworzenie prawidłowej struktury potrójnej helisy. Choroba dzieli się na kilka typów w zależności od typu aminokwasu podstawionego za glicynę, miejsca mutacji w helisie, bądź rodzaju łańcucha, jakiego ona dotyczy. Przyczyną jednego z typów choroby może być także nadmierna hydroksylacja lizyny. Powstające włókna kolagenowe są nietypowo cienkie, co skutkuje nadmierną łamliwością kości [36].

Ze zmianami w strukturze kolagenu powiązane są choroby degeneracyjne krążka międzykręgowego. Sprawność mechaniczna dysku zależy od integralności włókien kolagenowych i od biochemicznych zmian w kolagenie, które mogą być odpowiedzialne za degenerację. Normalnie beznaczyniowy dysk w zdrowym organizmie może stać się coraz bardziej unaczyniony w chorobie i degeneracji. To zaś prowadzić może do wzmożonego zaopatrywania dysku w tlen i składniki odżywcze, ale może także wprowadzać inne typy komórek i cząsteczek takich, jak cytokiny i czynniki wzrostu [37]. Najbardziej znaczącą biochemiczną zmianą, pojawiającą się podczas degeneracji dysku, jest utrata proteoglikanów. Cząsteczki agrekanu ulegają degradacji, a wówczas ich fragmenty mogą zostać wypłukane z tkanki łatwiej niż większe makrocząsteczki. Wiążąca się z tym utrata mukopolisacharydów odpowiedzialna jest za obniżenie ciśnienia osmotycznego macierzy dysku i dehydratację. Chociaż populacja kolagenu w dysku zmienia się z degeneracją, zmiany te nie są tak oczywiste jak w przypadku proteoglikanów. Całkowita ilość kolagenu zmienia się nieznacznie, ale typy kolagenu i jego rozmieszczenie mogą ulegać zmianie (nastąpić może zmiana w proporcjach kolagenu różnego typu i ich rozmieszczeniu w macierzy pozakomórkowej). Zdegenerowany dysk zawiera mniej wody (przypuszczalnie ze względu na

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

ubytek proteoglikanów) niż dysk zdrowy i pod wpływem obciążenia szybciej traci swoją wysokość i płyny. Dysk ulegać może także wybrzuszeniu pod wpływem obciążenia, co prowadzi do nieodpowiedniej koncentracji naprężeń wzdłuż płytek końcowych lub w pierścieniu. Zmiany w zachowaniu dysku mają silny wpływ na inne struktury kręgosłupa, mogą wpływać na ich funkcje i czynić je podatnymi na urazy.

Choroby wynikające ze zmian w strukturze elastyny.

- SVAS (supravalvular aortic stenosis), czyli *wrodzone przewężenie aorty* jest chorobą wywołaną translokacją lub punktową mutacją w genie kodującym elastynę. W skutek tego cząsteczka tropoelastyny jest krótsza, pozbawiona C-terminalnych domen odpowiedzialnych za sieciowanie i naczynia stają się mniej elastyczne. W rezultacie w trakcie wypływu krwi z lewej komory serca występuje przeszkoda w postaci przewężenia prześwitu naczyń tętniczych. Schorzenie to może występować oddzielnie lub jako jeden z objawów zespołu Williama – choroby upośledzającej prawidłowy rozwój systemu nerwowego i tkanki łącznej u dzieci [38].
- Inną patologią związaną z genem elastyny jest rzadka wada *Cutis laxa* (luźna skóra), to schorzenie spowodowane niedoborem włókien elastynowych (Rysunek 27). Objawia się ono zazwyczaj brakiem elastyczności skóry prowadzącym do jej szybkiego rozciągania się i starzenia. Osoby dotknięte tą chorobą wyglądają bardzo staro jak na swój wiek, a ich skóra zarówno na twarzy jak i w innych miejscach układa się w postaci luźno zwisających fałdów.



Rysunek 27. *Cutis laxa*- schorzenie spowodowane niedoborem włókien elastynowych [39].

- Syndrom Marfana jest to układowe uszkodzenie tkanki mezenchymalnej ze zmianami w układzie kostno-stawowym, w układzie krążenia i w gałkach ocznych. Przyczyną zespołu Marfana jest uwarunkowane genetycznie uszkodzenie włókien sprężystych i zaburzenie w tworzeniu kolagenu oraz tkanki łącznej [40]. Choroba ta dziedziczy się w sposób autosomalny dominujący.
- Nadmierna ilość elastyny występująca w skórze określana jest jako elastoderma. Odkładające się włókna powodują zastępowanie tkanki podskórnej, przy czym ich właściwości różnią się od właściwości normalnej elastyny [38].

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Literatura

- [1] J. F. Rabek. Współczesna wiedza o polimerach. PWN, Warszawa 2008.
- [2] A. Kamińska. Fotodegradacja polimerów naturalnych. w „Fotochemia polimerów, teoria i zastosowanie” pod redakcją J. Pączkowskiego. Wydawnictwo UMK, Toruń 2003 (
- [3] M.C. Martini. Kosmetologia i farmakologia skóry. Wydawnictwo lekarskie PZWL, Warszawa 2006.
- [4] C. R. Robbins. Chemical and Physical Behavior of Human Hair. IV ed., Springer-Verlag, New York, 2002.
- [5] L. Stryer. Biochemia. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2003;
- [6] R.K. Murray, D. K. Granner, P. A. Mayes, V. W. Rodwell. Biochemia Harpera, Wydanie III, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1995.
- [7] A.J. Bailey, R.G. Paul. Collagen: a not so simple protein. J. Soc. Leather Technol. Chem. 1998; **82**: 104-108.
- [8] R. Van der Rest, M. Garrone. Collagen family of proteins. FASEB J. 1991; **5**: 2814-2823.
- [9] M. K. Gordon, R. A. Hahn. Collagens. Cell Tissue Res 2010; **339**: 247-257.
- [10] J. Myllyharju, K. I. Kivirikko. Collagens, modifying enzymes and their mutations in humans, flies and worms. Trends Genet 2004; **20**: 33-43.
- [11] A. Sionkowska. Current research on the blends of natural and synthetic polymers: Review. Progress in Polymer Science, 2011; **36**: 1254-1276.
- [12] [http://www.azonano.com/images/Article_Images/ImageForArticle_2267\(2\).jpg](http://www.azonano.com/images/Article_Images/ImageForArticle_2267(2).jpg)
- [13] M. Sadowska, R. Kotłowski. Fizykochemiczne właściwości kolagenu ryb, świń i bydła, W: Żelatyna. Właściwości – Technologia – Użytkowanie. Red. A. Rutkowski. Polska Izba Dodatków do Żywności. Wyd. APEKS S.C. Konin 1999.
- [14] W. Lasek. Kolagen, chemia i wykorzystanie. WNT, Warszawa 1988.
- [15] K. Bieńkiewicz. Fizykochemia wyprawy skór. WNT, Warszawa 1986
- [16] B. Vrhovski, A. S. Weiss. Biochemistry of tropoelastin, European Journal of Biochemistry 1988; **258**:1-18.
- [17] biomechanicsresearch.blogspot.com/2007/07/det...
- [18] J. Kączkowski. Podstawy biochemii. Wydawnictwo Naukowo–Techniczne, Warszawa 1995.
- [19] P. Karlson. Zarys biochemii, część I. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 1987.
- [20] G.H. Altman, F. Diaz, C. Jakuba, T. Calabro, R.L. Horan, J. Chen, H. Lu, J. Richmond, D.L. Kaplan. Silk based biomaterials. Biomaterials 2003; **24**: 401-416.
- [21] O. Hakimi, D.P. Knight, F. Vollrath, P. Vadgama. Spider and mulberry silkworm silks as compatible biomaterials. Composites, B. 2007; **38**: 324-337.
- [22] A. Sionkowska, J. Kozłowska. Properties and modification of porous 3-D collagen/hydroxyapatite composites. International Journal of Biological Macromolecules 2013; **52**: 250-259.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

- [23] W. Leszczyński. Skrobia – surowiec przemysłowy, budowa i właściwości. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 2004; **500**: 69–98.
- [24] S. Dumitriu. Polymeric Biomaterials. Marcel Dekker Inc., New York, USA, 2002.
- [25] Z. Florjańczyk, S. Penczek. Chemia polimerów. OWPW, Warszawa, 2003.
- [26] A. Duda, S. Penczek. Polilaktyd [poli(kwas mlekowy)]. I: synteza, właściwości i zastosowania. Polimery 2003; **48**: 16-27.
- [27] E. T. H. Vink, K. R. Rabago, D. A. Glassner, P. R. Gruber. Application of life cycle assessment to Nature Works™ polylactide (PLA) production. Polymer Degradation and Stability 2002; **80**: 403-419.
- [28] M. Cieplak, A. Sienkiewicz. “Białka”, artykuł w Encyklopedii Fizyki Współczesnej, Wydawnictwo PWN SA, Warszawa 2004.
- [29] A. M. Brzozowski. Zastosowanie dyfrakcji promieni Roentgena do badań struktury biomolekuł. Struktura białek globularnych, w: Biospektroskopia, t. 1. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1989.
- [30] K. H. Hauser, H. R. Kalbitzer. NMR w biologii i medycynie, Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań, 1993.
- [31] A.J. Bailey, R.G. Paul, L. Knott. Mechanisms of maturation and ageing of collagen, Mechanisms of Ageing and Development 1998; **106**: 1-56.
- [32] W.L. Elliott. Role of vitamin C in collagen biosynthesis and connective tissue health. Journal of Bodywork and Movement Therapies 2002; **6**: 221-224.
- [33] A.J. Hakim, A. Sahota. Joint hypermobility and skin elasticity: the hereditary disorders of connective tissue. Clinics in Dermatology 2006; **24**: 521-533.
- [34] I. Zimmermann-Górska. Nadmierna ruchomość stawów a choroby reumatyczne. Reumatologia 2007; **45**: 397-403.
- [35] A.J. Bailey, C.M. Herbert, M.I.V. Jayson. Collagen of the intervertebral disc, The lumbar spine and back pain. London: Sector Publ., 1976, 327-340.
- [36] S. Viguet-Carrin, P. Garnero, P.D. Delmas. The role of collagen in bone strength. Osteoporosis International 2006; **17**: 319-336.
- [37] E.H. Cassinelli, J.D. Kang. Current understanding of lumbar disc degeneration. Operative Techniques in Orthopaedics 2000; **10**: 254-262.
- [38] L. Dabelle, A.M. Tamburro. Elastin: molecular description and function. The International Journal of Biochemistry and Cell Biology 1999; **31**: 261-272.
- [39] www.lineacorporis.com.pl
- [40] G. Drewa (red.): Genetyka medyczna. Akademia Medyczna im. Ludwika Rydygiera, Bydgoszcz 1992.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Część II

Wykład 1: Polielektrolyty

Polielektrolitami nazywamy polimery, których jednostki strukturalne zawierają jonogenne grupy, zdolne do dysocjacji np. grupy karboksylowe, aminowe [1]. Polielektrolyty możemy podzielić w zależności od typu grupy jonogennej zawartej w jednostce powtarzalnej na: polikwasy, polizasady oraz poliamfolyty. Każdą z tych kategorii można z kolei podzielić na: polielektrolyty naturalne i polielektrolyty syntetyczne. W porównaniu z polimerami naturalnymi, polielektrolyty syntetyczne mają niewielkie znaczenie praktyczne. Natomiast polielektrolyty naturalne spełniają ogromną rolę w przyrodzie. Należą do nich białka, kwasy nukleinowe czy niektóre polisacharydy. Występują one we wszystkich żywych organizmach. Ponadto polielektrolyty możemy podzielić na słabe, (czyli takie w przypadku, których tylko niewielka część cząsteczek ulega procesowi dysocjacji) np. poli(kwasy karboksylowe), poliaminy oraz polielektrolyty mocne np. sole polikwasów, poli(kwasy sulfonowe).

Dysocjacja polielektrolitów:

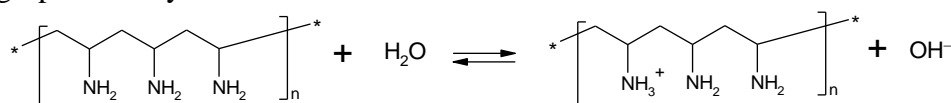
Polikwasy w wyniku dysocjacji elektrolitycznej tworzą po wprowadzeniu do wody *polianiony*. Jako przykład przedstawiona zostanie dysocjacja poli(kwasu akrylowego) (PAA) (rys. 1). Jak możemy zaobserwować rozpuszczony polikwas w wodzie, ulega dysocjacji zgodnie z równaniem, ale tylko niewielka część cząsteczek tego kwasu dysocjuje, ponieważ jest on słabym kwasem. Przebieg dysocjacji tego polielektrolitu możemy przesuwać w prawo lub lewo zgodnie z regułą przekory zmieniając pH roztworu. Dodatek NaOH, powoduje wzrost pH, a stopień dysocjacji jest większy, co powoduje wzrost liczba ładunków ujemny wzdłuż łańcucha polimerowego. Wzrost pH roztworu wpływa na skłębienie łańcucha, który w wyniku odpychania jednoimiennych ładunków rozmieszczonych wzdłuż łańcucha ulega rozkłębieniu.



Rys. 1. Równowaga kwasowo-zasadowa w roztworze wodnym poli(kwasu akrylowego).

W przypadku dodania do roztworu kwasu solnego, następuje spadek pH roztworu, co powoduje cofanie dysocjacji polikwasu i przy pewnej wartości pH dysocjacja jest całkowicie stłumiona i w takich warunkach polielektrolit w wiskozymetrii będzie zachowywał się jak polimer neutralny. W tych warunkach następuje silniejsze skłębienie łańcucha, kłębek jest bardziej upakowany.

Polizasady, to *polikationy* z ładunkami dodatnimi rozmieszczonymi wzdłuż łańcucha np. poliwinylamina (rys. 2). W tym przypadku dodatek NaOH cofa dysocjacje, gdyż musi wówczas ulec zmniejszeniu stężeniu jonów hydroksylowych powstałe w wyniku dysocjacji grup aminowych.

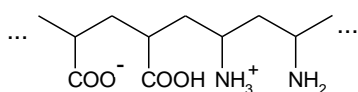


Rys. 2. Równowaga kwasowo-zasadowa w roztworze wodnym poliwinylamina.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Liczba ładunków wzdłuż łańcucha maleje, zatem makrocząsteczka ulega skłębieniu i przy odpowiednio dużym stężeniu zasady, gdy dysocjacja jest całkowicie stłumiona, poliwinylamina zachowuje się jak zwykły polimer neutralny. Dodatek, zaś HCl sprzyja dysocjacji i rozkłębieniu makrocząsteczek. Przykład poliwinylaminy można uogólnić na wszystkie polizasady.

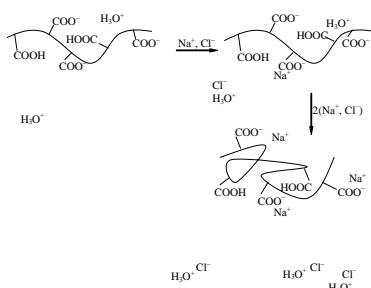
Poliamfolity są polielektrolitami, których jednostki strukturalne zawierają zarówno grupy kwasowe, jak i zasadowe. Przykładem syntetycznego poliamfolitu może być kopolimer kwasu akrylowego i winyloaminy (rys. 3).



Rys. 3. Polijon kopolimeru kwasu akrylowego i winyloaminy.

Dysocjacja poliamfolitów prowadzi do powstania polijonów zawierających zarówno ładunki dodatnie, jak i ładunki ujemne. Wzrost pH sprzyja dysocjacji grup karboksylowych, a cofa dysocjację zasadowych grup aminowych. Przy dostatecznie dużym pH dysocjacja grup zasadowych jest całkowicie stłumiona i poliamfolit staje się polikwasem. Gdy pH maleje, efekt jest odwrotny. Obniżenie wartości pH powoduje, bowiem zwiększenie dysocjacji grup aminowych, a cofnięcie dysocjacji grup karboksylowych. Przy dostatecznie małym pH, poliamfolit staje się w końcu polizasadą. W każdym z wymienionych przypadków następuje rozkłębienie łańcucha, gdyż powstaje więcej jednoimiennych ładunków. Podobnie jest przy dodatku HCl, czyli obniżeniu pH. Istnieje specjalna wartość pH, zwana *punktem izoelektrycznym*, przy którym liczba ładunków dodatnich w cząsteczce równa się licznie ładunków ujemnych. W wyniku kompensacji ładunków dodatnich i ujemnych skłębienie cząsteczki poliamfolitu jest w punkcie izoelektrycznym największe, najbardziej upakowany kłębek. Położenie punktu izoelektrycznego zależy od składu poliamfolitu i dlatego jest on jego charakterystyczną właściwością. Przykładem poliamfolitów są białka, dla których położenie punktu izoelektrycznego jest również charakterystyczne i zależne od składu aminokwasowego białka. Wielkość ta jest bardzo zróżnicowana i zmienia się w przedziale od 2 do 11. Punkt izoelektryczny białek ma kluczowe znaczenie biologiczne.

Wpływ siły jonowej na dysocjacje i skłębienie polielektrolitu.



Rys. 4. Zachowanie makrocząsteczki polikwasu w obecności prostego elektrolitu

Na rysunku 4 pokazano cząsteczkę polielektrolitu, w której występują grupy kwasowe w roztworze wodnym przed dodaniem i po dodaniu soli prostej. Jak można zaobserwować dysocjacji jednej grupy, utrudnia dysocjację następnej będącej w sąsiedztwie grupy już zdysocjowanej. Zwiększenie siły jonowej roztworu przez dodatek np. NaCl, powoduje, że

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

jony dodatnie będą otaczać ładunek ujemny, jony chlorkowe będą dalej, gdyż są odpychane. Obserwuje się wtedy *ekranowanie (osłanianie)* grupy karboksylowej przez jony przeciwnego znaku. Im większe stężenie soli, tym większa jest siła jonowa i tym skuteczniejsze ekranowanie jonów karboksylanowych przez odpowiednie kationy soli. To ekranowanie ułatwia dyfuzję jonów H_3O^+ , powstałych w wyniku dysocjacji, oraz odrywanie się protonów od jeszcze niezdysojowanych grup karboksylowych. Zatem ze wzrostem stężenia małowcząsteczkowej soli w roztworze słabego polikwasu obserwuje się wzrost mocy tego polikwasu. Jednak przy pewnym, krytycznym stężeniu soli, następuje jego wytrącenie (tzw. wysolenie) z roztworu. Podobnie jest, jeśli do roztworu zawierającego cząsteczki polizasady doda się pewną ilość soli, to zwiększając siłę jonową roztworu powoduje się dodatkowe ekranowanie zjonizowanych grup zasadowych jonami przeciwnego znaku i ułatwia dyfuzję jonów hydroksylowych. Obserwowana wówczas moc słabej zasady wzrasta. Wzrost siły jonowej wpływa też na skłębianie polijonów, gdyż zwiększając efektywność ekranowania zjonizowanych grup jonami o przeciwnym znaku, powoduje się zmniejszenie sił odpychania elektrostatycznego między tymi grupami i skłębianie polijonów. Przy dostatecznie dużej sile jonowej ekranowanie zjonizowanych grup polielektrolitów jest tak znaczne, że odpychanie elektrostatyczne między tymi grupami zostaje całkowicie stłumione i warunki skłębiania są wówczas takie same, jak w przypadku polimeru neutralnego. Takie zachowanie się polielektrolitów w roztworach o odpowiednio dużej sile jonowej umożliwia pomiar właściwości ich roztworów, które służą następnie do określania ich ciężaru cząsteczkowego czy innych wielkości.

Wykład 2: Średnia masa cząsteczkowa i metody jej oznaczenia

Masa molowa związku chemicznego wyrażona g/mol jest pojęciem jednoznacznym i ściśle określonym dla czystych związków chemicznych. Bez trudu znajdziemy w kalendarzu chemicznym masy molowe związków małowcząsteczkowych, ale nie ma tam mas molowych polimerów. Polimery, to związki wielkocząsteczkowe, których cechą charakterystyczną w odróżnieniu od związków małowcząsteczkowych jest, to że składają się z wielu powtarzających się jednostek strukturalnych zwanych merami lub jednostkami monomerycznymi. Polimery składające się z identycznych cząsteczek nazywamy *monomolekularnymi*. Z reguły produkt polimeryzacji nie jest czystym związkiem chemicznym, lecz mieszaniną wielu homologów polimerowych różniących się stopniem polimeryzacji. O takim polimerze mówimy, że jest *polimerem polimolekularnym* [1]. Dlatego też, w przypadku polimerów możemy mówić tylko o średniej masie molowej, gdyż analizowana próbka polimeru składa się właśnie z cząsteczek o różnym stopniu polimeryzacji. Średnia masa molowa jest cechą charakterystyczną danej próbki polimeru, dlatego oznaczenie mas molowych w chemii polimerów jest czynnością podstawową. Ogólny wzór masy molowej ma postać następującą:

$$\bar{M}_\beta = \frac{\sum_{x=1}^{\infty} M_x^\beta N_x}{\sum_{x=1}^{\infty} M_x^{\beta-1} N_x}; \quad (1)$$

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

gdzie: N_x – liczba moli homologu o stopniu polimeryzacji x , M_x – masa molowa homologu, β – rząd średniej.

Z tego wzoru otrzymujemy wzory pochodne średnich mas.

Liczbowo średnia masa molowa, Wagowo średnia masa molowa, Zet średnia masa molowa

$$\beta=1, \quad \bar{M}_n = \frac{\sum_{x=1}^{\infty} M_x N_x}{\sum_{x=1}^{\infty} N_x}; \quad (2) \quad \beta=2, \quad \bar{M}_w = \frac{\sum_{x=1}^{\infty} M_x^2 N_x}{\sum_{x=1}^{\infty} M_x N_x}; \quad (3) \quad \beta=3, \quad \bar{M}_z = \frac{\sum_{x=1}^{\infty} M_x^3 N_x}{\sum_{x=1}^{\infty} M_x^2 N_x}; \quad (4)$$

Pomiędzy tymi średnimi zachodzi następująca zależność:

$$\bar{M}_n < \bar{M}_w < \bar{M}_z < \dots \quad (5)$$

W przypadku próbki monomolekularnej wszystkie średnie byłyby sobie równe. Wówczas zanika także pojęcie średniej masy molowej.

Wzory średnich mas molowych należy uzupełnić jeszcze o wzór lepkościowo średniej masy molowej (inna nazwa wiskozymetrycznie średnia masa molowa).

$$\bar{M}_v = \left(\frac{\sum_{x=1}^{\infty} N_x M_x^{1+a}}{\sum_{x=1}^{\infty} N_x M_x} \right)^{1/a} \quad (6)$$

Spośród wszystkich spotykanych średnich mas molowych polimerów, średnia ta zajmuje szczególne miejsce. Związane to jest z tym, że występująca w niej stała a , która jest funkcją dobroci rozpuszczalnika. Dla polimerów o strukturze linowej wartości a mieszczą się zwykle w granicach od 0,5 w złym termodynamicznie rozpuszczalniku do 1,0 w bardzo dobrym termodynamicznie rozpuszczalniku. Gdy stała $a=1$, to wzór definiujący \bar{M}_v stają się identyczne z wzorem wagowo średnich mas molowych. Zatem $\bar{M}_v = \bar{M}_w$, a gdy $a > 1$ to $\bar{M}_v > \bar{M}_w$.

Tabela 1 Metody stosowane do oznaczenia średnich mas molowych [1].

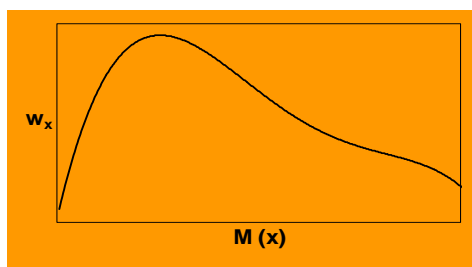
<i>Metoda</i>	<i>Rodzaj \bar{M}</i>	<i>Zakres \bar{M}</i>	<i>Komentarz</i>
Ebulimetria/Kriometria	\bar{M}_n	$10^2 \leq \bar{M} \leq 10^4$	czułość maleje, gdy $M \uparrow$
Metoda grup końcowych	\bar{M}_n	$10^2 \leq \bar{M} \leq 10^4$	czułość maleje, gdy $M \uparrow$
Osmometria	\bar{M}_n	$10^4 \leq \bar{M} \leq 10^6$	czułość maleje, gdy $M \uparrow$
Nefelometria	\bar{M}_w	$10^5 \leq \bar{M} \leq 10^7$	czułość maleje, gdy $M \downarrow$
Wiskozymetria	\bar{M}_v	$10^4 \leq \bar{M} \leq 10^7$	metoda względna

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Metody eksperymentalne oznaczenia średnich mas molowych opierają się na pomiarach fizycznych właściwości roztworów, które zależne są od masy molowej substancji rozpuszczonej. Wzory, z których korzystamy przy tych metodach odnoszą się do roztworów idealnych. Aby je wykorzystać wykonuje się pomiary przy różnych malejących stężeniach roztworów i przeprowadza się ekstrapolację do $c=0$. Tabela 1 pokazuje zestawienie metod stosowanych do oznaczenia mas wraz z rodzajem średniej oznaczanej daną metodą. Metody osmometryczne, grup końcowych, ebulliometria, nefelometria są metodami absolutnymi, gdyż umożliwiają oznaczenie masy molowej na podstawie samego pomiaru bez stosowania dodatkowych wzorców. Natomiast w metodach względnych wymagane jest cechowanie układu pomiarowego za pomocą substancji wzorcowych, o znanych wartościach mas cząsteczkowych wyznaczonych metodami bezwzględными. Do tej grupy metod należy wiskozymetria, gdzie cechowanie polega na wyznaczeniu stałych K i a z równania Marka - Houwinka. Ponadto polimery charakteryzuje się również za pomocą *stopnia polimolekularności* nazywanego też *stopniem polidispersji*. Termin polimolekularności dotyczy rozrzutu mas cząsteczkowych poszczególnych homologów obecnych w próbce polimeru. Stopień polidispersji $P_{\beta/\beta'}$ jest to stosunek dwóch średnich mas molowych.

$$P_{\beta/\beta'} = \bar{M}_{\beta} / \bar{M}_{\beta'}; \beta' < \beta \quad (7)$$

Najczęściej rozważa się stosunek wagowo średniej masy molowej do liczbowo średniej masy molowej; rzadziej zet średnie do liczbowo średniej czy stosunek dwóch średnich lepkościowych oznaczonych w rozpuszczalnikach 1 i 2 o różnej dobroci termodynamicznej. Dla monomolekularnego polimeru każdy z tych stosunków równa się jedności. Im bardziej ta różnica odbiega od zera tym większa jest polimolekularność polimeru. Pełna charakterystyka mas cząsteczkowych wymaga znajomości nie tylko ich średniej masy molowej, ale także rozkładu mas cząsteczkowych. Ilościową ocenę polidispersyjności dokonuje się na podstawie krzywych rozrzutu mas cząsteczkowych, które przedstawiają udziały poszczególnych homologów w próbce polimeru (rys. 5). Krzywe takie otrzymuje się metodą frakcjonowania próbki polimeru lub w sposób analityczny wykorzystując do tego chromatografię żelową (GPC).



Rys. 5. Wagowa krzywa rozrzutu mas cząsteczkowym.

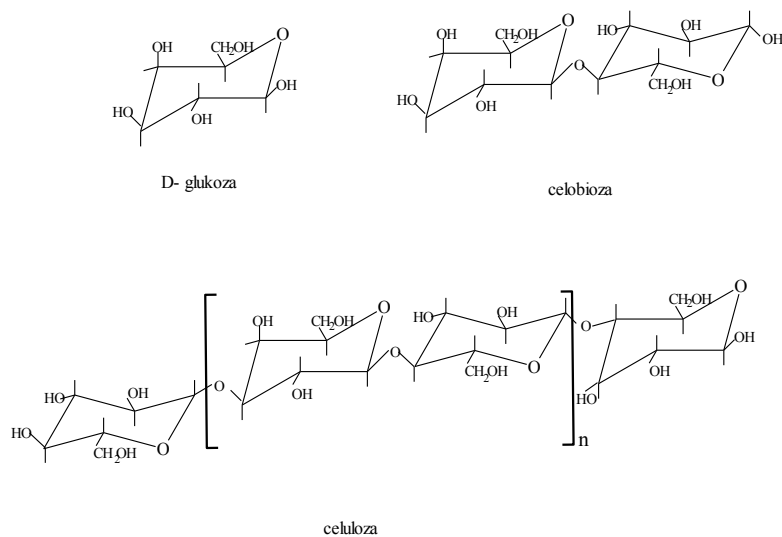
Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Na wartość uzyskanych średnich mas cząsteczkowych mają wpływ, także zanieczyszczenia. W próbce polimerowej mogą być obecne dwa rodzaje zanieczyszczenia: małocząsteczkowe i wielkocząsteczkowe. Przez zanieczyszczenia małocząsteczkowe rozumiemy nieprzereagowany monomer, dodatki technologiczne takie jak pigmenty, katalizatory czy stabilizatory. Ten rodzaj zanieczyszczeń ma wpływ na oznaczenie liczbowo średniej masy cząsteczkowej. Dlatego też przed oznaczeniem tego rodzaju średniej próbkę należy poddać oczyszczaniu np. dializie. Drugi rodzaj zanieczyszczeń stanowią zanieczyszczenia wielkocząsteczkowe związane z obecnością w próbce usieciowanych żeli czy kurzu. Zanieczyszczenia te wpływają na wartość oznaczanej wagowo średniej masy cząsteczkowej i wiskozymetrycznie średniej masy cząsteczkowej. W takim wypadku próbkę pod oznaczeniem tych średnich, również należy oczyścić z tego typu zanieczyszczeń np. przez filtrację.

Wykład 3: *Celuloza*

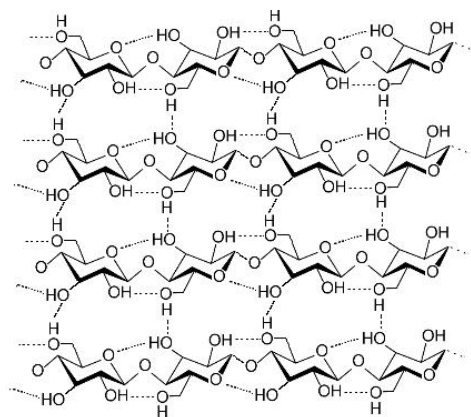
Celuloza należy do grupy polisacharydów roślinnych i jest najbardziej rozpowszechnionym w przyrodzie polimerem naturalnym. W organizmach żywych pełni role strukturalne, a nie odżywcze. Polimer ten powstaje z dwutlenku węgla i wody w złożonym procesie fotosyntezy. Szacuje się, że w ciągu roku na Ziemi syntezowanych jest około 10^{12} ton celulozy [2]. Celuloza tworzy długie liniowe, nierozgałęzione łańcuchy, składające się z reszt β -D-glukopiranozowych połączonych wiązaniem β -1,4-glikozydowym utworzonym między atomami węgla C1 a C4 sąsiadujących ze sobą merów (rys. 6). Każda reszta glukopiranozy w łańcuchu obrócona jest w stosunku do poprzedniej o kąt 180° wokół osi łańcucha celulozowego. W związku z tym powtarzająca się jednostka strukturalna jest resztą celobiozową. Struktura pojedynczego łańcucha polimerowego stabilizowana jest poprzez wiązania wodorowe między atomem tlenu z pierścienia, a grupą hydroksylową przy atomie węgla C3. Ponadto wiązania wodorowe tworzą się również pomiędzy poszczególnymi łańcuchami (rys.7). Tak budowa powoduje dużą sztywność cząsteczki celulozy i bardzo słabą rozpuszczalność. Średni stopień polimeryzacji określający liczbę reszt glukozowych w łańcuchu polimerowym, waha się w szerokich granicach: 2000 do 10000, przy czym najczęściej jego wartość wynosi 4000-6000 [3]. Celuloza ma budowę krystaliczną. Badania rentgenograficzne wykazały, że kryształ ma charakter jednoskośny o wymiarach pokazanych na rysunku 8. Makročąsteczki nie tworzą regularnych kryształów, ale obszary bardziej i mniej uporządkowane, bez wyraźnie zarysowanej granicy między nimi. Wzajemny stosunek obszarów krystalicznych i amorficznych wyznacza stopień krystaliczności celulozy. Dla celulozy rodzimej (celuloza I) jego przecięta wartość wynosi 70%. Jednak różne surowce celulozowe posiadają różne wartości tego parametru np. stopień krystaliczności celulozy w bawełnie jest znacznie wyższy niż w drewnie.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki



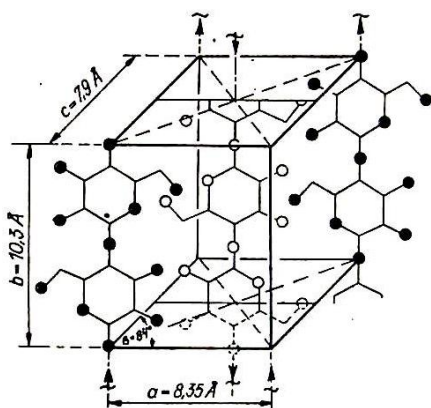
Rys. 6. Budowa jednostki powtarzalnej celulozy.

Stopień krystaliczności wpływa w dużym stopniu na właściwości fizykochemiczne materiałów celulozowych i ulega zmianie pod wpływem czynników chemicznych i mechanicznych. Im większy stopień krystaliczności tym większa wartość wytrzymałości na rozerwanie, sprężystość, twardość, a maleje giętkość, rozciągliwość i zdolność pęcznienia.



Rys. 7. Oddziaływania międzycząsteczkowe w celulozie.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki



Rys. 8. Budowa komórki elementarnej celulozy [3].

Celuloza występuje w kilku odmianach polimorficznych, które są oznaczane cyframi rzymskimi i różnią się rodzajem sieci, układem wiązań wodorowych oraz ułożeniem łańcuchów celulozowych względem siebie. Najczęściej spotykaną odmianą jest celuloza I zwana także rodzimą, która zawiera równoległe ułożone łańcuchy. Z kolei celuloza II jest najbardziej stabilną termodynamicznie odmianą o przeciwrównoległym ułożeniu łańcuchów i mniejszej wytrzymałości.

Naturalnymi źródłami celulozy są różnego rodzaju rośliny tj. drewno, bawełna, len, konopie. Surowce te różnią się między sobą zawartością celulozy i czystością. Poza tym celulozę można otrzymać na drodze chemicznej i enzymatycznej. Bardzo ważną odmianą celulozy jest celuloza bakteryjna, otrzymywana w procesie hodowli gram ujemnych bakterii octowych *Acetobacter xylinum* [4,5]. Tempo syntezy może być znaczne, gdyż pojedyncza komórka *Acetobacter xylinum* zdolna jest wyprodukować 200 000 makrocząsteczek celulozy w czasie zaledwie jednej sekundy. W procesie tym powstają znacznie dłuższe i mocniejsze włókna, a ich struktura nadcząsteczkowa może być kształtowana w znacznym stopniu na etapie syntezy. Ten typ celulozy charakteryzuje się dużą czystością (zawartość α -celuloza >99.5%), biokompatybilnością, dużym stopniem krystaliczności, wysoką wytrzymałość mechaniczną, elastycznością i porowatością. Dlatego też materiał ten wykorzystuje się w specjalnych aplikacjach w medycynie, elektronice czy przemyśle papierniczym. Ponadto, celuloza bakteryjna wykazuje dobre właściwości, jako biomateriał opatrunkowy przydatny w leczeniu ran, rekonstrukcji skóry i innych organów. Ograniczeniem stosowania tego polimeru jest jednak wysoka cena (ok. 100 razy większa) w stosunku do celulozy pozyskiwanej tradycyjnie z roślin [6]. W przypadku celulozy roślinnej właściwości fizykochemiczne i użytkowe zależą przede wszystkim od struktury i pochodzenia celulozy. Podstawowym parametrem związanym ze strukturą jest stopień polimeryzacji często przeliczany na odpowiedni rodzaj ciężaru cząsteczkowego. Stopień polimeryzacji celulozy wywiera duży wpływ na właściwości mechaniczne. Gdy jest on mniejszy od 100 celuloza nie wykazuje wytrzymałości

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

mechanicznej i nie ma właściwości włóknotwórczych. Wytrzymałość mechaniczna znacznie wzrasta ze wzrostem stopnia polimeryzacji i może dochodzić 100kG/mm^2 [3]. Właściwości chemiczne celulozy związane są przede wszystkim z jej strukturą czyli budową jednostki powtarzalnej, która zawiera trzy grupy hydroksylowe o charakterze alkoholowym, istnienie wiązań glikozydowych pomiędzy merami oraz obecnością w łańcuchu ogniw końcowych o odmiennym od pozostałych jednostek strukturalnych składzie i charakterze. Trzy wolne grupy alkoholowe (jedna pierwszorzędowa przy C6 i dwie drugorzędowe przy C2 i C3) nadają dużą reaktywność chemiczną celulozie, która ulega łatwo reakcjom estryfikacji, eteryfikacji oraz acylowania, dzięki czemu otrzymuje się pochodne celulozy. Ponadto celuloza ulega również hydrolizie zarówno w środowisku zasadowym jak i kwaśnym, a znajdujące się na końcach łańcucha grupy aldehydowe są podatne na utlenianie jak i redukcję. Hydroliza celulozy prowadzi do rozerwania acetalowych wiązań i przyłączenia cząsteczki wody. Podatność na działanie hydrolityczne jest odwrotnie proporcjonalna do stopnia polimeryzacji i stopnia krystaliczności. Proces ten prowadzi do degradacji celulozy poprzez polisacharydy o mniejszym stopniu polimeryzacji, oligosacharydy do glukozy. Hydroliza towarzyszy wielu procesom technologicznym związanym z produkcją materiałów celulozowych. Zazwyczaj jest to proces niepożądany, który powoduje spadek masy, wytrzymałości materiału. Jednak może być on wykorzystany do celów konstruktywnych np. do regulacji masy cząsteczkowej celulozy. Najważniejszym zastosowaniem celulozy jest produkcja włókien i folii celulozowych dla przemysłu opakowaniowego, papierniczego, spożywczego czy medycyny. W kosmetyce wykorzystuje się mikrokrystaliczną celulozę, którą można otrzymać przez częściową hydrolizę. Znajduje ona zastosowanie, jako stabilizator emulsji oraz czynnik wiążący, który zapobiega rozdzielaniu się stałych i ciekłych składników receptury.

Wykład 4: Pochodne celulozy

Z powodu ograniczonej rozpuszczalności celulozy, zakres jej stosowalności znacznie się poszerza, wtedy, gdy przeprowadzimy jej modyfikację do odpowiednich pochodnych. Tak jak wspomniano wcześniej obecność wolnych grup hydroksylowych nadaje jej zdolność do ulegania reakcjom podstawienia [3]. Właściwości otrzymanych pochodnych zależą od:

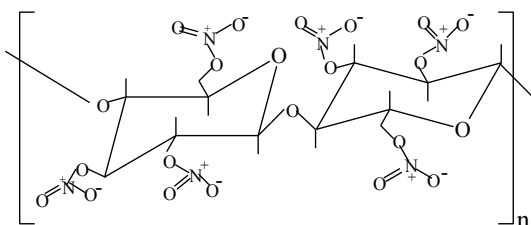
- ✓ rodzaju podstawionej grupy,
- ✓ stopnia podstawienia,
- ✓ stopnia polimeryzacji i polimolekularności,
- ✓ rozmieszczenia podstawnika, które wiąże się z typem przeprowadzonej reakcji oraz reaktywnością danej grupy hydroksylowej.

Wśród całej gamy pochodnych największe znaczenie praktyczne mają estry i etery celulozy. Uzyskuje się je podczas reakcji estryfikacji i eteryfikacji w trakcie, których wprowadzenie

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

podstawnika do celulozy następuje po uprzednim rozerwaniu mostków wodorowych oraz rozluźnienia struktury masy celulozowej poddawanej reakcji.

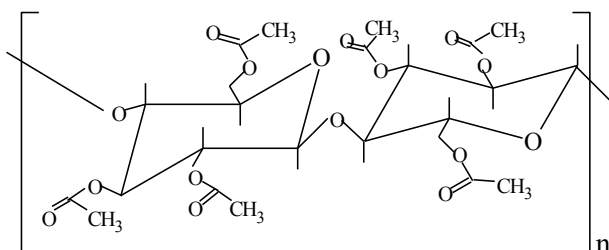
Estry celulozy otrzymujemy w reakcjach z kwasami mineralnymi i organicznymi [7]. Największe znaczenie mają azotany i octany celulozy. Azotany celulozy (nitroceluloza (NC)) (rys. 9) otrzymuje się w reakcji kwasu azotowego (V) z udziałem kwasu siarkowego (VI), który wiąże wydzielającą się w wyniku reakcji wodę oraz ułatwia wnikanie kwasu azotowego (V) w głąb celulozy. Stopień podstawienia celulozy w tym procesie reguluje się przez dobór odpowiedniego stosunku kwasów i wody w mieszaninie nitrującej.



Rys. 9. Budowa azotanu celulozy.

Rozpuszczalność, lepkość roztworu oraz inne właściwości nitrocelulozy zależą głównie od stopnia polimeryzacji celulozy, stopnia podstawienia i rozmieszczenia podstawników. Azotany o dużej zawartości azotu rzędu 12-13,5% i stopniu polimeryzacji ok. 2000 stosuje się jako materiały wybuchowe, natomiast o mniejszej zawartości azotu rzędu 11-12% i stopniu polimeryzacji ok. 200-500 głównie do wyrobu lakierów, klei, a także tworzyw termoplastycznych typu celuloid.

Octan celulozy (acetyloceluloza (CA)) (rys. 10) otrzymuje się najczęściej działając na celulozę poddaną wstępnej aktywacji bezwodnikiem octowym w obecności kwasu octowego i niewielkiej ilości katalizatora, którym jest kwas siarkowy (VI). Acetylację celulozy można również przeprowadzić chlorkiem acetylu i ketenem ($H_2C=CO$).



Rys. 10. Budowa octanu celulozy.

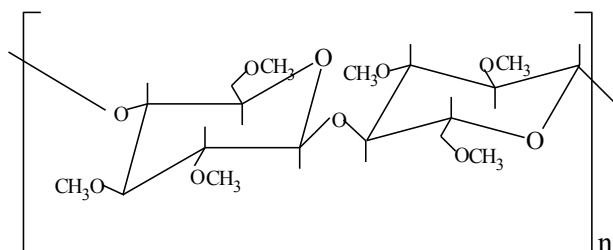
Zastosowania octanu celulozy zależą od zawartości związanego kwasu octowego i tak: octan o zawartości kwasu ok. 55% służy głównie do produkcji włókien sztucznych, o zawartości

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

52-53% związanego kwasu octowego do wyrobu lakierów i tworzyw sztucznych, a o zawartości 58-61% do wyrobu filmów i folii.

Etery celulozy otrzymuje się przez działanie na specjalnie spreparowaną celulozę nazywaną alkalicelulozą haloidkami lub siarczanami odpowiednich alkali lub alkiloaryli. *Alkaliceluloza* jest spęczniałą i częściowo rozpuszczoną celulozą, którą uzyskuje się w procesie merceryzacji przez działanie na celulozę 16-18% wodorotlenkiem sodu. Przebieg tego procesu i postać alkalicelulozy zależy od stężenia NaOH, czasu trwania procesu oraz temperatury. Przemiana ta wiąże się ze zmianą składu chemicznego, struktury krystalicznej oraz właściwości celulozy. Etery celulozy znajdują najszersze zastosowanie, jako lakiery, środki wiążące, emulgatory, powłoki izolacyjne i koloidy ochronne. W przypadku tych pochodnych już nawet niewielki stopień podstawienia nadaje nowe właściwości tym substancjom, np. zwiększenie hydrofilowości, odporność na działanie drobnoustrojów, zwiększenie odporności chemicznej i termicznej, poprawa właściwości mechanicznych. Do przedstawicieli tych pochodnych należą: metyloceluloza, karboksymetyloceluloza, hydroksyetyloceluloza.

Metylocelulozę (MC) (rys. 11) otrzymuje się w wyniku eteryfikacji alkalicelulozy z chlorkiem lub jodkiem metylenu oraz dodatkowo z tlenkiem etylenu lub tlenkiem propylenu. Obecność tlenu etylenu podwyższa charakter hydrofilowy metylocelulozy, natomiast obecność tlenu propylenu zwiększa charakter hydrofobowy metylocelulozy.

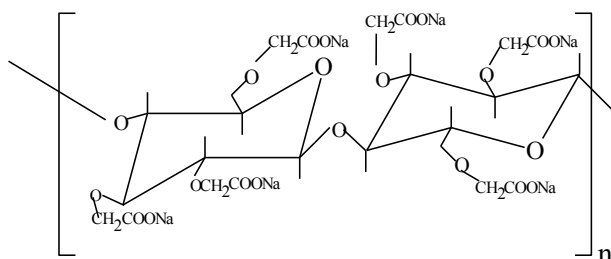


Rys. 11. Budowa metylocelulozy.

Metyloceluloza charakteryzuje się dobrą rozpuszczalnością w zimnej wodzie i brakiem rozpuszczalności w gorącej wodzie z związku z procesem żelowania. Tworzy stabilne roztwory w zakresie pH 2-11 o charakterze pseudoplastycznym, obniża również napięcie powierzchniowe wody, dzięki charakterowi niejonowemu jest niewrażliwa na działanie elektrolitów. Stosowana jest głównie, jako regulator konsystencji i zagęstnik w preparatach kosmetycznych, stabilizator emulsji oraz emulgator i koloid ochronny.

Karboksymetyloceluloza (NaCMC) to sól sodowa kwasu celulozoglikolowego (rys. 12). Otrzymuje się ją w wyniku działania chlorooctanu sodu na alkalicelulozę [8,9].

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki



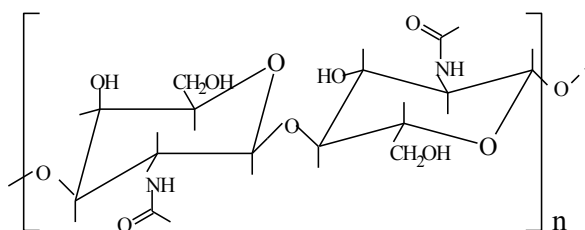
Rys. 12. Budowa karboksymetylocelulozy (sól sodowa).

Sól sodowa karboksymetylocelulozy jest białą, bezpostaciową substancją, rozpuszczalną w zimnej i gorącej wodzie, tworzy stabilne roztwory w zakresie pH 4-11, przy czym w roztworze wodnym jest polielektrolitem (polikwas). NaCMC jest wrażliwa na działanie celulozy – enzymu degradującego celulozę. Karboksymetylocelulozę stosuje się, jako substancję emulgującą w przemyśle naftowym i cementowym, jako dodatek do detergentów, jako środek pomocniczy w przemyśle włókienniczym i papierniczym. NaCMC jest również stosowana w rolnictwie do kondycjonowania gleby i koagulacji mętnej wody przemysłowej.

Wykład 5: Chityna

Chityna, poli(β -(1,4)-2-acetamido-2-deoksy-D-glukopiranoza), jest drugim najbardziej rozpowszechnionym polisacharydem po celulozie na Ziemi, wytwarzanym na drodze biosyntezy [10]. Szacuje się, iż co roku na drodze biosyntezy wytwarzanych jest ok. 1 mln ton tego biopolimeru w przyrodzie. Ze względu na coraz większe zainteresowanie chityną i jej pochodnymi, na świecie produkuje się ok. 3000 ton tego polimeru rocznie. Chityna należy do polisacharydów zwierzęcych, gdyż występuje głównie w szkielecie zewnętrznym owadów i pancerzach skorupiaków oraz ścianach komórkowych, niektórych grzybów, drożdży czy pleśni. Ten biopolimer składa się z reszt N-acetyloglukozoaminy, powiązanych wiązaniem β -1,4-glikozydowym. Podobnie jak celuloza, tworzy długie, proste łańcuchy, pełniąc rolę strukturalną i ochronną. Różnica pomiędzy budową celulozy, a chityny polega na zastąpieniu przy atomie węgla C2 grupy hydroksylowej acetylowaną grupą aminową (rys. 13). Zmiana atomu tlenu na atom azotu w chitynie powoduje większą wytrzymałość mechaniczną chityny w porównaniu do celulozy. Wynika to bezpośrednio z silniejszych oddziaływań międzycząsteczkowych pomiędzy łańcuchami. Chityna posiada stosunkowo wysoki ciężar cząsteczkowy. W przypadku wiskozymetrycznie średniego ciężaru waha się on w przedziale 100000 - 600000 (Da).

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki



chityna

Rys. 13. Budowa jednostki powtarzalnej chityny.

Chityna występuje w trzech odmianach polimorficznych: α -chityna, β -chityna, γ -chityna. Każda z tych odmian różni się przede wszystkim ułożeniem łańcuchów w obszarze krystalicznym (rys. 14).



Rys. 14. Ułożenie łańcuchów polimerowych w trzech odmianach chityny.

W przypadku α -chityna mamy do czynienia z antyrównoległym ułożeniem łańcuchów polimerowych. Ten rodzaj uporządkowania jest preferowanych w wypadku bardzo silnych oddziaływań międzycząsteczkowych poprzez wiązania wodorowe. α -chityna jest najbardziej rozpowszechnioną i stabilną formą chityny. W β -chitynie łańcuchy polimerowe są ułożone równolegle, dzięki czemu komórka elementarna składa się tylko z jednego łańcucha. Oddziaływania międzycząsteczkowe przy takim ułożeniu są dużo słabsze niż w poprzedniej odmianie polimorficznej. β -chitynę można również przekształcić przez odpowiednią obróbkę w roztworze kwasu mrówkowego lub 6M HCl do α -chityny. Ostatnia odmiana, γ -chityna posiada komórkę elementarną złożoną z trzech łańcuchów. Łańcuch centralny jest skierowany antyrównolegle do dwóch pozostałych. Jest to najrzadziej występująca odmiana polimorficzna chityny w przyrodzie. Każda z tych form różni się ciężarem cząsteczkowym. Największy jest w przypadku α -chityny, a najmniejszy dla γ -chityna. α -chityna występuje w pancerzach krabów, krewetek oraz w gąbce morskiej. Natomiast β -chityna w szkielecie kalmarów i mątw. Chityna posiada charakter hydrofobowy. Z powodu silnych oddziaływań międzycząsteczkowych jest praktycznie nierozpuszczalna w zwykłych rozpuszczalnikach organicznych i nieorganicznych. Rozpuszcza się w stężonych roztworach kwasów tj. kwas siarkowy (VI), kwas azotowy (V), czy stężony mrówkowy. Przy czym procesowi rozpuszczania towarzyszy zawsze proces hydrolizy kwasowej, który powoduje silną degradację chityny, podobnie jak to było w przypadku celulozy. Najczęściej chitynę rozpuszcza się w toksycznych, żrących i szkodliwych dla środowiska rozpuszczalnikach organicznych tj. układ

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

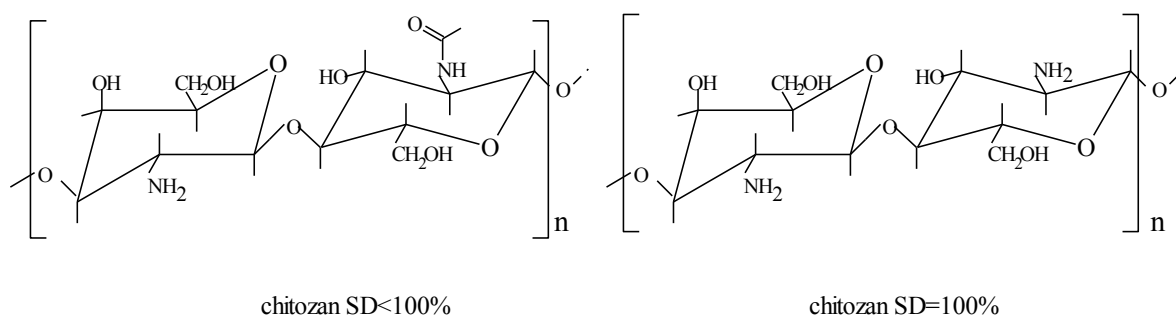
chlerek litu (LiCl) - N,N dimetyloacetamid, chlorek litu (LiCl) – N-metylopirolidon oraz 1,2-chloroetanol- H₂SO₄ [11]. Ta słaba rozpuszczalność powoduje, że jest ona wykorzystywana w niewielkim stopniu i to tylko w ściśle określonych dziedzinach. Problem też stanowi oznaczenie średniego ciężaru cząsteczkowego chityny. Ostatnio prowadzone są prace nad wykorzystaniem cieczy jonowych, jako alternatywnego rozpuszczalnika chityny. Ciecze jonowe są nową generacją rozpuszczalników, które określa się *zielonymi* [12]. Termin *zielony rozpuszczalnik* związany jest z właściwościami tych cieczy, które charakteryzują się nietlnością, odpornością termiczną (rozkładają się powyżej 300°C), dużą stabilnością chemiczną, są silnie polarne oraz mają charakter elektrolitów. Ciecze jonowe są grupą ciekłych soli, które składają się z dużych kationów organicznych np. jony pirydynowe lub imidazoliowe i prostych nieorganicznych anionów tj. PF₆⁻, BF₄⁻, AlCl₄⁻. Najbardziej obiecującymi cieczami jonowymi, które mogą stanowić dobry rozpuszczalnik chityny są ciecze zawierające pierścień imidazolowy [13]. Do najcenniejszych właściwości chityny należą: bioaktywność, biodegradowalność, biogodność, nietoksyczność, błonotwórczość i włóknotwórczość, dobre właściwości chelatujące jony metali ciężkich. Wymienione właściwości powodują, że chityna znalazła zastosowanie do oczyszczania wód ściekowych, pitnych z jonów tj. Hg²⁺, Cu²⁺, Pb²⁺, Ni²⁺, As³⁺, Fe²⁺, Cr³⁺ czy radioaktywnych oraz toksycznych substancji organicznych. W przemyśle włókienniczym wykorzystywana jest do produkcji włókien czy też dodatek do włókien, z których otrzymuje się materiały opatrunkowe. Ponadto podobnie jak celuloza również chityna stanowi substrat wyjściowy od otrzymywania różnych pochodnych chityny na drodze reakcji chemicznej z wykorzystaniem grupy acetyloaminowej oraz grup hydroksylowych. Hydroliza w środowisku zasadowym jest reakcją wykorzystywaną do otrzymywania najważniejszej pochodnej chityny - chitozanu. Hydroliza kwasowa jest stosowana znacznie rzadziej niż zasadowa, w której wykorzystuje się kwas chlorowodorowy, azotowy oraz octowy. Hydroliza w środowisku kwaśnym prowadzi do zrywania wiązań glikozydowych w łańcuchu polimerowym. Otrzymujemy w ten sposób oligochitynę, która posiada dużą aktywność biologiczną, w tym antynowotworową, bakteriobójczą czy grzybobójczą. Z kolei estryfikację chityny przeprowadza się za pomocą bezwodników kwasowych takich jak bezwodniki kwasów karboksylowych z udziałem katalizatorów. Na drodze tej reakcji uzyskuje się drugą ważną pochodną chityny di – O – dibutyrylochitynę. Reakcję estryfikacji wykorzystuje się również do regenerowania chityny, czyli jej powtórnego odzyskiwania. Ostatnia grupa reakcji z udziałem chityny, to reakcje eteryfikacji, które również dają rozpuszczalne pochodne. Etery chityny nie są jednak do końca całkowicie poznane i przebadane.

Wykład 6: Chitozan

Chitozan, poli(β-(1,4)-2-amino-2-deoksy-D-glukopiranoza) jest najważniejszą pochodną chityny, o największym potencjalnym zastosowaniu w przemyśle kosmetycznym, farmaceutycznym czy medycynie [10,11,14]. Ten biopolimer otrzymujemy w wyniku procesu alkalicznej deacetylacji chityny. Deacetylacja chityny jest reakcją hydrolizy alkalicznej ugrupowań amidowych w łańcuchu poli(β-(1,4)-2-acetamido-2-deoksy-D-glukopiranoza). Reakcja ta polega na częściowym usunięciu grup acetylowych z grup acetyloaminowych w

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

łańcuchu chityny i zastąpieniu ich grupami aminowymi. Proces deacetylacji nie przebiega do końca, z związku z tym produkt reakcji jest kopolimerem zawierającym reszty glukozoaminy oraz N-acetyloglukozoaminy (rys. 15). Jeśli produkt reakcji rozpuszcza się w kwasie octowym o stężeniu 0.1mol/dm^3 to nazywamy go chitozanem. Zwykle osiąga się to po przekroczeniu stopnia deacetylacji 50%.



Rys. 15. Struktura jednostki powtarzalnej chitozanu w zależności od stopnia deacetylacji (SD).

Deacetylacja jest procesem wymagającym wysokiej temperatury – powyżej 100°C , wysokiego ciśnienia oraz dużego stężenia silnego czynnika alkalizującego (najczęściej 35-50 %w/w roztwór NaOH) przez okres od 0,5 do 10 godzin. W czasie trwania deacetylacji zmniejsza się wartość ciężaru cząsteczkowego, co wskazuje na degradację chitozanu. Zmniejszenie ciężaru cząsteczkowego chitozanu może być zahamowane przez zastosowanie atmosfery gazu inertnego np. tlenu lub argonu w czasie reakcji. Bardzo często w celu obniżenia kosztów produkcji oraz poprawy właściwości fizykochemicznych chitozanu stosuje się wiele wariantów procesu deacetylacji, które obejmują: obniżenie ilości alkaliów, zastosowanie procesu wielostopniowego, dodatek czynnika redukującego. Proces deacetylacji przeprowadza się w warunkach homogenicznych lub heterogenicznych.

Ponadto występuje on, także w przyrodzie w niewielkich ilościach, w niektórych gatunkach grzybów np. w ścianie komórkowej grzybów strzępkowych należących do *Mucorales*. Uzyskany w ten sposób chitozan charakteryzuje się wysokim stopniem deacetylacji, małym stopniem polidispersji i dużą czystością.

Właściwości otrzymanego chitozanu opisuje się przez podanie stopnia deacetylacji oraz masy cząsteczkowej. Tak jak wspomniano wcześniej, wielkości te zależą od temperatury, czasu trwania procesu deacetylacji, stężenia czynnika deacetylującego, właściwości i pochodzenia chityny. Stopień deacetylacji (SD) definiuje się, jako stosunek liczby utworzonych grup $-\text{NH}_2$ do początkowej liczby grup $-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_3$, obecnych w chitynie. Często zapisuje się to w następującym równaniu:

$$\text{SD} = 100 (1 - F_A)\% \quad (8) \quad \text{lub}$$

$$\text{SD} = 100\% F_N \quad (9)$$

gdzie: F_A – ułamek molowy jednostek 2-acetamido-2-deoksy-D-glukopiranozy,

F_N – ułamek molowy jednostek 2-deoksy-2-amino-D-glukopiranozy.

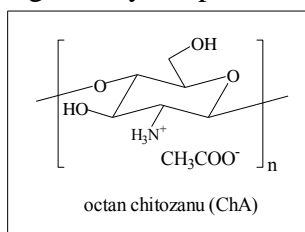
Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Wartość SD chitozanu wpływa na jego właściwości fizykochemiczne tj. rozpuszczalność w wodnych roztworach kwasów, pęcznienie w wodzie czy biodegradowalność. Z tego powodu duża ilość publikacji dotyczących chitozanu jest poświęcona metodą oznaczenia stopnia deacetylacji. SD można określić na podstawie pomiarów: FTIR, UV, NMR, miareczkowania potencjometrycznego czy GPC. Zastosowany sposób wyznaczenia stopnia deacetylacji powinien być szybki, dokładny i możliwy do wykonania w standardowym wyposażeniu laboratorium. Taką standardową metodą jest metoda hydrolytyczna, która polega na przeprowadzeniu hydrolyzy kwasowej, działając kwasem ortofosforowym na chitozan. Otrzymany po hydrolyzie kwas octowy odmiareczkuje się wodorotlenkiem sodowym. Zaletą tej metody jest prostota i nieduży koszt, dobra powtarzalność wyników. Wadą natomiast długi czas oznaczenia. Inną często stosowaną metodą w laboratoriach jest miareczkowanie potencjometryczne i pH – metryczne, które też daje dokładne i powtarzalne wyniki. Chitozan, tak jak pozostałe biopolimery występuje w pięciu różnych formach krystalicznych, z których cztery są uwodnione, a jedna bezwodna. Do form uwodnionych o strukturze rozciągniętej podwójnej helisy należą: *Tendon*, *II*, *L-2*. Czwarta forma uwodniona δ – *sfałdowana* jest niestabilna ma strukturę helisy 8/5 lub mniej rozciągniętej podwójnej helisy. Formy uwodnione są stabilizowane wewnątrzcząsteczkowymi wiązaniami wodorowymi. Najczęściej spotykaną postacią polimorficzną chitozanu jest *Tendon*. Ostatnia forma bezwodna nazywana *Annealed*, otrzymywana jest na skutek wygrzewania postaci *Tendon* w temperaturze 240°C. W tej postaci chitozan ma strukturę rozciągniętej podwójnej helisy. Przejście z formy uwodnionej do bezwodnej jest odwracalne.

Chitozan nie rozpuszcza się w wodzie (z wyjątkiem chitozanu otrzymanego w wyniku deacetylacji homogenicznej o SD \cong 50%), ale rozpuszcza się w wodnych roztworach kwasów poniżej wartości pH 6.3. Rozpuszczanie chitozanu w wodnych roztworach kwasów zachodzi poprzez protonowanie grupy aminowej chitozanu:



Jony hydroniowe mogą pochodzić zarówno z roztworów kwasów nieorganicznych jak i organicznych np. CH_3COOH . Po rozpuszczeniu otrzymujemy sole chitozanu (rys. 16).



Rys. 16. Wzór strukturalny octan chitozanu (ChA).

Sole chitozanu z kwasami organicznymi są rozpuszczalne w wodzie. Roztwory chitozanu przygotowuje się najczęściej w wodnym roztworze kwasu octowego czy mrówkowego, bowiem chitozan w roztworach kwasów mineralnych np. HCl ulega w znaczącym stopniu reakcji hydrolyzy kwasowej. W roztworach neutralnych o $\text{pH} \cong 7$ i zasadowych chitozan jest nierozpuszczalny. Chitozan jest polimerem silnie hydrofilowym. Chłonie wodę z fazy gazowej i po zanurzeniu w wodzie. Chitozan, jako kationowy polimer naturalny tworzy kompleksy chelatowe z jonami metali. Zdolności kompleksotwórcze chitozanu są potencjalnie związane z obecnością grup: aminowej i hydroksylowej w poszczególnych

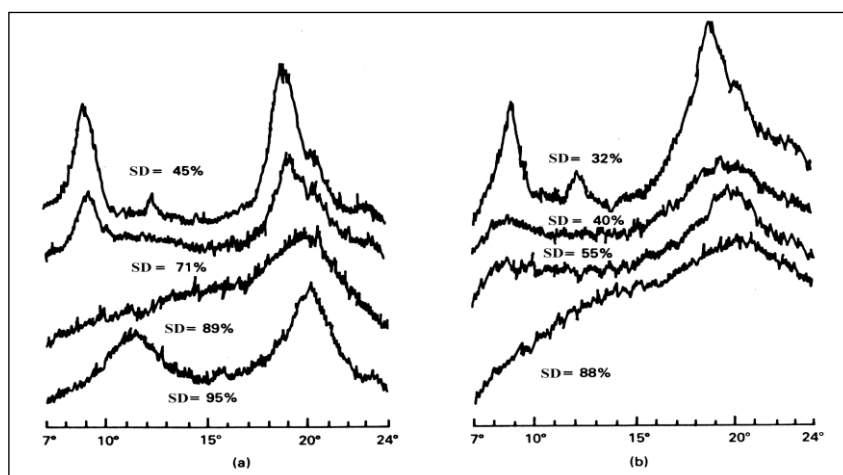
Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

merach [15,16]. Chitozan jest substancją praktycznie nietoksyczną i biodegradowalną. Wykazuje także niespecyficzne właściwości biomedyczne, ale nie ma aktywności lub działania farmakologicznego. Zaliczany jest do substancji pomocniczych, umożliwiających otrzymanie różnych postaci leków o określonych właściwościach np.: pastylki lub drażetki rozpuszczające się w odpowiednich odcinkach przewodu pokarmowego. Chitozan należy do grupy polimerów biodegradowalnych. Chitozan znajduje obecnie zastosowanie przede wszystkim w oczyszczaniu wód ściekowych z jonów metali ciężkich czy metali radioaktywnych, oraz toksycznych substancji organicznych, przy oczyszczaniu wody pitnej, w przemyśle spożywczym, przemyśle kosmetycznym, przemyśle włókien chemicznych i włókiennictwie. Szeroko stosowany jest również chitozan w medycynie, jako tworzywo do wyrobu nici chirurgicznych, materiałów opatrunkowych ułatwiających gojenie się ran oraz sztucznych organów wewnętrznych, takich jak np.: błona nerkowa. Jego aktywność biologiczna powoduje, że jest stosowany w rolnictwie, medycynie i weterynarii, jako środek przeciwwirusowy, bakterio- i grzybobójczy.

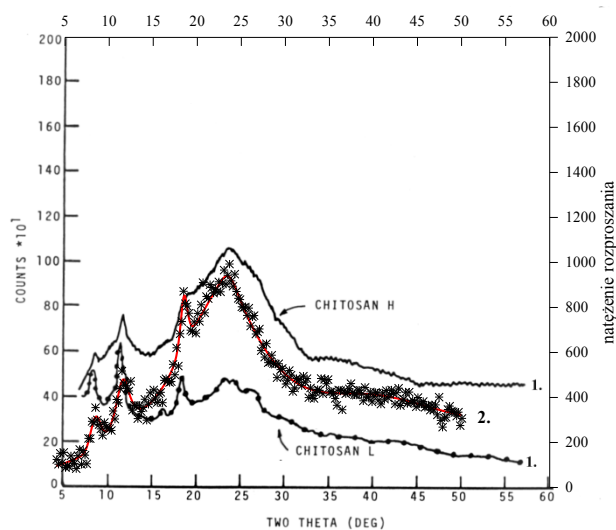
Wykład 7: *Badania struktury chityny i chitozanu*

Tak, jak w przypadku innych biopolimerów, strukturę chityny i chitozanu określa się w oparciu o metody rentgenograficzne, spektroskopowe w tym ^{13}C NMR, ^1H NMR, FTIR czy mikroskopię SEM, AFM. Struktura tych biopolimerów jest ściśle powiązana z właściwościami fizykochemicznymi, a następnie z możliwością zastosowania. Sam proces prowadzenia deacetylacji ma duże znaczenia. Tak jak wspomniano wcześniej, proces deacetylacji przeprowadza się w warunkach homogenicznych lub heterogenicznych. Chitozan otrzymany w wyniku deacetylacji homogenicznej, różni się morfologicznie w porównaniu z chitozaniem uzyskanym z deacetylacji heterogenicznej, co obrazuje rysunek 17. Chitozan jest polimerem o niewielkiej krystaliczności, która wyraźnie zmniejsza się ze wzrostem stopnia deacetylacji chitozanu. Przedstawione dyfraktogramy chitozanu (rys. 17), pokazują wyraźne zmniejszenie intensywności pików krystalicznych chitozanu ze wzrostem stopnia deacetylacji, zarówno w metodzie deacetylacji heterogenicznej jak i homogenicznej. W przypadku deacetylacji heterogenicznej próbka o SD=89% jest już całkowicie amorficzna. Dla deacetylacji homogenicznej, zmniejszenie krystaliczności próbek jest dużo bardziej wyraźne i już próbki o SD $\geq 40\%$ nie posiadają na dyfraktogramach pików krystalicznych. Poza stopniem deacetylacji, wygląd dyfraktogramów WAXS uzależniony jest również od sposobu przygotowania próbki do badań oraz jej ciężar cząsteczkowy, co pokazuje rysunek 18. Na wykresie zostały przedstawione dyfraktogramy filmów chitozanu w postaci dwóch różnych soli. Samuels [17] wyróżnia dwie formy morfologiczne w chitozanie, których występowanie przypisuje właśnie metodzie przygotowania błony chitozanu do badań WAXS. Forma I-sza (o niższej zawartości fazy krystalicznej) została zarejestrowana przez Samuela [17] dla błony, otrzymanej z 8% roztworu chitozanu w 2% kwasie mrówkowym, przez odparowanie rozpuszczalnika na łaźni w temp. 40°C. Stopień deacetylacji chitozanu i lepkość 2% roztworu chitozanu w 2% CH_3COOH wynosiły odpowiednio 92% i 0,045 Pa*s (chitozan L) [17].

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki



Rys. 17. Dyfraktogram chitozanu otrzymanego w wyniku: a. heterogenicznej deacetylacji; b. homogenicznej deacetylacji chityny [10].



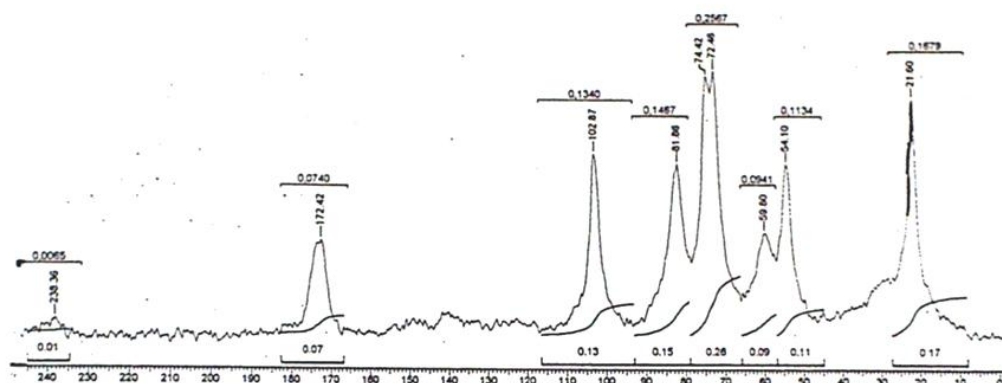
Rys. 18. Dyfraktogramy WAXS 1 – mrówczan chitozanu [17], 2 – octan chitozanu [18].

Formę II-gą o wyższej zawartości fazy krystalicznej, otrzymał Samuels [17] w wyniku działania na folie mrówczanu chitozanu 2% roztworem NaOH przez okres 15 minut w temperaturze pokojowej, używając tym razem chitozanu o stopniu deacetylacji i lepkości równych odpowiednio 83% i 2,9 Pa*s (chitozan H) [17]. Przy zastosowaniu przez Samuela [17] takiego samego sposobu przygotowania błon do badań WAXS (tj. błon roztworu mrówczanu bez neutralizacji NaOH), obie próby chitozanu, zarówno chitozan L (o względnie

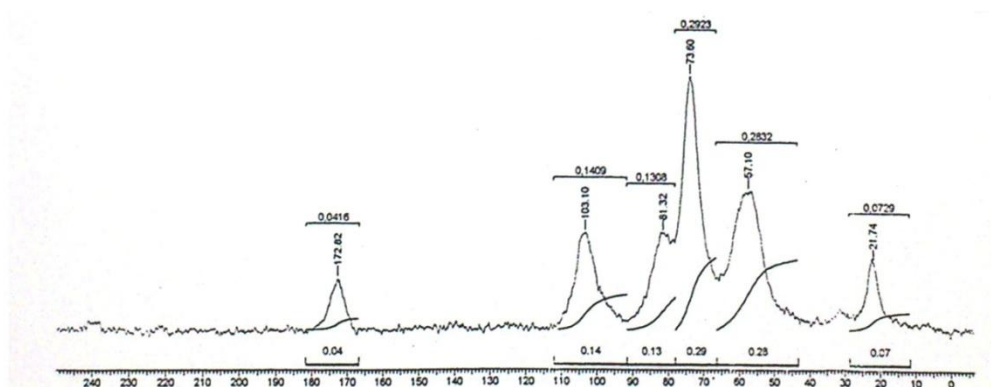
Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

małej wartości ciężaru cząsteczkowego) jak i chitozanu H (o znacznie wyższej wartości ciężaru cząsteczkowego) wykazywały I-szą postać morfologiczną w badaniach WAXS (rys. 18). Jednak wyższa wartość ciężaru cząsteczkowego próby chitozanu H spowodowała, przy zachowaniu takich samych warunków w trakcie przygotowania prób, powiększenie jej amorficznego halo i poszerzenie pików dyfrakcyjnych (rys.18). Samuels [17] konkluduje, iż stopień uporządkowania powstających krystalitów jest w takim przypadku mniejszy. W przypadku octanu chitozanu, który również nie był neutralizowany, a charakteryzował się $SD=83\%$ i $M_v=4,7 \times 10^5$, wykazywał on, także I-szą postać morfologiczną. Postać tę można opisać następującymi wartościami kątów rozpraszania 2Θ : 8.8° , 11.6° , 18.6° i 23.3° .

Rysunki 19 i 20 przedstawiają spektrogramy ^{13}C NMR chityny i chitozanu o $SD=60\%$ w zakresie 20-240 ppm.



Rys. 19. Widmo ^{13}C NMR chityny.



Rys. 20. Widmo ^{13}C NMR chitozanu.

Przedstawione widma zostały wykonane w technice ciała stałego, na których widoczne są sygnały od różnych atomów węgla i tak: przy ok. 22ppm odpowiada pasmu atomów węgla z

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

grupy acetylowej, przy ok. 57ppm to pasmo atomów C2 i C6, złożone pasmo pomiędzy 70-81ppm, to atomy C3 i C5 oraz ostatnie dobrze wykształcone pasmo przy ok. 104ppm odpowiada atomowi C1. Na pokazanych widmach widać wyraźnie zmniejszenie intensywności pasma atomów węgla z grup acetylowych, co jest związane z procesem deacetylacji, w którym te grupy są usuwane. Poza tym na widmach chityny i chitozanu obecne jest jeszcze pasmo atomów węgla z grup karbonylowych przy ok. 172 ppm. Metoda rezonansu magnetycznego NMR ma duże znaczenie, gdyż w praktyce jest wykorzystywana do wyznaczenia stopnia deacetylacji [19]. Stopień deacetylacji oblicza się w następujący sposób:

$$SD = \left(\frac{1 - A_{CH_3}}{A_{C1}} \right) \times 100\% \quad (11)$$

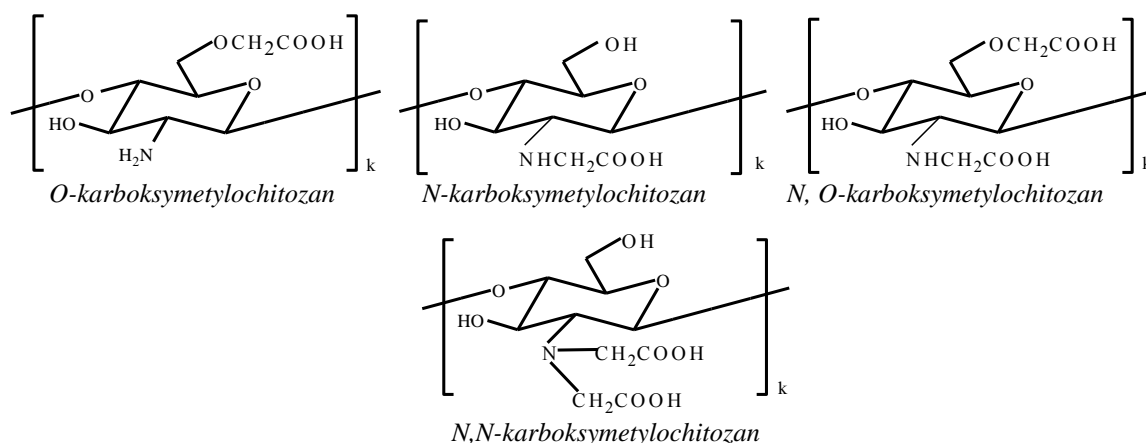
gdzie: A_{CH_3} – intensywność sygnału od atomu węgla znajdującego się w grupie acetylowej,
 A_{C1} – intensywność sygnału pochodzącego od atomu C1 (anomeryczny atom węgla).

Wartość stopnia deacetylacji oznaczony w ten sposób, obarczony jest najmniejszym błędem. Zaletą tej metody jest możliwość wykonania pomiarów zarówno w roztworze jak i w ciele stałym. Wadą natomiast duży koszt aparatury i odczynników, trudność w interpretacji widm węglowych wykonanych w technice ciała stałego, ze względu na nakładanie się pasm pochodzących od jąder atomów węgla połączonych z atomami tlenu.

Wykład 8: Pochodne chitozanu

Wzrost praktycznych zastosowań chitozanu wiąże się z modyfikacją jego właściwości przez odpowiednie zmiany w jego strukturze cząsteczkowej, nadcząsteczkowej i chemicznej. Chitozan ze względu na obecność grup aminowych oraz wolnych grup hydroksylowych, ulega reakcjom podstawienia charakterystycznym dla amin i alkoholi umożliwiającym otrzymanie szeregu pochodnych przeznaczonych do określonych zastosowań. Do takich pochodnych należą *karboksymetylochitozany*, w których grupę karboksymetylową wprowadzamy w różne miejsca albo do grupy aminowej albo do grupy hydroksylowej przy atomie C6 (rys. 21) [20]. Część karboksymetylo- pochodnych należy do eterów chitozanu. Te pochodne chitozanu otrzymujemy różnymi metodami w zależności od typu karboksymetylo- pochodnej, którą chcemy otrzymać. Na przykład O-karboksymetylochitozan otrzymujemy w reakcji kwasu monochloroctowego w roztworze izopropanolu, w środowisku silnie alkalicznym w temperaturze 55°C. Z kolei N-karboksymetylochitozan uzyskuje się w reakcji kwasu glioksalowego w obecności borowodoru sodu w temperaturze 60°C przy pH 3,2-4,0. Karboksymetylochitozan jest rozpuszczalną w wodzie pochodną chitozanu z poprawionymi właściwościami biologicznymi i fizykochemicznymi w stosunku do chitozanu. Charakteryzuje się go przez podanie nie tylko stopnia deacetylacji czy wartości ciężaru cząsteczkowego, ale także przez oznaczenie stopnia podstawienia. Stopień podstawienia wyznacza się metodami spektroskopowymi tj. FTIR, ^{13}C NMR, 1H NMR oraz przez miareczkowanie potencjometryczne.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki



Rys. 21. Budowa karboksymetylo- pochodnych chitozanu.

Karboksymetylochitozany charakteryzują się w stosunku do chitozanu lepszymi właściwościami antybakteryjnymi, lepszą biodegradacją, biokompatylnością, hydrofilowością przy braku toksyczności, co powodują, że stanowią lepszy materiał biomedycznych wykorzystywany do produkcji materiałów opatrunkowych, w inżynierii tkankowego, czy przy produkcji leków z kontrolowanym uwalnianiem.

Innym rodzajem modyfikacji chitozanu jest modyfikacja w połączeniu z obróbką chemiczną, która prowadzi do nowych form użytkowych tak jak mikrokrystaliczny chitozan, fibryny, włókna, folie, kulki. Stanowią one jeden z prężnie rozwijających się kierunków badań i aplikacji chitozanu. *Mikrokrystaliczny chitozan* jest wielofunkcyjną pochodną stosowaną w przemyśle kosmetycznym, farmaceutycznym, medycznym czy włókienniczym. Ta pochodna chitozanu zachowuje wszystkie pozytywne właściwości niemodyfikowanego chitozanu oraz posiada także: kontrolowaną bioaktywność, kontrolowaną i większą biodegradowalność, dużą powierzchnię wewnętrzną, wysoką wartość współczynnika wtórnego pęcznienia, większą krystaliczność, dobrą mieszalność z związkami małocząsteczkowymi i wielkocząsteczkowymi.

Tabela 2 Właściwości fizykochemiczne chitozanu wyjściowego i mikrokrystalicznego (MKCh) [21].

Właściwości	Chitozan	MKCh	
		Żel	Proszek
Barwa	biała do jasnobrazowej	biała do jasnożółtej	biała do jasnożółtej
Zawartość polimeru (%)	ok. 90	3-5	90-95
$\bar{M}_v \times 10^{-3}$	> 200	10 – 500	10 – 500
WRV (%)	< 200	800 – 5000	200 -1000
SD(%)	> 60	> 60	> 60
Wielkość cząstek (µm)	> 100	1 – 100	1 – 50
pH	> 7	> 7	6.5 - 7

Legenda: \bar{M}_v – lepkościowo średni ciężar cząsteczkowy, SD - stopień deacetylacji, WRV – współczynnik wstępnego pęcznienia.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

W tabeli 2 pokazano porównanie właściwości chitozanu niemodyfikowanego i po modyfikacji w postaci żelu i proszku. Jak widać modyfikacja chitozanu silnie wpływa na uzyskane właściwości nowych form. Mikrokrystaliczny chitozan może być wytwarzany w postaci różnych form użytkowych tj. proszek, zawiesina, pianka, żel czy gąbka. Mikrokrystaliczny chitozan może być stosowany do oczyszczania wód ściekowych. Jednak wymaga to jego modyfikacji dialdehydem, jeżeli pH wody jest poniżej 7, inaczej ulegnie on rozpuszczeniu. Tak modyfikacja nie powoduje pogorszenia jego właściwości chelatujących np. w przypadku jonów Cu^{2+} bez modyfikacji aldehydami dwufunkcyjnymi w $\text{pH}=7$ wynosi 99,5%, po modyfikacji w $\text{pH}=3$ wynosi 98,9%. Inną cenną pochodną stosowaną również w oczyszczaniu wód są *kulki chitozanowe*. Posiadają one rozwiniętą powierzchnię wewnętrzną i rozwinięte zdolności do wiązania metali ciężkich, jak i wyższą efektywność wiązania w środowisku alkalicznym. Głównym zadaniem stawianym tym materiałom jest usuwanie śladowych ilości metali ciężkich ze ścieków komunalnych i przemysłowych. Kulki chitozanowe są zdolne usunąć całkowicie metale z roztworów o niskich stężeniach metali, jeżeli podda się je wcześniej procesom sieciowania np. aldehydem glutarowym, a zastosowany chitozan będzie posiadał dostatecznie duży stopień deacetylacji (ok. 90%). Ponadto mogą mieć także zastosowanie jako wypełnienie kolumn oczyszczających wodę (jonitowych) w sposób ciągły.

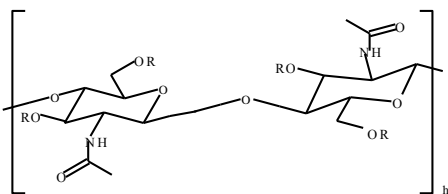
Kolejną formą użytkową chitozanu są włókna i włókniny chitozanowe. Mają one zastosowanie do wyrobu resorbowalnych nici chirurgicznych oraz materiałów opatrunkowych. W takich materiałach wykorzystuje się takie właściwości chitozanu jak biokompatybilność, brak toksyczności, zdolność do przyspieszania procesu gojenia się ran czy zdolność do adsorpcji płynów. Takie materiały mogą być stosowane także do impregnacji protez naczyń. Włókna chitozanowe poza wymienionymi wcześniej cennymi właściwościami, charakteryzują się także słabymi właściwościami mechanicznymi podobnie jak inne polihydroksyloze włókna np. celuloza, poli(alkohol winylowy) [22]. Poprawa ich właściwości mechanicznych może odbywać się na drodze reakcji sieciowania z barwnikami reaktywnymi zawierającymi reaktywne grupy funkcyjne zdolne do reakcji z grupami hydroksylozowymi np. czerwień helaktynowa, błękit helaktynowy. Po zastosowaniu takich barwników stwierdzono w literaturze [22] poprawę wytrzymałości na zrywanie oraz obniżenie wydłużenia zrywającego. W tego typu modyfikacjach istotny jest czas obróbki włókna oraz stężenie barwnika.

Wykład 9: Dibutyrylochityna

Kolejną atrakcyjną pochodną chityny jest dibutyrylochityna. Pochodna ta otrzymywana jest w reakcji estryfikacji chityny. Proces estryfikacji należy do reakcji substytucji nukleofilowej, grupy acylowej w warunkach kwaśnych, pomiędzy kwasem karboksylovym, a alkoholem. Kwasy karboksylovowe są zbyt mało reaktywne, aby reakcja zaszła w środowisku obojętnym. Dlatego, też podczas reakcji należy zastosować mocne kwasu typu HCl , H_2SO_4 . Obecność takiego kwasu powoduje protonowanie grupy karbonylowej i w konsekwencji pojawienie się ładunku dodatniego na atomie węgla z tej grupy. Atak nukleofila, którym jest cząsteczka alkoholu powoduje powstanie tetraedrycznego produktu pośredniego. Nietrwały produkt

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

pośredni rozpada się z wytworzeniem cząsteczki wody i estru. Jednostka powtarzalna chityny zawiera dwie wolne grupy hydroksylowe w położeniu C3 i C6, dla których może zachodzić reakcja estryfikacji. W przypadku chityny, reakcję estryfikacji przeprowadza się z użyciem bezwodników kwasów karboksylowych. Acylowe pochodne chityny zostały po raz pierwszy otrzymane w latach 70-tych XX wieku w Japonii. Tego typu pochodne charakteryzowały się lepszą rozpuszczalnością od chityny. W Polsce badania nad estrami chityny były prowadzone między innymi w Politechnice Łódzkiej [23]. W metodzie tej proces estryfikacji składa się z dwóch etapów. W pierwszym etapie chitynę poddaje się oczyszczaniu z węgla wapnia w temperaturze pokojowej za pomocą kwasu chlorowodorowego o stężeniu 2mol/dm^3 . Kolejny etap to proces estryfikacji oczyszczonej chityny. Substratami tej reakcji poza chityną są bezwodnik masłowy oraz katalizator, który stanowi kwas chlorowy (VII). Reakcję przeprowadza się w warunkach heterogenicznych dodając do mieszaniny reakcyjnej zawierającej bezwodnik masłowy i kwas chlorowy (VII) sproszkowaną chitynę w stosunku molowym bezwodnika do meru N-acetyloaminoglukozy 10:1 najczęściej w temperaturze 20°C . Podwyższenie temperatury reakcji do 40°C powoduje gwałtowną redukcję masy cząsteczkowej. W przypadku stężenia katalizatora ma ono wpływ na wydajność reakcji butyryzacji, która jest tym większa, im większe jest stężenie kwasu. Proces kończy się dodając do mieszaniny reakcyjnej eter etylowy. Wyodrębniony produkt następnie się gotuje w wodzie w celu usunięcia resztek kwasu chlorowego (VII). Tak uzyskany produkt wprowadza się do acetonu na 24h, w którym rozpuszcza się tylko dibutyrylochityna, a nie produkty uboczne, czy pozostałości substratów. Następnie roztwór się zateża, odparowuje aceton i suszy otrzymując dibutyrylochitynę w postaci stałej. Przedstawiony powyżej proces butyryzacji powoduje przekształcenie wolnych grup hydroksylowych w grupy estrowe (rys. 22).



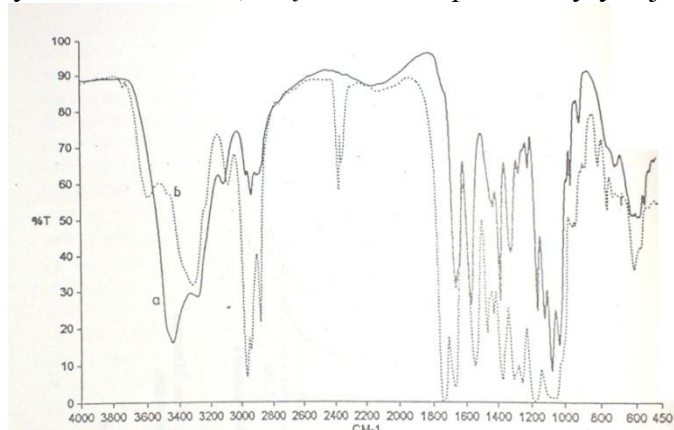
Rys. 22. Budowa jednostki powtarzalnej dibutyrylochityny. R: $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$.

W związku z tym dibutyrylochityna zbudowana jest z jednostek dibutyrylo-N-acetyloaminoglukozowych połączonych wiązaniami 1,4- β - glikozydowymi. Ponadto, w tym polimerze występują także wiązania wodorowe, pomiędzy łańcuchami polimerowymi z udziałem atomu wodoru z grupy acetyloaminowej, a atomem tlenu z grupy estrowej. Ten rodzaj oddziaływań międzycząsteczkowych decyduje o dobrych właściwościach mechanicznych tego biopolimeru.

Stopień podstawienia nazywany, także butyrylacji określany jest, jako średnia liczba grup butyrylowych przypadających do początkowej ilości grup liczby grup $-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_3$, obecnych w chitynie. Stopień podstawienia zmienia się w przedziale 0-2, przy czym najczęściej jest bliski 2. Ten ważny parametr można wyznaczyć stosując metodę NMR lub

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

spektroskopie w podczerwieni FTIR. W metodzie NMR porównuje się intensywność integralną sygnałów pochodzących od protonów metylenowych bądź metylowych w grupie estrowej z intensywnością sygnałów protonów grupy metylowej chityny. W przypadku pomiarów FTIR na widmach pokazanych na rys. 23 obserwuje się zanik pasma przy 3500cm^{-1} , które odpowiada grupom hydroksylowym obecnym tylko w chitynie oraz powstanie nowych pasm przy 1740cm^{-1} i 1450cm^{-1} związanych z pojawieniem się grup estrowych obecnych w dibutyrylochitynie. Ponadto wzrasta także intensywność pasm przy 2900cm^{-1} , 790cm^{-1} i 740cm^{-1} , które związane są z zwiększenia liczby grup $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-$. Na podstawie tych zmian można, więc ocenić stopień butyrylacji.



Rys. 23. Widmo FTIR filmów: a – chityna, b – dibutyrylochityny [23].

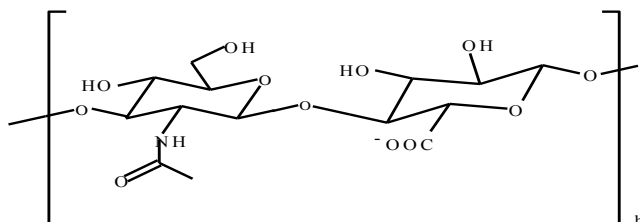
Dibutyrylochityna nie rozpuszcza się i nie pęcznieje w wodzie. Natomiast rozpuszcza się w wielu popularnych rozpuszczalnikach organicznych takich jak: aceton, metanol, etanol, tertahydrofuran (THF), dimetyloformamid (DMF), chloroform, chlorek metylenu i inne. W przypadku degradacji, dibutyrylochityna nie ulega łatwo degradacji, jest odporna na działanie promieniowania γ , natomiast degradacja enzymatyczna z zastosowaniem takich enzymów jak lizozym czy ekonaza CE, zachodzi z małą szybkością oraz niewielką zmianą masy cząsteczkowej. Do bioaktywnych właściwości tego biopolimeru należą: wydłużenie czasu krzepnięcia krwi, dobra zwilżalność oraz wymieniona wcześniej odporność na działanie promieniowania gamma, co jest istotne wtedy, gdy materiały wykonane z tego polimeru chcemy poddać sterylizacji radiacyjnej. Dibutyrylochityna o masie cząsteczkowej powyżej 100000 Da wykazuje właściwości błonotwórcze i włóknotwórcze. Włókna dibutyrylochityny uzyskuje się dwiema metodami mokrą i suchą. Wybór zastosowanej metody powoduje określoną strukturę otrzymanych włókien. Włókna otrzymane w procesie przędzenia na mokro, mają kształt bardziej regularny o przekroju poprzecznym sferycznym. Natomiast włókna otrzymane metodą suchą mają kształt przekroju wydłużony i wygięty, podobny do rogala. Stopień krystaliczności włókien wyznaczony w badaniach rentgenograficznych jest podobny w obu metodach i wynosi ok. 19%, a wymiar poprzeczny krystalitów ok. 23Å . Dibutyrylochitynę można też podać reakcji hydrolizy zasadowej otrzymując z niej ponownie chitynę. Proces hydrolizy przeprowadza się stosując roztwór wodny wodorotlenku sodu o stężeniu ok. 1mol/dm^3 . Ten proces można wykorzystać do otrzymania włókien chitynowych, które w pierwszym etapie są otrzymane z dibutyrylochityny, a następnie poddane hydrolizie

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

zasadowej przekształcone w włókna chitynowe. Jeżeli zastosuje się roztwory rozcieńczone alkaliów, następuje odbudowana struktura chityny bez naruszenia struktury włókien. Włókna dibutyrylochitynowe oraz z regenerowanej chityny można wykorzystać do otrzymywania suchych materiałów opatrunkowych, a także do innych biomedycznych celów.

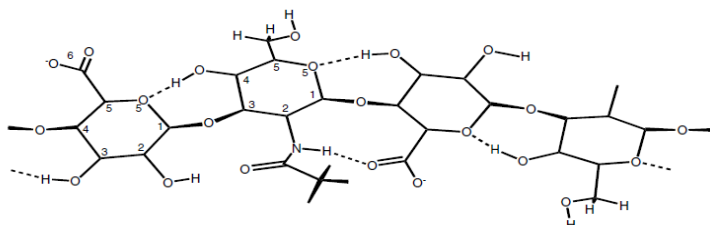
Wykład 10: Kwas hialuronowy

Kwas hialuronowy (HA), należy również do grupy naturalnych polisacharydów. Jednostka strukturalna tego polisacharydu składa się disacharydu zawierającego N-acetylo-D-glukozaminę i kwas glukuronowy połączone wiązaniem β -1,4-glikozydowym (rys. 24). Z kolei jednostki strukturalne łączą się wiązaniem β -1,3-glikozydowym w długie łańcuchy polimerowe, które są liniowe i nierozgałęzione. W organizmach żywych występuje zazwyczaj w postaci soli sodowej. Kwas hialuronowy w organizmach zwierzęcych jest syntetyzowany w błonie komórkowej. W procesie tym bierze udział syntaza hialuronianowa usytuowana po wewnętrznej stronie błony. Uczestniczy ona w naprzemiennym łączeniu reszt kwasu glukuronowego i N-acetyloglukozaminy [24]. Ten biopolimer charakteryzuje się bardzo wysokim ciężarem cząsteczkowym rzędu 10^3 - 10^5 kDa.



Rys. 24. Jednostka strukturalna kwasu hialuronowego [25].

Cząsteczki kwasu hialuronowego posiadają strukturę lewoskrętnej helisy, która jest stabilizowana poprzez mostki wodorowe (rys. 25).



Rys. 25. Oddziaływania międzycząsteczkowe w kwasie hialuronowym [11].

Kwas hialuronowy jest zarówno składnikiem przestrzeni zewnątrzkomórkowej jak i wewnątrzkomórkowej. Występuje on powszechnie w ciele człowieka, choć w niewielkich ilościach. Największa ilość kwasu HA zawarta jest w płynach stawowych, w pępowinie oraz w ciele szklistym oka ludzkiego. Ponadto dużo zawartość tego biopolimeru znajduje się, także w skórze, z czego większość usytuowana jest w przestrzeni wewnątrzkomórkowej. Kwas hialuronowy zawarty jest w dużych ilościach w grzebieniach kogutów, w skórze rekina, w

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

ciele szklistym bydłat [26]. Poza kręgowcami, kwas jest obecny w komórkach bakterii np. szczep bakterii *Streptococi*, ale nie występuje w grzybach i owadach. Tabela 3 pokazuje zawartość kwasu HA w różnych źródłach.

Tabela 3 Zawartość kwasu hialuronowego (HA) w różnych źródłach [27].

<i>Źródło</i>	<i>Zawartość ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)</i>	<i>Komentarz</i>
grzebień koguta	7500	zwierzęca tkanka o największej zawartości HA
bydlęca chrząstka nosowa	1200	
ludzka pępowina	4100	HA o stosunkowo dużym ciężarze cząsteczkowym
ludzki płyn stawowy	1400-3600	w stanach zapalnych objętość płynu wzrasta, co powoduje obniżenie zawartość HA
ludzkie ciało szkliste	140-340	zawartość HA wzrasta wraz z dojrzewaniem

Początkowo głównym źródłem pozyskiwania kwasu hialuronowego było bydło, ale ze względu na możliwość przenoszenia chorób odzwierzęcych zrezygnowano z tego sposobu. Inne źródła zwierzęce wykorzystywane do pozyskiwania HA, to grzebień koguta, gałki oczne kręgowców, skóra rekina czy pępowina. Otrzymany w ten sposób kwas hialuronowy charakteryzuje się średnim ciężarem cząsteczkowym od kilku tysięcy Da do ok. 2,5 MDa. Wadą tak otrzymanego materiału jest zanieczyszczenie tego surowca innymi biopolimerami np. białkami, które mogą mieć działanie alergenne. Dlatego też wyodrębniony kwas HA wymaga dokładnego oczyszczenia. Obecnie ten biopolimer pozyskuje się głównie z alg oraz z niektórych gatunków bakterii metodą biotechnologiczną. Najczęściej wykorzystywanymi szczepami do produkcji HA są naturalne szczepy *S. equi* i *S. equi* subsp. *zooepidemicus* [24]. Metoda ta wymaga jednak hodowli bakterii na drogich pożywkach, w związku z tym szuka się mniej wymagających szczepów bakterii. Nowymi szczepami znacznie łatwiejszymi do hodowli są Gram-dodatnie bakterie *Bacillus subtilis*. Metoda otrzymywania kwasu hialuronowego z bakterii nie jest pozbawiona wad. Przede wszystkim istnieje ryzyko mutacji w szczepach bakteryjnych, możliwość wytwarzania różnych toksyn, pirogenów i immunogenów. Dlatego też, kwas hialuronowy, który stosowany jest do leczenia człowieka, tam gdzie wstrzykuje się go do organizmu otrzymywany jest z grzebieni kogucich.

Kwas hialuronowy posiada wiele cennych właściwości, które decydują o jego licznych zastosowaniach. Przede wszystkim wykazuje zdolność do wiązania dużych ilości wody. Wynika to z budowy polikwasu, który jest polianionem zdolnym do wiązania i przyciągania różnego typu jonów np. Ca^{2+} . Charakteryzuje się wysoką zdolnością osmotyczną i na tej zasadzie wiąże wodę. Jedna cząsteczka kwasu może związać 200-500 cząsteczek wody. HA

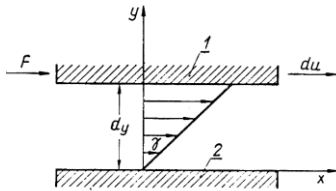
Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

jest dobrze rozpuszczalny w wodzie oraz w roztworach wodno – alkoholowych. Z kolei wysoka lepkość powoduje, że pełni on rolę smaru biologicznego i jest czynnikiem przeciwzapalnym. Jest to także substancja biozgodna, całkowicie wchłaniana przez organizm ludzki. Produkty rozkładu kwasu hialuronowego w organizmie są nietoksyczne, nie wywołują stanów zapalnych, nie posiadają właściwości mutagennych i kancerogennych. Kwas hialuronowy jest wykorzystywany w medycynie, farmacji, w chirurgii plastycznej i w kosmetyce. Biomedyczne zastosowania obejmują okulistykę, otolaryngologię, ortopedię i reumatologię. Ten biopolimer wykorzystuje się min. w transplantacji rogówki oraz siatkówki, w leczeniu fałdów głosowych, stosowany jest, jako zamiennik płynu maziowego w zapaleniu stawów oraz uśmierzaniu bólu, wchodzi w skład kropli do oczu. W przypadku kosmetyków stosuje się najczęściej hialuronian sodu, acylowane oraz sulfonowane pochodne. Z kolei oligomery kwasu hialuronowego, otrzymuje się na drodze degradacji, w celu zwiększenia zdolności penetracji skóry [26]. Z powodu braku niepożądanych reakcji w kontakcie ze skórą jest znakomitym surowcem kosmetycznym. Żelowa konsystencja HA sprawia, że jest uniwersalnym, łatwym w użyciu nośnikiem substancji aktywnych, stosowanym głównie w kremach, tonikach czy mleczkach. Z kosmetycznego punktu widzenia najcenniejsze właściwości tego surowca, to właściwości nawilżające, ochronne, zmiękczone czy gojące.

Wykład 11: Właściwości reologiczne biopolimerów

Termin reologia pochodzi od greckich słów *rheo* co oznacza płynąć i *logos* – słowo, pojęcie, nauka [28,29]. W związku z tym w sensie dosłownym oznacza naukę o płynięciu. Jednakże zakres współczesnej reologii jest znacznie szerszy niż by to wynikało z jej nazwy. Jedną z – prostszych definicji mówi, że *reologia jest to nauka zajmująca się zjawiskami odkształcenia i płynięcia ciał pod wpływem zewnętrznych naprężeń (obciążeń) mechanicznych, a także innych oddziaływań przebiegających w czasie*. Rozwój tej dziedziny nastąpił pod koniec lat dwudziestych XX wieku. Obejmuje ona obszerny zakres, ogólnie możemy ją podzielić na mikroreologię i makroreologię. *Mikroreologia* zajmuje się związkami, jakie występują między rzeczywistą strukturą ciała (na poziomie cząsteczkowym), a właściwościami reologicznymi tego ciała (roztwory polimerów). Z kolei *makroreologia* traktuje badane ciało, jako ośrodek ciągły, który można scharakteryzować za pomocą doświadczalnie określonych parametrów reologicznych z pominięciem rzeczywistej struktury cząsteczkowej ciała. Zjawiska reologiczne mają istotne znaczenie w procesie przetwórstwa i produkcji kosmetyków, polimerów i innych materiałów o złożonej strukturze w stanie ciekłym i plastycznym. Zgodnie z definicją reologii podstawowym terminem reologicznym jest *odkształcenie, czyli deformacja* ciał pod wpływem działania sił zewnętrznych, które wywołują zmiany we wzajemnym ułożeniu elementów tych ciał. Reologia zajmuje się min. pomiarami dla roztworów oraz stopów polimerowych. W reologii płynów polimerowych mamy najczęściej do czynienia z płynięciem. Płynięcie jest nieodwracalnym odkształceniem (rys. 26).

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki



Rys. 26. Płynięcie płynu pomiędzy warstwą ruchomą i nieruchomą.

W reologii rozważa się z reguły te rodzaje polimerów syntetycznych i naturalnych, które można stopić lub rozpuścić. Muszą, więc zawierać makrocząsteczki liniowe lub rozgałęzione. Brak usieciowania jest, więc warunkiem koniecznym, ale niewystarczającym. W przypadku reologii stopionych polimerów badany polimer powinien nie tylko dać się stopić, ale też musi być dostatecznie stabilny chemicznie, aby umożliwić wykonanie pomiarów. Cząsteczki polimerów tak naprawdę nie są wcale stabilne chemicznie. Wiele polimerów liniowych np. celuloza, nie może być stopiona ze względu na swoją wysoką sztywność i duże siły przyciągania międzycząsteczkowego. Jediną alternatywą jest wówczas rozpuszczenie polimeru. Otrzymany roztwór polimeru musi być, z kolei stabilny fizycznie. Badania w roztworze przeprowadzamy dla roztworów stężonych i rozcieńczonych. Lepkie płynięcie roztworów i stopów polimerowych zależy jednak od wielu czynników, między innymi od budowy chemicznej, ciężaru cząsteczkowego, stopnia polidispersji czy temperatury. Reologia bada poza tym zależność charakterystyki płynięcia od naprężenia stycznego τ (ścinającego), definiowanego, jako iloraz siły F działającej stycznie do powierzchni A (rys. 26):

$$\tau = F/A \quad (12)$$

oraz gradientu prędkości przepływu, który w badaniach reologicznych jest wielkością narzucaną układowi i zwany gradientem szybkości ścinania:

$$\gamma = du/dx \quad (13)$$

Jeżeli wymusza się płynięcie płynów, to zgodnie z prawem Newtona występuje liniowa zależność między naprężeniem stycznym a gradientem szybkości ścinania:

$$\tau = \gamma\eta \quad (14)$$

Warunek ten spełniają ciecze newtonowskie. Dla tych cieczy lepkość dynamiczna η jest stała i całkowicie niezależna od prędkości ścinania. Wykres zależności $\tau = f(\dot{\gamma})$, zwany krzywą płynięcia, jest wówczas prostą przechodzącą przez początek układu współrzędnych. Krzywa lepkościowa pokazuje, natomiast zależność lepkości od szybkości ścinania, dla której, to zależności jest funkcje stałą. Lepkości takich cieczy zależy tylko do temperatury i ciśnienia. Do cieczy newtonowskich zaliczamy gazy, małolepkie ciecze czy też roztwory rozcieńczone.

Ciecze nienewtonowskie wykazują wyraźne odstępstwa od zachowania cieczy idealnie lepkich. Opór, jaki stawia ciecz wymuszonej miejscowej zmianie położenia jej elementu objętościowego określa się pojęciem lepkości dynamicznej i lepkości kinematycznej. Lepkość dynamiczną definiuje się na podstawie równania Newtona (rów. 14). Jednostką lepkości dynamicznej jest Pa*s. Jednak dość często wyraża się ją w milipaskalosekundach, starszą jednostką jest centypuaz. Lepkość kinematyczna zdefiniowana jest w następujący sposób:

$$\nu = \frac{\eta}{\rho} \quad (15)$$

gdzie: ρ - gęstość płynu.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

W literaturze spotyka się jeszcze pojęcie płynności, którą definiuje się, jako odwrotność lepkości dynamicznej.

Właściwości reologiczne cieczy nienewtonowskich w danej temperaturze T określa krzywa płynięcia lub krzywa zmian lepkości pozornej η_a , w funkcji szybkości ścinania. Wszystkie ciecze, których krzywe płynięcia nie wykazują zależności prostoliniowej, zalicza się do cieczy nienewtonowskich. Lepkość cieczy nienewtonowskich w określonych warunkach ciśnienia i temperatury nie jest, więc wielkością stałą, lecz zmienia się w zależności od szybkości ścinania, a ponadto może zależeć również od innych czynników, takich jak np.: kształt naczynia czy aparatu, w którym ciecz jest badana, rodzaju procesu, jakim uprzednio była poddawana ciecz itp. Dlatego lepkość wyznaczoną w badaniach reologicznych cieczy nienewtonowskich określa się mianem *lepkości pozornej* η_a (*a* – *apparent* – termin angielski).

Ciecze nienewtonowskie można podzielić na trzy podstawowe typy:

- ✓ *Ciecze reostabilne*, dla których w dowolnym punkcie szybkość ścinania jest funkcją wyłącznie naprężenia stycznego, panującego w tym punkcie.
- ✓ *Ciecze reologiczne niestabilne*, dla których zależność między naprężeniem stycznym a szybkością ścinania zależy od czasu lub też sposobu ścinania.
- ✓ *Ciecze lepkosprężyste* – układy przejawiające pewne cechy charakterystyczne zarówno dla ciał stałych jak i dla cieczy, wykazujące częściowo powrót sprężysty po odkształceniu.

Badania reologiczne przeprowadza się często, także dla płynów biologicznych. W tym wypadku oprócz problemów związanych z przygotowaniem próbki, występują jeszcze inny istotne aspekty. Wszystkie te płyny zawdzięczają nieodmiennie swoją charakterystykę reologiczną nie tylko swej strukturze chemicznej, ale także strukturze drugo- i trzeciorzędowej. Operowanie takimi układami może zmienić ich właściwości w sposób nieodwracalny. W związku z tym należy kierować się przy pracy z takimi płynami pewnymi ogólnymi zasadami. Nie można stosować warunków, które powodują denaturację biopolimerów, czyli zmiany z postaci α helisy do spirali nieuporządkowanej. Denaturację może wywołać także zmiana temperatury lub pH. Zakażenie mikroorganizmami, może spowodować także w krótkim czasie rozwój pleśni. W trakcie procesu ścinania, może dochodzić do utraty wody w żelach biologicznych. Dlatego, też badania reologiczne należy prowadzić w takich warunkach, które zminimalizują te wszystkie efekty. Biopolimery należą głównie do kategorii białek i polisacharydów. Chemiczna złożoność białek i ich funkcji biologicznych powoduje, prowadzenie badań reologicznych związanych z efektami drugo- i trzeciorzędowymi obejmującymi przemianę spirala-kłębek. W przypadku polisacharydów, które składają się z aktywnych optycznie monomerycznych cząsteczek cukru z pojedynczo powtarzającą się jednostką lub z różnymi grupami połączonymi wiązaniami glikozydowymi. Polisacharydy charakteryzują się tym, że łatwo ulegają degradacji w roztworach wodnych z powodu hydrolizy wiązania glikozydowego.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Wykład 12: Źródła pozyskiwania polisacharydów

Polimery naturalne są ważną grupą związków otrzymywanych ze źródeł odnawialnych, czyli roślin i zwierząt. Z tego względu ich źródła są niewyczerpane, przy czym należy pamiętać o tym, że w przypadku tych surowców za każdym razem uzyskujemy trochę inny materiał, gdyż syntezowany jest w organizmie żywym. Na proces syntezy mają, więc wpływ czynniki zewnętrzne takie jak pogoda, wilgotność, warunki uprawy, pożywienie. Dlatego też każda partia naturalnego surowca wymaga szczegółowej analizy i czasami pewnych modyfikacji.

Celuloza wyodrębniana jest z drewna i roślin niedrzewnych w stanie czystym tylko do celów badawczych i analitycznych. Zawartość celulozy w surowcach drzewnych to ok. 45%, w bawelnie 95%, a w konopiach i lnieniu ok. 70%. Wyodrębniony produkt określany jest masami włóknistymi czy celulozowymi, zawiera zawsze pewien udział innych polisacharydów takich jak lignina, hemiceluloza i inne ekstrakty (głównie żywice i tłuszcze). Masy włókniste wytwarza się metodami chemicznymi, mechanicznymi oraz mechaniczno-chemicznymi. Metody chemiczne polegają na procesie roztwarzania, który prowadzi do zmian zarówno fizycznych jak i chemicznych w masie. W trakcie tego procesu następuje usunięcie przeważającej części ligniny (zawartość w wyjściowym materiale stanowić może do 30%), która jest dominującym składnikiem wiążącym poszczególne włókna celulozowe i nadającym im sztywność. Usunięcie ligniny powoduje zmianę struktury i przejście w postać zawierającą pojedyncze włókna. W metodzie mechanicznej istota procesu polega na rozwłóknieniu materiału bez zmiany struktury chemicznej. Otrzymana w ten sposób masa nosi nazwę ścieru i jest otrzymywana wyłącznie z drewna. Metoda chemiczno-mechaniczna stanowi kombinację tych dwóch metod. W metodzie tej najpierw surowiec poddaje się roztworzeniu w środowisku alkalicznym lub kwaśnym, a następnie rozwłókni i bieli lub uszlachetnia. Otrzymane w ten sposób masy poddaje się ocenia w zależności od dalszego przeznaczenia. Jeżeli masy celulozowe są przeznaczone do celów papierniczych, charakteryzuje się je przez określenie: stopnia roztworzenia, mielności, właściwości wytrzymałościowych, wymiaru włókien, barwy i stopnia czystości. Z kolei masy celulozowe stosowane do przerobu chemicznego np. na pochodne celulozy, charakteryzuje się przede wszystkim przez: stopień chemicznej czystości, stopień polimeryzacji, stopień polidispersji, reaktywność. Stopień chemicznej czystości określany jest przez procentowy udział wielkocząsteczkowej celulozy nazywanej α -celulozą oraz niepożądanych składników tj. hemiceluloza, składniki ekstrakcyjne i mineralne. Oznaczenie zawartości α -celulozy i innych składników wykonuje się na podstawie ich różnej podatności na działanie roztworów NaOH. Ilościowy udział w masie poszczególnych polisacharydów określa się na podstawie analizy chromatograficznej. Stopień polimeryzacji czy średni ciężar cząsteczkowy określa się w oparciu o pomiary w roztworze. W związku z tym istotnym aspektem jest przygotowanie odpowiednich roztworów celulozy, które pozwolą wyznaczyć te ważne parametry. Pod pojęciem rozpuszczania polimeru rozumiemy zmianę ich stanu fizycznego ze stałego w ciekły bez zmiany wielkości makrocząsteczek. Dlatego też substancje tj. 72% H_2SO_4 , 40% HCl pod wpływem, których celuloza przechodzi do roztworu, ale ulega jednocześnie degradacji, nie mogą być uznane za jej rozpuszczalniki [30]. Najczęściej stosowanymi rozpuszczalnikami celulozy do celów analitycznych i badawczych są: wodorotlenek tetraaminomiedziowy zwany odczynnikiem Schweizera, wodorotlenek

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

etylenodiaminomiedzi (II), wodorotlenki: kobaltu, cynku, niklu i kadmu rozpuszczone w 30-40% wodnym roztworze etylenodiaminy oraz diaminoacetamid z dodatkiem chlorku litu. Najczęściej średni stopień polimeryzacji oznacza się albo w oparciu o pomiar lepkości (metoda wiskozymetryczna) ze względu na niski koszt metody i prostotę pomiaru, albo stosując metodę chromatografii żelowej (GPC), która jest bardziej wymagająca, ale daje pełną charakterystykę próbki. W metodzie wiskozymetrycznej stosuje się jako rozpuszczalnik wodorotlenek etylenodiaminomiedzi (II), w którym przygotowuje się roztwór celulozy o stężeniu 0,12%(m/v), w temperaturze 20°C. Do pomiaru wykorzystuje się wiskozymetr Ubbelohde'a, termostat i stoper. Na podstawie czasów wpływu dla rozpuszczalnika i kilku stężeń roztworów celulozy wyznacza się wartość granicznej liczby lepkościowej $[\eta]$ z równania Hugginsa [1,31,32], a następnie oblicza się średni stopień polimeryzacji \bar{P} , który można przeliczyć na wiskozymetrycznie średnią masę molową \bar{M}_v z następujących zależności:

$$\text{równanie Hugginsa: } \eta_{sp}/c = [\eta] + k' [\eta]^2 c \quad (16)$$

$$\text{graniczna liczba lepkościowa (GLL): } [\eta] = (\eta_{sp}/c)_{c=0} \quad (17)$$

$$\text{średni stopień polimeryzacji: } \bar{P}^a = K[\eta] \quad (18)$$

$$\text{wiskozymetrycznie średni ciężar: } \bar{M}_v = M_0 \bar{P} \quad (19)$$

gdzie: η_{sp}/c – lepkość specyficzna (cm^3/g), c – stężenie roztworu polimeru (g/cm^3), k' – stała Hugginsa, a i K - stałe liczbowe zależne od rozpuszczalnika i polimer, dla celulozy w roztworze wodorotlenek etylenodiaminomiedzi (II) $a=0,905$, $K=0,75$, M_0 – masa molowa jednostki powtarzalnej.

W przypadku chromatografii żelowej (GPC) pomiary wykonuje się również w rozcieńczonych roztworach celulozy (masa próbki to ok. 7mg), jako rozpuszczalnik stosuje się układ diaminoacetamid z dodatkiem chlorku litu [33]. Do pomiaru niezbędny jest chromatograf GPC zawierający odpowiednie detektory, kolumny skalibrowane na odpowiednie wzorce. Jako wynik analizy otrzymuje się chromatograf, z którego na drodze obróbki matematycznej wyznacza się funkcję rozkładu ciężarów cząsteczkowych, wartości średnich mas tj. \bar{M}_n , \bar{M}_w , \bar{M}_v oraz stopień polidispersji. Wadą tej metody jest wysoka cena aparatury i wzorców, oraz wymagająca dużego doświadczenia kalibracja aparatury.

Chitynę pozyskuje się z pancerzy skorupiaków lub grzybni grzybów. Zawarta w nich chityna jest związana z białkami, minerałami (węglany i fosforany wapnia), tłuszczami i barwinkami (β -karotenem). Usunięcie wyżej wymienionych zanieczyszczeń wymaga przeprowadzenia następujących procesów: deproteinizacji (usuwanie białek), demineralizacja (usuwanie nieorganicznych zanieczyszczeń), dekoloryzacja (usuwanie zabarwień). Każdy z tych etapów może powodować degradację chityny i dalej produkowanego z niej chitozanu, dlatego też wymagają one starannej kontroli. Wybór warunków przeprowadzenia wydzielenia chityny może mieć także istotny wpływ na dalsze jej wykorzystanie. Produkcję chityny rozpoczyna się od umycia i zmielenia pancerzy. Następnie podczas procesu deproteinizacji stosuje się warunki o różnym stopniu agresywności np. roztwór Na_2CO_3 o $c=0,1\text{mol}/\text{l}$ oraz roztwór NaOH o $c=5\text{mol}/\text{l}$ przez okres 4h. Zaobserwowano, że im bardziej agresywne warunki tego

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

procesu tym lepsza, jakość otrzymanego na końcu chitozanu. W procesie demineralizacji wykorzystuje się roztwór HCl o stężeniu w zakresie 0,2-2 mol/l i czasie procesu od 4 do 16h, w temperaturze pokojowej. W trakcie tego etapu może dochodzić do degradacji hydrolitycznej. Dlatego też, aby uzyskać produkt o wysokim ciężarze cząsteczkowym należy stosować łagodniejsze warunki tego etapu. Z kolei proces odbarwienia prowadzi się wykorzystując do tego celu H₂O₂ lub NaOCl. Te czynniki mogą atakować grupę aminową powodując pękanie łańcucha. W związku z tym proces wybielania należy prowadzić jak to możliwe najwcześniej, gdy zawartość tych grup jest jak najmniejsza. Uzyskaną w ten sposób chitynę charakteryzuje się przez oznaczenie stopnia acetylacji stosując do tego celu analizę NMR lub FTIR, a także oznacza się wiskozymetrycznie średni ciężar cząsteczkowy. Metod FTIR jest metodą szybką, sprzęt jest łatwo dostępny [10,19]. Próbkę do badań przygotowuje się najczęściej w postaci pastylek w KBr. Na zarejestrowanym widmie bierze się pod uwagę pasmo analityczne i pasmo wzorca wewnętrznego. W przypadku chityny i chitozanu pasmo analityczne stanowi pasmo amidowe I przy 1650cm⁻¹ lub amidowe II przy 1550cm⁻¹. Z kolei pasmem odniesienia wybiera się najczęściej pasmo grup hydroksylowych przy 3450cm⁻¹ lub pasmo grup metylowych przy 2980cm⁻¹. Wartość stopnia acetylacji oblicza się z zależności:

$$SA = \left(\frac{A_{1650}}{A_{3450}} \frac{1}{1,33} \right) * 100\% \quad (20)$$

lub

$$SA = \left(\frac{A_{1650}}{A_{3450}} * 1,15 \right) * 100\% \quad (21)$$

gdzie: A₁₆₅₀ – absorbcja przy długości fali 1650cm⁻¹, A₃₄₅₀ - absorbcja przy długości fali 3450cm⁻¹, 1,33, 1,15- stałe empiryczne.

Dokładność oznaczenia zależy od sposobu oddzielenia tła od otoczenia, doboru pasma analitycznego i odniesienia, obecności wilgoci w próbce. W literaturze średni ciężar cząsteczkowy oznacza się najczęściej metodą wiskozymetryczną. W przypadku chityny jako rozpuszczalnik stosuje się mieszaninę chlorek litu (LiCl) - N,N dimetyloacetamidu. Podobnie jak dla celulozy w pomiarach wiskozymetrycznych wyznacza się GLL w temperaturze 30°C. Następnie z równania Marka - Houwinka oblicza się wiskozymetrycznie średni ciężar cząsteczkowy:

$$[\eta] = K * \overline{M}_v^a \quad (22)$$

gdzie: K i a są to stałe empiryczne charakterystyczne dla danego układu: polimer/rozpuszczalnik w określonej temperaturze. Dla chityny a = 0,95, K=7,6x10⁻³ml/g [11, 34].

Kolejnym etapem przerobu chityn jest deacetylacja prowadząca do chitozanu. Tak jak wspomniano wcześniej proces deacetylacji prowadzi się w warunkach homogenicznych i heterogenicznych. Deacetylacja homogeniczna wymaga wcześniejszego zalkalizowania chityny w formie dyspersji, a otrzymany produkt charakteryzuje się niewielkim stopniem deacetylacji do 55%. Dlatego też preferowana jest metoda heterogeniczna, gdzie na oczyszczoną chitynę w formie stałej działa się stężonymi roztworami zasad w podwyższonej temperaturze [11]. Otrzymany chitozan charakteryzuje się wysokim stopniem deacetylacji. Średni ciężar cząsteczkowy chitozanu najczęściej oznacza się również metodą

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych” realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

wiskozymetryczną, przy czym ilość dostępnych rozpuszczalników jest znacznie większa niż w przypadku chityny (Tabela 4).

Tabela 4 Parametry K i a z równania Marka – Houwinka [10].

<i>Rozpuszczalnik</i>	K (cm^3/g)	a	<i>zakres mas molowych (10^{-5})</i>
0.2MCH ₃ COOH/ 0.1MNaCl/4M mocznik	8.93×10^{-2}	0.71	1.13-4.92
0.167MCH ₃ COOH/0.47NaCl	111.5	0.147	0.13-1.7
0.1MCH ₃ COOH/0.2NaCl	1.18×10^{-3}	0.93	0.9-11.4
0.33MCH ₃ COOH/0.3NaCl	3.41×10^{-3}	1.02	0.13-1.35
0.33MCH ₃ COOH/ 0.2CH ₃ COONa/0.67MCl ₂ CH ₂ COOH	1.28×10^{-2}	0.85	0.61-1.60

Wykład 13: *Kierunki przerobu polisacharydów*

Wyraźny wzrost zainteresowanie materiałami zawierającymi polimery naturalne związany jest, ze wzrostem zapotrzebowania na produkty o charakterze ekologicznym – przyjazne człowiekowi i jego naturalnemu środowisku. W tym aspekcie jedną z najcenniejszych właściwości polimeru staje się zdolność do szybkiego rozkładu pod wpływem czynników biologicznych oraz przyswojenie przez środowisko produktów tego procesu. Takie biopolimery jak celuloza, chityna i ich pochodne są siłą rzeczy bardziej podatne na biodegradację aniżeli polimery syntetyczne. Z tego względu są one szeroko stosowane w różnych gałęziach przemysłu np. farmacji, medycynie, opakowaniach czy rolnictwie.

Jeden z kierunków wykorzystania polisacharydów, polega na przeprowadzeniu ich kontrolowanej degradacji mającej na celu otrzymanie oligosacharydów. Otrzymane wówczas oligomery mają korzystniejsze właściwości użytkowe, które zależą od struktury cząsteczkowej. Oligosacharydy są to, więc produkty charakteryzowane przez stopień polimeryzacji poniżej 20 i ciężar cząsteczkowy do 4000 Da. Biochemiczną degradację chitozanu może przeprowadzić w warunkach heterogenicznych z zastosowaniem enzymów celulolitycznych. Uzyskane w ten sposób oligosacharydy są rozpuszczalne w wodzie, hamują rozwój wirusów, bakterii roślinnych oraz pleśni w większym stopniu niż wyjściowy chitozan o dużym ciężarze cząsteczkowym [35]. Poza ochronną roślin oligosacharydy można wykorzystać do otrzymania specjalnych mikrokapsulek hydrożelowych o kontrolowanej wytrzymałości mechanicznej i porowatości [36]. Mikrokapsułki i mikrosfery są materiałami o kształcie kulistym o wymiarach od kilku mikrometrów do kilku milimetrów. Mikrosfery stanowią małe porowate kulki polimerowe, będące membranami w całej swej objętości. Wytrzymałość mechaniczną takiego układu można poprawić w wyniku formowania drugiej zewnętrznej membrany z drugiego związku (polimeru) na zasadzie wiązań kowalencyjnych lub jonowych, tworząc w ten sposób mikrokapsułki z płynnym lub hydrożelowym rdzeniem. Do tego celu można wykorzystać formowanie hydrożelowych otoczek na drodze kontrolowanego procesu tworzenia kompleksów polielektrolitowych. Na przykład

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

mikrokapsułki można otrzymać w procesie dwuetapowym z mikrosfer z anionowego alginianu sodu i kationu wapnia oraz wprowadzonego w drugim etapie kationowego oligochitozanu. Otrzymane w ten sposób mikrokapsułki charakteryzują się mniejszym stopniem porowatości, lepszą wytrzymałością na ściskanie, co powoduje, że tego typu materiały mogą być wykorzystywane w technologiach bioimmobilizacji [36].

Innym zastosowaniem biopolimerów jest ich wykorzystanie w nowoczesnych materiałach opatrunkowych [37]. Materiały opatrunkowe nowej generacji można podzielić ze względu na surowiec, z jakich został wyprodukowany na: hydrokoloidowe, alginianowe oraz hydrożele w różnych postaciach tj. żele, filmy czy struktury gąbczaste. Wykorzystanie biopolimerów, takich jak kolagen czy chitozan, pozwala na otrzymanie materiałów zbliżonych do matrycy pozakomórkowej. Zaletą tych materiałów jest ich biogodność, brak toksyczności i mała skłonność do wywoływania odczynów alergicznych. Struktury gąbczaste otrzymuje się przez rozpuszczenie biopolimeru w rozpuszczalniku, homogenizację roztworu i następnie wysuszenie. Takie struktury otrzymuje się z chitozanu i kolagenu. Zastosowanie procesu liofilizacji powoduje zachowanie struktury trzeciorzędowej. Głównym atutem materiałów tego typu jest zdolność do łatwej adsorpcji dużej ilości wydzieliny tkanki, dobre przyleganie do rany i zachowanie wilgotności. Z kolei hydrożele mają postać trójwymiarowej sieci łańcuchów polimerowych zdolnej do pochłaniania dużej ilości wody. W tym wypadku coraz częściej stosuje się biopolimery takie jak: chitozan, alginin, celuloza. Związane to jest z niskim kosztem tych materiałów oraz łatwą dostępnością, ponieważ są to często produkty uboczne lub odpadowe powstające w trakcie przerobu żywności. Hydrożele charakteryzują się znaczną pojemnością adsorpcji, elastycznością, dużą szybkością chłonięcia płynów, wytrzymałością termiczną i chemiczną, biodegradowalnością oraz nietoksycznością.

Kolejnym ciekawym rozwiązaniem nowoczesnej medycyny jest stosowanie narządów hybrydowych np. sztucznej wątroby, w których można wykorzystać między innymi biopolimery [38]. Sztuczny narząd hybrydowy stanowi kombinację żywych komórek z implantami polimerowymi. Podstawowym kryterium, jakie musi spełniać narząd hybrydowy jest niewielkie prawdopodobieństwo jego odrzucenia przez organizm biorcy. Ponieważ przyjmowanie leków immunosupresyjnych powoduje osłabienie ogólnej odporności pacjenta, zdecydowanie lepszym rozwiązaniem wydaje się zastosowanie immunoizolowanego przeszczepu. Wówczas żywe tkanki powleka się błonami półprzepuszczalnymi, które są biogodne i mogą być wykonane z agarozy, alginianu, chitozanu, poli-L-lizyny lub poli(alkoholu winylowego). Wymienione polimery pełnią rolę nieprzepuszczalnej bariery dla elementów układu immunologicznego pacjenta mogących doprowadzić do odrzucenia narządu.

Biopolimery mogą stanowić, również atrakcyjny materiał dla przemysłu opakowaniowego. Tradycyjnie, jako opakowania do żywności stosuje się papier, szkło, metale oraz tworzywa sztuczne [39]. Jednak w ostatnich latach prowadzi się prace nad wykorzystaniem do tego celu polimerów naturalnych tj. białka oraz polisacharydy pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. Zaletą tego typu opakowań jest to, że mogą być spożywane wraz opakowanym produktem. Ponadto, folie z biopolimerów mogą być użyte do opakowania pojedynczych porcji bądź do oddzielenia jej warstw, dzięki temu ogranicza się migrację wilgoci, substancji zapachowych czy lipidów. Folie biopolimerowe mogą też być

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

aktywnym nośnikiem substancji przeciwdrobnoustrojowych, zapachowych, witamin lub przeciwutleniaczy. Folie białkowe otrzymuje się z surowców zwierzęcych tj. kolagen, żelatyna kazeina oraz roślinnych np. zein kukurydzy, gluten pszenicy czy białka soi. W przypadku folii polisacharydowych stosuje się skrobię i jej pochodne, alginany, chitozan czy pektynę. Folie białkowe charakteryzują się bardzo zróżnicowaną wytrzymałością mechaniczną, są kruche, co powoduje konieczność stosowania plastyfikatora, który może pogarszać właściwości mechaniczne folii. Z kolei folie polisacharydowe posiadają lepsze właściwości mechaniczne, przy czym w przypadku folii chitozanowych na obserwowane właściwości ma wpływ stopień deacetylacji oraz rodzaj kwasu, z którego została przygotowana folia. Wszystkie rodzaje folii biopolimerowych mają charakter hydrofilowy, co powoduje ich rozpuszczalność w roztworach wodnych o różnym pH oraz stanowią dobre bariery dla substancji niepolarnych tj. tlen, związki zapachowe czy lipidy. Natomiast obecność grup hydrofilowych powoduje znaczną przepuszczalność pary wodnej, co jest niekorzystne i niepożądane. Dlatego tego typu folie muszą być modyfikowane w celu zmniejszenia przepuszczalności wilgoci. Najczęściej modyfikacja polega na dodatku składników hydrofobowych tj. wyższe kwasy i alkohole tłuszczowe, oleje i woski.

Chitozan i jego pochodne są poza medycyną i farmacją wykorzystywane w przemyśle włókienniczym. Chitozan ze względu na bioaktywność, biodegradowalności i wysoki komfort użytkowania włókien z chitozaniem wykorzystywany jest, jako środek wiążący przy wytwarzaniu włókien [40]. Warstwa chitozanu znajdująca się na powierzchni włókna, ze względu na występowanie wolnych grup aminowych, posiada zdolność wiązania aldehydu mrówkowego znajdującego się w powietrzu wewnątrz pomieszczeń. Ponadto, chitozan może być także stosowany, jako środek do uzyskania trwałego wykończenia przeciwbrudowego. Ponieważ wykazuje on charakter higroskopijny, co powoduje odprowadzenie ładunków elektrycznych z wyrobu włókienniczego i w konsekwencji zmniejszenie zdolności wyrobu do brudzenia się. W tym celu stosuje się roztwory chitozanu lub jego rozpuszczalne sole w połączenie z fluorowanymi polimerami.

Wykład 14: *Mieszaniny polimerowe zawierające biopolimery*

Produkcja materiałów polimerowych rosła szybko w minionych 50 latach i nadal istnieje ogromne zapotrzebowanie na nowe materiały o ściśle określonych właściwościach do bardzo specyficznych zastosowań w różnych gałęziach przemysłu i gospodarki. Otrzymywanie nowych materiałów polimerowych przeprowadza się bądź poprzez syntezę nowych monomerów i następnie ich polimeryzację, co jest dość czasochłonne i nierzadko kosztowne, bądź przez mieszanie w stopie lub w roztworze dwóch lub więcej homopolimerów, aby uzyskać efekt synergetyczny. Ta ostatnia metoda jest zwykle tańsza. Dodatkowa korzyść z otrzymania mieszanin polimerowych jest taka, że właściwości materiałów można dopasowywać przez łączenie składników i zmianę ich składu. Dlatego też, materiały polimerowe oparte na mieszaninach dwóch składników polimerowych wypierają w ostatnich latach materiały zawierające tylko jeden składnik polimerowy. Mieszanie jest formą fizycznej modyfikacji polimerów. Wyjaśnienie zależności między strukturą, a właściwościami mieszanin jest istotne z naukowego punktu widzenia, ale ma również duże znaczenie

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

technologiczne. Mieszaniny polimerowe można podzielić ze względu na ich stan fazowy na:
1) mieszalne na poziomie cząsteczkowym tworzące układy jednofazowe, homogeniczne oraz
2) niemieszalne, czyli układy wielofazowe, heterogeniczne. Układ polimer/polimer jest mieszalny, gdy entalpia mieszania ma wartość ujemną, wynikającą ze specyficznych oddziaływań pomiędzy różnymi chemicznie makrocząsteczkami. Jest to warunek konieczny lecz niewystarczający. Dla uzyskania jednofazowej stabilności mieszaniny musi być spełniony następujący warunek:

$$\left(\frac{\partial^2 \Delta G_M}{\partial \varphi_i^2} \right)_{p,T} > 0 \quad (23)$$

gdzie: ΔG_M – entalpia swobodna mieszania ; φ_i – ułamek objętościowy składnika w mieszaninie; p – ciśnienie; T – temperatura (K). Większość mieszanin polimerowych jest klasyfikowana jako układy niemieszalne, w których występuje podział fazowy. W literaturze wprowadza się dalszy podział mieszanin i oprócz układów mieszalnych wyróżnia się także układy kompatybilne (zgodne), w których składniki nie są wymieszane na poziomie cząsteczkowym, ale występuje w nich adhezja międzyfazowa, która sprawia, że układ jest użyteczny handlowo. Brak adhezji międzyfazowej związanej z brakiem oddziaływań międzyfazowych sprawia, że mieszanina taka nie może być wykorzystana do żadnych celów, chyba, że wprowadzi się do niej trzeci składnik, który poprawi adhezję międzyfazową. Reasumując, właściwości fizykochemiczne mieszanin polimerowych zależą od oddziaływań międzycząsteczkowych jej składników. Jeżeli istnieje możliwość takich oddziaływań, wymieszanie chemicznie różnych składników polimerowych może mieć miejsce nawet na poziomie molekularnym i właściwości mieszaniny mogą wykazywać efekt synergetyczny. I tylko takie mieszaniny mogą potencjalnie znaleźć dalsze zastosowanie.

Gdy oddziaływania międzycząsteczkowe są słabe lub nie występują, w układzie obserwuje się granice podziału, a właściwości fizykochemiczne takiego układu zmieniają się w sposób trudno przewidywalny. Zatem podstawową charakterystykę mieszaniny związków wielkocząsteczkowych stanowi ocena stopnia jej mieszalności.

Stopień mieszalność składników zależy od:

- ✓ budowy chemicznej składników, warunkującej występowanie,
- ✓ oddziaływań specyficznych, które obejmują: wiązania wodorowe, donorowo–akceptorowe, oddziaływania jonowe, jonowo–dipolowe i z przeniesieniem ładunku,
- ✓ składu mieszaniny,
- ✓ ciężaru cząsteczkowego składników mieszaniny – większy stopień mieszalność obserwuje się dla mieszanin o takich samych lub porównywalnych ciężarach cząsteczkowych niż dla układów o zdecydowanie różnych ciężarach cząsteczkowych składników polimerowych.

Najczęściej mieszaniny polimerowe do badań uzyskuje się przez rozpuszczenie polimerów we wspólnym rozpuszczalniku i zmieszanie w odpowiednim stosunku wagowym. Tak otrzymane mieszaniny bada się bezpośrednio w roztworze lub wylewa z roztworu w celu uzyskania cienkich błon polimerowych do badań w stanie stałym. Bardzo ważne znaczenie w

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

badaniach mieszalność polimerów ma, więc zastosowany rozpuszczalnik i jego wpływ na mieszalność składników polimerowych. Jak wykazały badania termodynamiczna jakość rozpuszczalnika jest istotna nie tylko w przypadku badań w roztworze, ale także wpływa na jednorodność błon polimerowych otrzymywanych z roztworu [41-43]. Stopień mieszalności składników polimerowych może być mały, gdy otrzymana mieszanina została uzyskana z roztworu selektywnego rozpuszczalnika, czyli termodynamicznie dobrego tylko dla jednego z polimerów. Temperatura, w której zachodzi odparowanie rozpuszczalnika może mieć także wpływ na stopień mieszalności składników polimerowych.

W literaturze jest opisanych szereg metod stosowanych do oceny stopnia mieszalności składników polimerowych oraz właściwości fizykochemicznych mieszanin polimerowych. Ogólnie wszystkie metody możemy podzielić na ilościowe i jakościowe. W pierwszej grupie metod znajdują się te, które umożliwiają sporządzenie diagramu fazowego lub wyznaczenie wartości parametru oddziaływania. Należą do nich turbidymetria, metody oparte na rozpraszaniu światła, małokątowe rozpraszanie neutronów oraz techniki fluoroscencyjne. Metody drugiej grupy pozwalają natomiast ocenić mieszalność i są częściej stosowane w praktyce. Wykorzystuje się tutaj metody termiczne: DSC, DMA, metody spektroskopowe z wykorzystaniem NMR i podczerwieni FTIR, mikroskopię, wiskozymetrię i reologię.

Mieszalność i właściwości fizykochemiczne mieszanin polimerów naturalnych takich jak chitozan, celuloza, skrobia z polimerami syntetycznymi jest szeroko opisana w literaturze [11,18,44]. W mieszaninach z biopolimerami stosuje się przede wszystkim takie syntetyczne polimery jak poli(N-winylopirolidon), poli(alkohol winylowy), poli(tlenek etylenu). Są to polimery winylowe, rozpuszczalne w wodzie, które mogą wykazywać duży stopień mieszalności z polisacharydami właśnie dzięki możliwości oddziaływań międzycząsteczkowych, pomiędzy grupami funkcyjnymi obecnymi w łańcuchu polimerowym. Wodochłonne opatrunki hydrożelowe trzeciej generacji, otrzymuje się z mieszanin polimerów naturalnych np. agaru, pektyny czy żelatyny z polimerami syntetycznymi np. poli(tlenkiem etylenu) [37]. Dzięki dużej elastyczności mogą one okrywać rany urazowe, oparzenia, odleżyny. Znaczna chłonność opatrunku wpływa na higienę i estetykę gojenia rany. Ponadto tego typu hydrożele umożliwiają wprowadzenie do wnętrza rany substancji bakteriobójczych i przyspieszających gojenie ran. Obecnie prowadzi się badania zmierzające do uzyskanie nietoksycznych hydrożeli polisacharydowych, które po wprowadzeniu do organizmu ulegałyby żelowaniu. Takimi materiałami mogą być mieszaniny żelatyny i chitozanu [37,45]. Hydrożele chitozanowo-żelatynowe sieciowały pod wpływem enzymu tyrozynazy, dając dobry materiał na oparzenia i rany. Od razu po naniesieniu żelu materiał uzyskiwał odpowiednie właściwości mechaniczne, a odporność na degradację można regulować za pomocą stężenia chitozanu i żelatyny. Wadą tych materiałów jest pękanie po określonym czasie użytkowania. Mieszaniny polimerowe w postaci hydrożeli można wykorzystać także w inżynierii tkankowej. Przykładem takich mieszanin są mieszaniny chityny z kolagenem [37]. Chityna w takim materiale pełni rolę osnowy matrycy ze względu na łatwość tworzenia rusztowań. Natomiast kolagen poprawia właściwości adhezyjne matrycy i stwarza przyjazne środowisko rozwoju komórek. Otrzymany materiał ma zdolność wiązania niektórych składników surowicy, stymulując wspólnie proliferację komórek. Materiały hydrożelowe na bazie mieszanin można wykorzystywać również od otrzymywania leków z

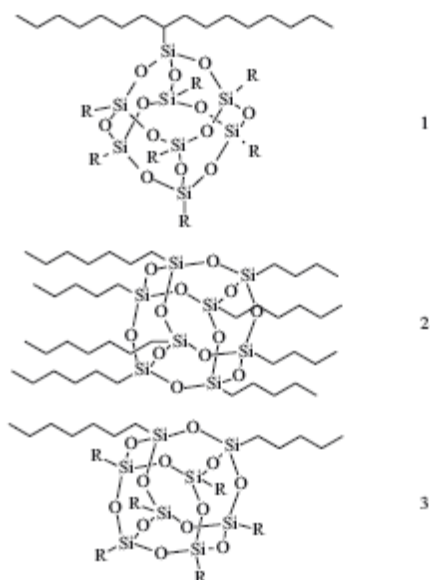
Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

kontrolowanym uwalnianiem. Na przykład złożona mieszanina poli(alkoholu winylowego) i poli(kwasu akrylowego) z kolagenem i kwasem hialuronowym dała materiał o wysokich właściwościach mechanicznych i dużej biogodności. W takiej mieszaninie unieruchomiono hormon wzrostu, który był uwalniany w sposób kontrolowany, głównie w zależności od ilości kolagenu w preparacie.

Wykład 15: Kompozyty biopolimerowe

Kompozyty polimerowe, to kolejna grupa materiałów po mieszaninach polimerowych odgrywająca coraz większą rolę w współczesnych materiałach stosowanych w medycynie, farmacji i innych gałęziach przemysłu. Kompozyt polimerowy zawiera matrycę polimerową, w której został rozproszony dodatek organiczny czy nieorganiczny, który tworzy domeny różnej wielkości. Im mniejsza wielkość domen tym lepsze właściwości fizykochemiczne danego kompozytu. Jeżeli wielkość domen jest rzędu nanometrów lub dziesiątek nanometrów to otrzymujemy nanokompozyt [6]. Przy czym dodatek fazy rozproszonej w tym wypadku jest niewielki rzędu do 3-5%. W klasycznych kompozytach, w których wielkość fazy rozproszonej jest znacznie większa, jej ilość jest rzędu 30-90%. Nanododatki występują w postaci proszków (napelniacze 3D), włókien (napelniacze 2D) oraz prętów (napelniacze 1D). Napelniacze 3D stanowią metale tj. Ag, Au, Pt, Cu, koloidalna krzemionka, kreda, tlenki metali np. Al_2O_3 , ZnO, TiO_2 , odmiany węgla, czyli fulereny, sadza. Ostatnio duże zainteresowanie wzbudzają hybrydowe napelniacze typu 3D zawierające poliedryczne oligosiloksyleny (POSS) (rys. 27). Wzory 1-3 (rys. 27) pokazują strukturę POSS oraz sposoby wbudowania w łańcuch polimerowy. W tego typu układach klatki POSS są chemicznie wbudowane w makrołańcuchy w postaci grup bocznych, węzłów sieci lub fragmentów łańcucha głównego. POSS to związki klatkowe zbudowane z wielokrotności trójfunkcyjnych jednostek krzemianowych, w których na 1 atom Si przypada 1,5 atomu tlenu $[\text{RSiO}_3/2]_n$ $n= 6,8,10,12$. Wymiar struktur klatkowych jest rzędu od kilkunastu do kilkudziesięciu Å, a po wprowadzeniu do matrycy organicznej aglomerują tworząc nanometryczne krystality. Obecnie pracom dotyczącym otrzymywania kompozytów polimerowych ze zdyspergowanymi w matrycy polimerowej nanonapelniaczami, takimi jak organofilizowane krzemiany warstwowe (głównie montmorylonit), krzemionka lub nanorurki węglowe, towarzyszy wzrost zainteresowania nieorganicznymi nanonapelniaczami reaktywnymi wbudowanymi w strukturę polimeru organicznego. Jakie są zalety tych materiałów: POSS są to substancje dobrze rozpuszczalne zarówno w licznych rozpuszczalnikach organicznych, jak i w monomerach, w związku, z czym mogą być wprowadzane do układu reakcyjnego już na etapie syntezy polimeru; ponadto nie jest przy tym konieczne stosowanie specjalnych zabiegów w celu ich zdyspergowania w monomerze. Uzyskane w ten sposób materiały charakteryzują się dobrymi właściwościami mechanicznymi, większą stabilnością termiczną i zmniejszoną palnością.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki



Rys. 27. Struktura kompozytów z POSS [46].

Kompozyty zawierające nanonapełniacze 3D otrzymać można albo przez mieszanie z polimerami w stanie stopionym lub przez mieszanie z wodnymi dyspersjami polimerów albo syntezując napełniacz z małowcząsteczkowych prekursorów zdyspergowanych w matrycy polimerowej. Typowymi nanonapełniaczami 2D są nanorurki i nanowłókna węglowe. Podstawowym problemem występującym w syntezie z udziałem nanorurek węglowych jest ich aglomeracji i tworzenie splątanych, wielowłóknistych pasm oraz słaba siła oddziaływania na granicy faz polimer-nanorurka. Dlatego też, powierzchnie nanorurek poddaje się modyfikacji radiacyjnej lub chemicznej. W ostatnich latach opanowane zostały także metody otrzymywania nanowłókien celulozy i chityny, które mogą stanowić nanododatki do modyfikacji polimerów biodegradowalnych. Do napełniaczy 1D należą przede wszystkim montmorylonit i inne naturalne glinokrzemiany o budowie warstwowej oraz produkty ich modyfikacji chemicznej. Glinokrzemiany tworzą trzy typy kompozytów polimerowych: mikrokompozyty, w których makrocząsteczki nie penetrują przestrzeni międzywarstwowych; nanokompozyty interkalowane, uporządkowana morfologia napełniacza, ale jego monowarstwy rozsunięte i ułożone przemiennie z warstwami polimeru oraz nanokompozyty eksfoliowane ze zniszczoną laminarną strukturą napełniacza i pojedynczymi monowarstwami jednorodnie zdyspergowanymi w matrycy polimerowej. Wyniki badań przedstawione w literaturze [6] wykazały zakres i stopień modyfikacji właściwości matrycy polimerowej, który jest zależny od: rodzaju i reaktywności grup funkcyjnych na powierzchni modyfikatora, siły i rodzaju oddziaływań na granicy faz polimer – nanocząstka, względnej zawartości napełniacza w kompozycie, wymiaru i kształtu cząstek modyfikatora, sposobu organizacji i homogenizacji zdyspergowanych nanocząstek w matrycy polimerowej oraz właściwości zastosowanego polimeru. Ocenę otrzymanego kompozytu dokonuje się stosując takie metody jak szerokokątowa dyfrakcja promieni rentgenowskich (WAXS), małokątowe rozproszenie promieni rentgenowskich (SAXS) oraz transmisyjną mikroskopię elektronową (TEM).

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Metoda (WAXS) pozwala na podstawie pozycji, kształtu i intensywności uzyskanych refleksów rentgenowskich, rozproszonych na warstwach określić czy struktura nanokompozytu jest interkalowana czy eksfoliowana. Metoda ta umożliwi również określenie struktury przestrzennej warstw oraz odległości między nimi, zarówno w wyjściowym nanonapełniaczu jak i w nanokompozycie w zakresie odległości od 1 do 4 nm. Uzupełnieniem tych badań są obrazy (TEM), które pozwalają na poznanie struktury wewnętrznej i przestrzennego rozproszenia różnych faz oraz stwierdzenie występowania defektów strukturalnych. Połączenie techniki pomiarowej WAXS z SAXS pozwala na określenie trójwymiarowej organizacji elementów organicznych i nieorganicznych struktury nanokompozytów. Interpretacja wyników jest jednak dość trudna i wymaga zaawansowanej analizy matematycznej. Połączenie obu metod daje kompletny obraz struktury wewnętrznej nanokompozytu, bowiem metoda SAXS jest dokładniejsza od WAXS w zakresie niskich kątów 2θ . Nanokompozyty i kompozyty biopolimerowe są stosowane w medycynie, jako biomateriały [38]. Takie materiały zawierają metale i stopy metali np. Fe, Co, Cr-Ti, amalgamaty, materiały ceramiczne tj. bioszkle, hydroksyapatyty oraz ewentualnie komórki i tkanki ludzkie. Ze względu na biodegradację biokompozyty polimerowe dzieli się na: nieresorbowane np. aluminium/poli(metakrylan metylu), włókno węglowe/polistyren; częściowo resorbowalne np. włókno węglowe/poli(L-laktyd), poli(tereftalan etylenu)/kolagen oraz całkowicie resorbowalne np. poli(L-laktyd)/poliglikolid, poli(L-laktyd)/ poli(D,L-laktyd). W inżynierii tkankowej związek wielkocząsteczkowy pełni rolę matrycy umieszczonej pomiędzy implantami ceramicznymi a tkanką ludzką. Takie rozwiązania stosuje się w leczeniu uszkodzeń kości, ścięgien czy chrząstek stawowych. Z kolei w inżynierii genetycznej stosując wektory genetyczne pozwalające na wprowadzenie do komórki kodu DNA, polimery biomedyczne również pełnią rolę matrycy. Wektorami genetycznymi mogą być wirusy wówczas kod DNA wprowadza się do komórek na drodze ich transfekcji. Komórki po takim zabiegu posiewa się na odpowiedniej matrycy, którą następnie implantuje się w uszkodzone miejsce. Matryce przeznaczone do użycia w inżynierii genetycznej wykonuje się najczęściej z poli(hydroksykwasów), kolagenu lub alginianu.

Literatura

- [1] L. Huppenthal, *Roztwory polimerów*. Wydawnictwo UMK, Toruń 2008.
- [2] L. Stryer, *Biochemia*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2003.
- [3] W. Surewicz, *Podstawy technologii mas włóknistych*. Wydawnictwo Naukowe-Tehniczne, Warszawa 1971.
- [4] D. Ciechańska, H. Struszczyk, K. Guzińska, Biosynthesis of cellulose in static conditions. *Fibres & Textiles in Easter Europe*, 1998, **1**: 59-62.
- [5] B. Surma – Ślusarska, D. Danielewicz, Rozpuszczalność różnych rodzajów celulozy w cieczach jonowych. *Przegląd papierniczy*, 2012, **68**: 43-49.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

- [6] Z. Florjańczyk, M. Dębowski, E. Chwojnowska, K. Łokaj, J. Ostrowska, Polimery syntetyczne i naturalne w nowoczesnych materiałach polimerowych. *Polimery*, 2009, **54**: 611-625.
- [7] S.M. Alistair, O.P. Glyn, Food polysaccharides and their application. New York, 1995, 123-159.
- [8] S. El-Sayed, K.H.Mahmoud, A.A.Fatah, A.Hassen, DSC, TGA and dielectric properties of carboxymethylcellulose/polyvinyl alcohol blends. *Physica B*, 2011, **406**: 4068–4076.
- [9] F. Yaşar, H. Toğrul, N. Arslan, Flow properties of cellulose and carboxymethyl cellulose from orange peel. *Journal of Food Engineering*, 2007, **81**: 187–199.
- [10] G.A.F. Roberts, Chitin chemistry. 1st ed. London: Macmillan Press Ltd.; 1992.
- [11] M. Rinaudo Review, Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polym Int* 2008; **57**: 397-430.
- [12] P. Kubisa, Perspektywy zastosowań cieczy jonowy w chemii polimerów. *Polimery*, 2006, **51**:485-490
- [13] K. A. Kopka, M. M. Jaworska, Influence of imidasolium ring on chitin dissolution in ionic liquids. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives*, Monograph, Polish Chitin Society, Lodz, 2012, vol. XVII, 37-42.
- [14] M. H. Struszczyk, Chitin and Chitosan. Part I Properties and production. *Polimery*, 2002; **45**: 316-323.
- [15] M.H. Struszczyk Chitin and Chitosan. Part II: Applications of chitosan. *Polimery* 2002; **47**: 396-401.
- [16] M.H. Struszczyk Chitin and Chitosan. Part III: Some aspects of biodegradation and bioactivity. *Polimery* 2002; **47**: 619-629.
- [17] R. J. Samuels, Solid state characterization of the structure of chitosan films. *J. Polym. Sci. , Polym. Phys. Ed.*, 1981, **19**: 1081-1105.
- [18] K. Lewandowska, Miscibility and interactions in chitosan acetate/poly(N-vinylpyrrolidone) blends. *Thermochimica Acta*, 2011, **517**: 90-97.
- [19] M. Ratajska, M. H. Struszczyk, S. Boryniec, M.G. Peter, F. Loth, The degree of deacetylation of chitosan: optimisation of the IR method. *Polimery*, 1997,**42**: 572–575.
- [20] L. Upadhyaya, J. Singh, V. Agarwal, R.P. Tewari, Review: Biomedical applications of carboxymethyl chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 2013, **91**: 452-466.
- [21] A. Niekraszewicz, H. Struszczyk, M. Wiśniewska-Wrona, M Kucharska, Effect of microcrystalline chitosan manufacture parameters on its molecular and super-molecular chitosan. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives*, Monograph, Polish Chitin Society, Lodz, 1996, vol. II, 41-47.
- [22] B. Lipp-Symonowicz, S. Kowalska, H. Wrzosek, Modyfikacja właściwości mechanicznych włókien chitozanowych przy wykorzystaniu reaktywnych barwników dwufunkcyjnych. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives*, Monograph, Polish Chitin Society, Lodz, 1996, vol. II, 216-219.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

- [23] L. Szosland, Dibutrylochityna: synteza i wybrane właściwości. Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives, Monograph, Polish Chitin Society, Lodz, 1995, vol. I, 16-25.
- [24] D. Czajkowska, M. Milner-Krawczyk, M. Kazanecka. Kwas hialuronowy – charakterystyka, otrzymywanie i zastosowanie. Biotechnology and Food Science, 2011, **75**: 55-70.
- [25] F. Picotti, M. Fabbian, R. Gianni, A. Sechi, L. Stucchi, M. Bosco, Hyaluronic acid lipoate: synthesis and physicochemical properties, Carbohydrate Polymers, 2013, **93**: 273-278.
- [26] W. Yue, Preparation of low molecular weight hyaluronic acid by ozone treatment, Carbohydrate Polymers, 2012, **89**: 709-712.
- [27] G. Kogen, L. Soltes, R. Stern, P. Gemeiner, Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial application. Biotechnology Letters, 2007, **29**: 17-25.
- [28] J. Ferguson, Z. Kembłowski, Reologia stosowana płynów. wyd. Marcus, Łódź 1995.
- [29] W.L. Wilkinson, Ciecze nienewtonowski. WNT, Warszawa 1960.
- [30] E. Treiber, Properties of cellulose materials. [w] Polymer Handbook, Wiley & Sons, New York, 1975, V-85 - V-116.
- [31] W. Heller, Treatment of viscosity data on polymer solutions (an analysis of equations and procedures): I. Intrinsic viscosity and limiting slope constants. J. Colloid Sci., 1954, **9**: 547-573.
- [32] M. Bohdančy, I. Kováf, The viscosity of polymer solutions of finite concentration. In A.D. Jenkins (ed.), Viscosity of Polymer Solution. vol. 2, Elsevier Science, Amsterdam, 1982.
- [33] S. Boryniec, G. Strobin, K. Bartos, Chromatografia żelowa w badaniach nad chemiczną obróbką celulozy. Polimery, 1999, **44**: 339–344.
- [34] M. Poirier, G. Charlet, Chitin fractionation and characterization in *N,N*-dimethylacetamide/lithium chloride solvent system. Carbohydrate Polymers, 2002, **50**:363-370.
- [35] A. Niekraszewicz, D. Ciechańska, M. Wiśniewska-Wrona, G. Strobin, H. Pospieszny, L.B. Orlikowski, Studies of application possibilities of products of microcrystalline chitosan biodegradation. Polimery, 2007, **52**: 217-220.
- [36] A. Bartkowiak, W. Brylak, Hydrożelowe mikrokapsułki z udziałem naturalnych i chemicznie modyfikowanych chitozanów – właściwości mechaniczne i porowatość. Polimery, 2006, **51**: 547-554.
- [37] G. Gorczyca, R. Tylingo, Biopolimery w konstrukcji nowoczesnych materiałów medycznych o aktywności antyrodnoustrojowej. Polimery, 2011, **56**: 709-715.
- [38] E. Olędzka, M. Sobczak, W.L. Kołodziejski, Polimery w medycynie – przegląd dotychczasowych osiągnięć. Polimery, 2007, **52**: 795-803.
- [39] K. Sztuka, I. Kołodziejska, Jadalne folie oraz powłoki powierzchniowe z polimerów naturalnych stosowane do opakowań żywności. Polimery, 2008, **53**: 627-630.

Projekt pn. „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych”
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

- [40] B. Gajdzicki, Z. Możyszek, H. Struszczyk, M. Oczkowski, E. Rybicki, Zastosowanie chitozanu w procesach chemicznej obróbki wyrobów włókienniczych. Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives, Monograph, Polish Chitin Society, Lodz, 1995, vol. I, 94-102.
- [41] A. Dondos, V. Christopoulou, D. Papanagopoulos, The influence of the molecular mass of two incompatible polymers on their miscibility in the solid state without compatibilizer after casting from solution. J Polym Sci, 1999, **37**: 379-387.
- [42] A. Dondos, V. Christopoulou, D. Papanagopoulos, Relation between the repulsion of incompatible and compatible polymers in solution and their degree of mixing in the solid state: the memory effect. Polym Int, 2000, **49**: 1365-1370.
- [43] K. Lewandowska, The miscibility of poly(vinyl alcohol)/poly(N-vinylpyrrolidone) blends investigated in dilute solutions and solids. Eur Polym J 2005, **41**: 55-64.
- [44] A. Sionkowska, Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: Review. Progress in Polymer Science, 2011, 36: 1254-1276.
- [45] T. Chen, H. Embree, E. Brown, M. Taylor, G. Payne, Enzyme-catalyzed gel formation of gelatin and chitosan: potential for in situ applications. Biomaterials, 2003, **24**: 2831-2841.
- [46] B. Jankowski, K. Pielichowski, Polimery nanohybrydowe zawierające poliedryczne oligosilseskwioxany. Polimery 2008, **53**: 87-98.