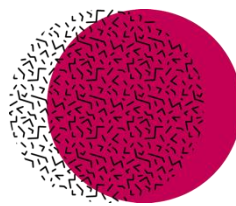




Politechnika Łódzka



WTMIWT
Wydział Technologii
Materiałowych
i Wzornictwa Tekstyliów

Politechnika Łódzka
Wydział Technologii Materiałowych i Wzornictwa Tekstyliów
Instytut Włókiennictwa

Rozprawa doktorska

Badania nad wykorzystaniem innowacyjnych estrowych pochodnych chityny do
otrzymywania materiałów o potencjalnym zastosowaniu w medycynie

mgr inż. Anna Bednarowicz

Promotor: dr hab. inż.: Grzegorz Szparaga

Promotor pomocniczy: dr inż.: Ewelina Pabjańczyk- Wlazło

Łódź 2024

Pragnę wyrazić serdeczne podziękowania mojemu Promotorowi, Panu dr hab. inż. Grzegorzowi Szparadze, za nieocenione wsparcie oraz cenne wskazówki, które były nieodłączną częścią mojej pracy naukowej.

Dziękuję również mojej Promotor Pomocniczej, Pani dr inż. Ewelinie Pabjańczyk-Wlazło, za zaangażowanie, życzliwość oraz konstruktywną krytykę, które znacząco przyczyniły się do powstania tej pracy.

Wyrazy wdzięczności kieruję do mojej rodziny, której miłość, wsparcie i zrozumienie były dla mnie nieocenione przez cały okres pracy nad tą pracą.

Chciałbym również podziękować moim koleżankom i kolegom z Łukasiewicz – Łódzkiego Instytutu Technologicznego za wsparcie, wspólne dyskusje oraz inspirację, która motywowała mnie do dalszych badań.

Na koniec, szczególne podziękowania kieruję do Niny Tarzyńskiej, za nieustającą motywację, ogromne pokłady cierpliwości i wsparcie w trudnych chwilach.

Dziękuję za wiarę w moje możliwości i pomoc, która wielokrotnie pozwoliła mi przezwyciężyć wszelkie trudności.

Dziękuję wszystkim, którzy przyczynili się do realizacji tej pracy – bez Waszego wsparcia nie byłoby to możliwe.

Spis treści

WYKAZ SKRÓTÓW.....	7
STRESZCZENIE.....	9
ABSTRACT.....	11
1. Wstęp.....	13
1.1. Polisacharydy.....	13
1.2. Chityna.....	16
1.3. Źródła chityny.....	16
1.4. Ekstrakcja chityny.....	21
1.5. Struktura chityny.....	23
1.6. Właściwości.....	26
1.7. Modyfikacje chityny.....	27
1.8. Zastosowania chityny i jej pochodnych.....	36
2. Cel i hipoteza.....	41
3. Materiały i metody.....	43
3.1. Materiały.....	43
3.2. Synteza butyrylo-bursztyno chityny (BSC).....	43
3.3. Badania nad potencjałem aplikacyjnym butyrylo-bursztyno chityny.....	45
3.4. Metody badań.....	47
4. Wyniki badań.....	57
4.1. Synteza kopolimeru butyrylo-bursztyno chityny z użyciem kwasu nadchlorowego.....	57
4.2. Synteza kopolimeru butyrylo-bursztyno chityny z użyciem jako katalizatora kwasu metanosulfonowego- wariant I.....	59
4.3. Synteza butyrylo-bursztyno chityny z użyciem jako katalizatora kwasu metanosulfonowego- wariant II.....	66
4.4. Ocena właściwości folii.....	79

4.5.	Analiza właściwości reologicznych roztworów kopolimerów butyrylo- bursztyno chityny	83
4.6.	Ocena właściwości włókien formowanych z roztworu na mokro	88
4.7.	Ocena właściwości mikrowłókien wytworzonych metodą elektroprzędzenia- analiza skaningowym mikroskopem elektronowym	96
4.8.	Ocena właściwości wytworzonych materiałów porowatych	106
5.	Podsumowanie.....	117
BIBLIOGRAFIA		121
SPIS RYSUNKÓW		141

WYKAZ SKRÓTÓW

¹H NMR- spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego

BAC- butyrylo- acetylo chityna

BSC 90/10; 80/20; 70/30; 60/40- produkt syntezy z użyciem kwasu metanosulfonowego jako katalizatora, zawierający grupy bezwodnika kwasu masłowego i bursztynowego w stosunku odpowiednio: 90/10; 80/20; 70/30; 60/40

BSC- butyrylo- bursztyno chityna

DBC- dibutyrylochityna

DMAC- *N,N*-dimetyloacetamid

DMF- *N,N*-dimetyloformamid

DMSO- dimetylosulfotlenek

EtOH- alkohol etylowy

FTIR- spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera

SEM- skaningowa mikroskopia elektronowa

Synteza 1/2/3/4- produkt syntezy z użyciem kwasu nadchlorowego jako katalizatora, zawierający grupy bezwodnika kwasu masłowego i bursztynowego w stosunku 95/5; 85/15; 75/25; 65/35

Synteza 1a/2a/3a/4a- produkt syntezy z użyciem kwasu metanosulfonowego jako katalizatora, zawierający grupy bezwodnika kwasu masłowego i bursztynowego w stosunku 95/5; 85/15; 75/25; 65/35

Synteza 1a/2b/3b/4b- produkt syntezy z użyciem kwasu metanosulfonowego jako katalizatora, zawierający grupy bezwodnika kwasu masłowego i bursztynowego w stosunku 90/10; 80/20; 70/30; 60/40

TGA- analiza termograwimetryczna

STRESZCZENIE

Chityna jest drugim po celulozie najczęściej występującym polisacharydem w przyrodzie. Posiada ona unikalne właściwości takie jak biokompatybilność, biodegradowalność, aktywność hemostatyczna, antybakteryjność czy zdolność do promowania regeneracji tkanek. Dzięki tym cechom chityna stanowiłaby doskonały materiał do zastosowań medycznych, jednak kluczowym wyzwaniem w jej przypadku pozostaje ograniczona rozpuszczalność. Nie rozpuszcza się ona w wodzie, ani konwencjonalnych rozpuszczalnikach organicznych, co sprawia, że nadal poszukuje się metod jej modyfikacji, w celu wytworzenia rozpuszczalnych pochodnych. Dodatkowo możliwość szerszego wykorzystywania chityny byłaby niezwykle korzystna z punktu widzenia zrównoważonego rozwoju. Przyczyniłaby się ona do redukcji odpadów powstających w przemyśle spożywczym, co wpisuje się również w aktualną koncepcję gospodarki o obiegu zamkniętym. Nowe pochodne chityny mogą być projektowane do wybranych wymagań aplikacyjnych, w celu maksymalizacji ich korzystnych właściwości.

Celem pracy było opracowanie metody syntezy nowej pochodnej chityny-butyrylo- bursztyno chityny poprzez reakcję estryfikacji grup hydroksylowych chityny z wykorzystaniem bezwodników kwasu masłowego i bursztynowego oraz ocena jej możliwości aplikacyjnych. Pierwszym etapem prowadzonych prac było opracowanie metody syntezy, które obejmowało dobór katalizatora, stosunku stosowanych substratów oraz warunków reakcji pozwalających na otrzymanie polimeru o potencjalnym zastosowaniu do celów medycznych. Sprawdzone zostały możliwości zastosowania kwasu nadchlorowego oraz metanosulfonowego jako katalizatorów reakcji estryfikacji.

Drugim etapem pracy było potwierdzenie budowy chemicznej, stopnia podstawienia oraz analiza charakterystyki otrzymanych kopoliestrów. Budowę potwierdzono wykorzystując technikę FTIR ATR oraz ^1H NMR. Przeprowadzono również pomiar lepkości dynamicznej pozornej roztworów butyrylo-bursztyno chityny oraz analizę termogravimetryczną.

Następnie oceniono możliwości aplikacyjne otrzymanych polimerów poprzez wytworzenie materiałów porowatych metodą salt-leaching, włókien metodą formowania z roztworu na mokro oraz elektroprzędzenia.

W cyklu badań wykazano, że kwas metanosulfonowy jest skuteczniejszym katalizatorem reakcji estryfikacji butyrylo-bursztyno chityny. Analiza reologiczna potwierdziła nienewtonowski charakter roztworów polimerowych z BSC oraz pozwoliła na wyselekcjonowanie odpowiedniego rozpuszczalnika dla wytworzonego polimeru. Wykazano również, że wytworzone z kopoliestru włókna nie posiadają właściwości mechanicznych pozwalających na przetwarzanie ich konwencjonalnymi metodami włókienniczymi. Udowodniona została możliwość wytwarzania mikrowłókien metodą elektroprzędzenia oraz materiałów porowatych z butyrylo-bursztyno chityny o kontrolowanych właściwościach hydrofilowych lub hydrofobowych i chłonności w zależności od zawartości grup pochodzący od bezwodników kwasu masłowego i bursztynowego.

Przeprowadzone badania pozwoliły na opracowanie metody syntezy nowego kopoliestru chityny – butyrylo-bursztyno chityny oraz opracowanie na jej bazie materiałów, które mogłyby znaleźć zastosowanie w medycynie.

ABSTRACT

Chitin is the second most abundant polysaccharide present in nature after cellulose. It possesses unique properties such as biocompatibility, biodegradability, haemostatic activity, antibacterial activity, and the ability to promote tissue regeneration. These characteristics would make chitin an excellent material for medical applications, but its key challenge remains its limited solubility. It does not dissolve in water or conventional organic solvents, so modification methods are still being sought to produce soluble derivatives. In addition, the possibility of broader use of chitin would be highly beneficial from an environmental sustainability point of view. It would contribute to reducing waste generated by the food industry, which also fits in with the current circular economy concept. New chitin derivatives can be designed to select application requirements to maximise their beneficial properties.

This study aimed to develop a method for the synthesis of a new chitin derivative, butyryl-succinyl chitin, through the esterification reaction of chitin hydroxyl groups using butyric and succinic acid anhydrides and to evaluate its potential for application. The first stage of the work was developing the synthesis method, which included the selection of the catalyst, the ratio of substrates used and the reaction conditions allowing the preparation of a polymer with potential application for medical purposes. The possibility of using perchloric acid and methanesulfonic acid as catalysts for the esterification reaction was examined.

The second stage of the work was to confirm the change in chemical structure and degree of substitution and analyse the characteristics of the copolyesters obtained. The structure was confirmed using FTIR ATR and ^1H NMR techniques. Measurement of the dynamic apparent viscosity of butyric-succinic chitin solutions and thermogravimetric analysis were also carried out.

Subsequently, the applicability of the obtained polymers was evaluated by producing porous materials by salt-leaching, fibres by wet spinning method and electrospinning.

The study series showed that methanesulfonic acid was a more effective catalyst for the esterification reaction of butyric-succinic chitin. Rheological analysis confirmed the non-Newtonian nature of the polymer solutions made from BSC and allowed the selection of a suitable solvent for the polymer produced. The

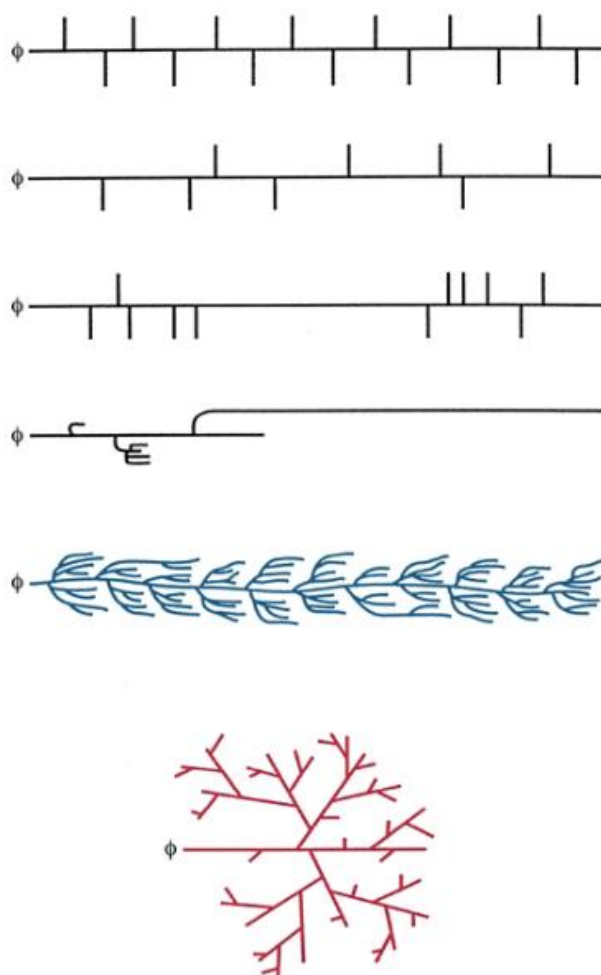
fibres produced from the copolyester were found not to have the mechanical properties necessary to be processed by conventional textile methods. The possibility of producing microfibrils by electrospinning and porous materials from butyric-succinic chitin with controlled hydrophilic or hydrophobic properties and absorbency depending on the content of groups derived from butyric acid and succinic acid anhydrides was proved.

The research allowed the development of a method for synthesising a new chitin copolyester, butyryl succinyl chitin, and the development of materials based on it that could find application in the medical sector.

1. Wstęp

1.1. Polisacharydy

Polisacharydy to grupa węglowodanów złożonych z cukrów prostych połączonych wiązaniami glikozydowymi. Liczba jednostek monosacharydowych w ich strukturze waha się od około 35 (choć zwykle wynosi co najmniej 100) do około 60 000 [1]. Ich struktura może być liniowa lub rozgałęziona (Rys. 1). Polisacharydem o strukturze liniowej jest celuloza czy chitozan, natomiast o strukturze rozgałęzionej skrobia czy glikogen.



Rys. 1 Fragmenty cząsteczek polisacharydów przedstawiające różne rodzaje rozgałęzień [1]

Polisacharydy występują we wszystkich organizmach roślinnych i zwierzęcych oraz w wielu mikroorganizmach i grzybach. W roślinach występują

jako składniki ścian komórkowych [2] oraz pełnią rolę magazynów energii [3]. W organizmach zwierzęcych natomiast dzielą się na dwie kategorie: chitynę oraz glikozaminoglikany, które obejmują kwas hialuronowy, heparynę, siarczan heparanu czy siarczan chondroityny [4]. W mikroorganizmach i grzybach polisacharydy służą one jako materiały strukturalne, np. w ścianach komórkowych oraz ochronne, np. otoczki bakterii [5]. Do najczęściej występujących polisacharydów w tych organizmach należą chityna, glikany, agar oraz alginian.

Ze względu na dużą różnorodność struktur istnieje wiele klasyfikacji polisacharydów. Występują one we wszystkich organizmach roślinnych i zwierzęcych oraz w wielu mikroorganizmach i grzybach. W roślinach występują jako składniki ścian komórkowych [2] oraz pełnią rolę magazynów energii [3]. W organizmach zwierzęcych natomiast dzielą się na dwie kategorie: chitynę oraz glikozaminoglikany, które obejmują kwas hialuronowy, heparynę, siarczan heparanu czy siarczan chondroityny [4]. W mikroorganizmach i grzybach polisacharydy służą one jako materiały strukturalne, np. w ścianach komórkowych oraz ochronne, np. otoczki bakterii [5]. Do najczęściej występujących polisacharydów w tych organizmach należą chityna, glikany, agar oraz alginian. Ze względu na dużą różnorodność struktur istnieje wiele klasyfikacji polisacharydów:

- rodzaj rozgałęzień: (a) liniowe; (b) liniowe z krótkimi rozgałęzieniami (i) regularnie rozmieszczonymi lub (ii) nieregularnie rozmieszczonymi; (c) rozgałęzione z rozgałęzieniami w skupiskach; (d) silnie rozgałęzione,
- rodzaj jednostek monomeru: (a) jeden (homoglikan); (b) dwa (diheteroglikan); (c) trzy (triheteroglikan); (d) cztery (tetraheteroglikan); (e) pięć (pentaheteroglikan),
- ładunek: (a) obojętny; (b) anionowy; (c) kationowy,
- pochodzenie: (a) rośliny; (b) algi; (c) zwierzęta; (d) mikroorganizmy.

W tabeli 1 przedstawiono przykłady polisacharydów scharakteryzowanych pod względem rodzaju rozgałęzienia, rodzaju jednostek monomeru i ładunku.

Tabela 1 Klasyfikacja polisacharydów [1]

Rodzaj rozgałęzienia cząsteczki	Ładunek	Rodzaj jednostek monomeru	Przykład
Liniowe	Obojętny	Homoglikan	Celuloza, laminarany, amylozy, inuliny
	Obojętny	Diheteroglikan	Konjac, agaroz
	Anionowy	Homoglikan	Pektyny
	Anionowy	Diheteroglikan	Alginiany, karageniany
	Anionowy	Triheteroglikan	Guma gellan
	Kationowy	Homoglikan	Chitozan
Liniowe z krótkimi rozgałęzieniami regularnie rozmieszczonymi	Obojętne	Homoglikan	B-Glukany z grzybów
	Obojętne	Diheteroglikan	Guma guar, mączka chleba świętojańskiego
Liniowe z krótkimi rozgałęzieniami nieregularnie rozmieszczonymi	Obojętne	Homoglikan	Mannan drożdżowy
	Anionowe	Triheteroglikan	Guma ksantanowa
Rozgałęzione z rozgałęzieniami w skupiskach	Obojętne	Homoglikan	Amylopektyny
Silnie rozgałęzione	Anionowe	Tetraheteroglikan	Guma karaya, guma z okry
	Anionowe	Pentaheteroglikan	Guma arabska, guma z nasion psyllium

Polisacharydy znajdują szerokie zastosowanie w medycynie i farmaceutyce z następujących powodów:

- polisacharydy występują powszechnie w organizmach żywych, a metody ich ekstrakcji są dobrze scharakteryzowane [6],
- są biodegradowalne i biokompatybilne [7],
- ryzyko odpowiedzi immunologicznej związanej z ich użyciem jest znikome [8],
- mogą być funkcjonalizowane [9],
- dostępność grup funkcyjnych umożliwia kompleksowanie z innymi cząsteczkami biologicznymi [10].

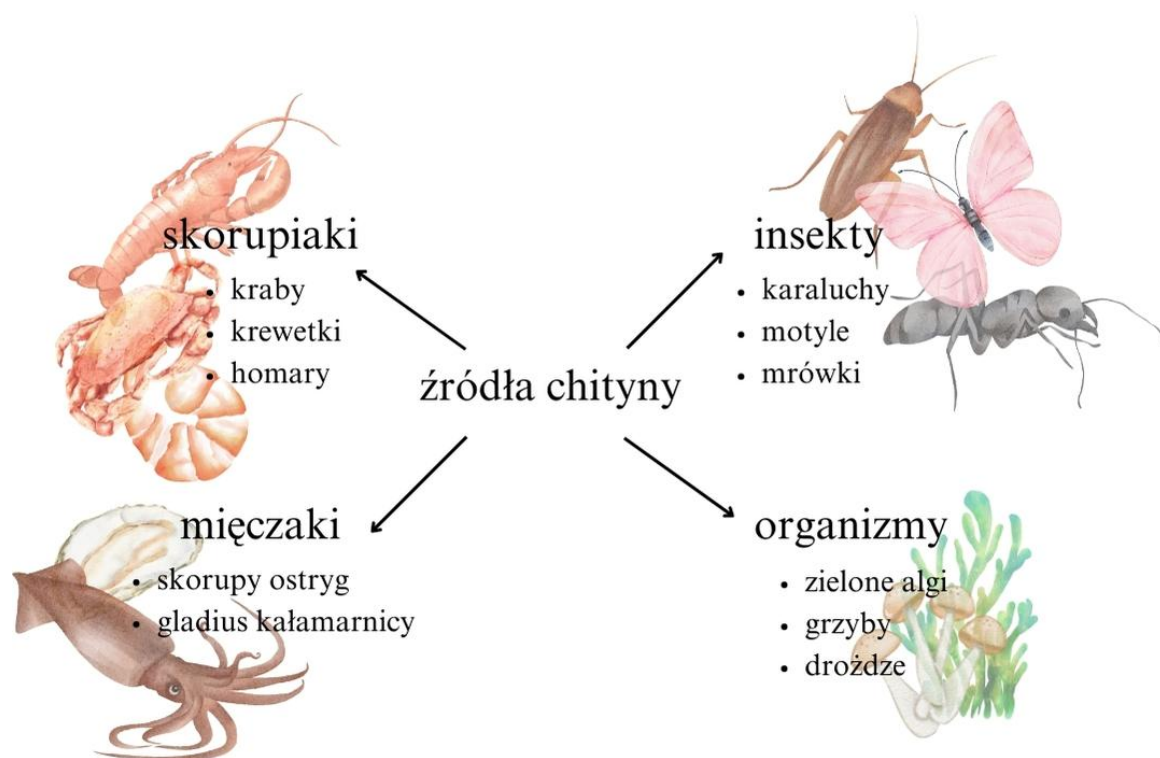
1.2. Chityna

Chityna jest to polimer pochodzenia naturalnego, o którym pierwsze wzmianki pojawiły się już pod koniec XVIII wieku. Pierwszą ekstrakcję chityny przypisuje się Charlesowi Hatchettowi, którą przeprowadził na skorupach mięczaków z użyciem kwasów mineralnych w roku 1799, opisał on jednak tylko właściwości materiału nie nadając mu nazwy [11]. W 1811 roku chemik Henri Braconnot zidentyfikował chitynę w ścianach komórkowych grzybów i nadał jej nazwę *fungine* [12]. Jednak jej obecna nazwa wywodzi się od francuskiego słowa *chitine*, którego pierwszy raz użył francuski chemik August Odier w roku 1821, w swojej publikacji pod tytułem *Mémoire sur la composition chimique des parties cornées des insectes (Raport na temat składu chemicznego rogowych części owadów)*, w której opisał ekstrakcję „zrogowaciałej” substancji z elytry (pierwsza para skrzydeł u owadów, której zadaniem jest ochrona drugiej delikatniejszej pary służącej do latania) chrabąszcza majowego (*Melolontha melolontha*) z wykorzystaniem wodorotlenku potasu [13].

1.3. Źródła chityny

Chityna jest drugim co do ilości występowania po celulozie liniowym polisacharydem składającym się z poli $\beta(1-4)$ N-acetylo-d-glukozaminy, który jest syntezowany przez wiele organizmów żywych.

Jest ona głównym składnikiem egzoszkieletów stawonogów, występuje ona również w wyściółkach i ścięgnach będących elementami ich układu pokarmowego, oddechowego i wydalniczego [14,15]. Chityna stanowi również istotny składnik ściany komórkowej grzybów [16,17], a jako jedno z nowo odkrytych źródeł chityny wymienia się guano nietoperzy [18]. Na rysunku 2 przedstawiono główne źródła występowania chityny.



Rys. 2 Źródła chityny

Chityna, kluczowy składnik szkieletu zewnętrznego owadów i macierzy ochronnej w ich układzie pokarmowym, jest syntetyzowana przez enzymy w komórkach nabłonka [19]. Badania mikroskopii elektronowej wykazały, że syntaza chityny, enzym odpowiedzialny za produkcję chityny, znajduje się głównie na wierzchołkach mikrokosmków – drobnych wypustek na powierzchni komórek [20]. U karaczana *Periplaneta americana* enzymy te zlokalizowano dzięki technice immunohistochemii [21]. Podobne wyniki uzyskano w jelicie środkowym owadów, gdzie chityna tworzy ochronną macierz nazywaną błoną perytroficzną. W komórkach nabłonka jelita środkowego larw *Manduca sexta* zaobserwowano, że syntaza chityny znajduje się zarówno na końcach mikrokosmków, jak i w małych pęcherzykach transportowych [22].

Egzoszkielec w przypadku skorupiaków pełni kluczową rolę w ochronie przed drapieżnikami i patogenami, oraz zapewnia wsparcie mechaniczne i mobilnościowe organizmu [23]. Materia, składająca się z czterech nałożonych na siebie warstw i złożona z chityny związanej z białkami, jest wytwarzana przez monowarstwę komórek naskórka, które wydzielają również niewielkie ilości lipidów i karotenoidów. Wszystkie elementy egzoszkieletu posiadają strukturę nazywaną „skręconą sklejką”, która składa się z ułożonych w stosy płaskich układów

złożonych z włókien chitynowo-białkowych [24]. W większości części kutikuli materiał organiczny jest połączony z nieorganicznymi nanocząsteczkami. Cząsteczki te są ułożone zgodnie z organizacją włókien chitynowo-białkowych, dzięki czemu kutikula stanowi materiał kompozytowy o wysokiej wszechstronności funkcjonalnej. Proces linienia umożliwia wzrost organizmów poprzez zastąpienie starego egzoszkieletu nowym, który początkowo pozostaje niezmineralizowany, a następnie podlega stopniowemu twardnieniu i mineralizacji.

Chityna występująca w mięczakach ma różną zawartość w zależności od rodzaju organizmu. Występuje ona nie tylko w ciałach głowonogów, muszlach, ale również masie perłowej, periostrakum czy radiuli ślimaków [25]. Jej zawartość w organizmach potwierdza ich adaptacje do ekosystemów, ponieważ jest duża w przypadku gatunków ryjących, a bardzo niska u organizmów osiadłych. Podczas gdy szkielety gąbek pospolitych składają się ze sponginy, to w przypadku gąbek szklanych są one zbudowane z kompozytu krzemionkowo-organicznego. Jednak zarówno gąbki pospolite (*Verongula gigantea*, *Aplysina* sp.), jak i szklane (*Farrea occa*, *Euplectella aspergillum*) posiadają chitynę jako składniki swoich szkieletów. Szczególnie czysta forma beta-chityny znajduje się w monokrystalicznych kolcach okrzemki morskiej [26]. Kolce te zwiększają powierzchnię komórki, a tym samym jej opór, zmniejszając w ten sposób szybkość tonięcia.

Chityna w grzybach produkowana jest enzymy występujące w ścianie komórkowej. Pełni ona głównie funkcję ochronną i wspiera wytrzymałość ściany komórkowej i występuje w różnych częściach grzyba- strzępkach, zarodniach oraz owocnikach. Pełni ona szczególną rolę w trakcie podziałów komórkowych, gdzie odpowiedzialna jest za tworzenie nowych struktur.

Zawartość procentowa czystej chityny w biomacie, która jest wykorzystywana do jej pozyskiwania, różni się w zależności od źródła jej pochodzenia. Wpływa ono również na zawartość procentową azotu, węgla wapnia oraz białka. Zawartości poszczególnych składników w chitynie w zależności od źródła jej pozyskiwania przedstawiono w poniższej tabeli (Tabela 2).

Tabela 2 Zależność składu chityny od źródła jej pozyskiwania [27]

Pochodzenie	Gatunek	Rodzaj biomasy	Zawartość azotu (%)	Zawartość CaCO ₃ (%)	Zawartość białka (%)	Zawartość chityny (% w/w)
Skorupiaki						
Oskórek kraba				40-50		15-30
Kraby	<i>Portunus pelagicus</i> ♂	Pancerz		68.87	10.33	20.8
	<i>Portunus pelagicus</i> ♀	Pancerz		65.5	14.36	20.14
	<i>Portunus pelagicus</i>	Pancerz		66.58	16.68	16.73
	<i>Grapsus marmoratus</i>					10
	<i>Portunus puber</i>					10
	<i>Maja squinado</i>					16
		Oskórek				72.1
		Całe ciało				64.2
	<i>Paralithodes</i>	Całe ciało				35
Oskórek krewetek				20-30		30-40
Krewetki	<i>Metapenaeus affinis</i>	Pancerz		45.66	37.59	16.75
	<i>Penaeus aztecus</i>	Pancerz		48.97	29.5	21.53
	<i>Penaeus duorarum</i>	Pancerz		42.26	34.02	23.72
	<i>Palaemon fabricius</i>					22
	<i>Penaeus monodon</i>	Pancerz	5.74			10
	<i>Penaeus semisulcatus</i>	Pancerz		52.03	28.84	19.13
Dziesięcionogi	<i>Thenus orientalis</i>	Pancerz		61.81	16.93	21.26
	<i>Scyllarus arctus</i>					25
Langusta	<i>Palinurus vulgaris</i>					32
Homar	<i>Homarus vulgaris</i>					17
Astacoidea	<i>Procambarus clarkii</i>	Pancerz		63.94	15.56	20.6
Astacoidea	<i>Astacus fluviatilis</i>					36
Oskórek szczętek				20-25		20-30
Wąsonogi	<i>Lepas anatifera</i>					7
Rawka wieszczka	<i>Squilla mantis</i>	Wysuszony dorosły osobnik				24
Równonogi	<i>Oniscus asellus</i>		4.7			6-7
Insekty						
Pszczoły miodne	<i>Apis mellifera</i>	Egzoszkielec	5.56			2.5
Konik polny	<i>Aiolopus simulatrix</i>	Wysuszony dorosły osobnik				5.3
	<i>Aiolopus strepens</i>					7.4
	<i>Duroniella fracta</i>					5.7

	<i>Duroniella laticornis</i>					6.5
	<i>Oedipoda miniata</i>					8.1
	<i>Oedipoda caerulescens</i>					8.9
	<i>Pyrgomorpha cognata</i>					6.6
	<i>Schistocerca gregaria</i>	Egzoszkielec	2.92			12.2
Czarna mucha	<i>Hermetia illucens</i>	Wysuszona prepupa		2,7-19,7	37.7-40.7	5.6-6.7
	<i>Hermetia illucens</i>	Wysuszona larwa			17.5	2.10
	<i>Hermetia illucens</i>	Cała larwa				6.4
Pleśniakowiec lśniący	<i>Alphitobius diaperinus</i>	Cały bezkręgowiec płaski				5.6
Żuk	<i>Melolontha melolontha</i>	Wysuszony dorosły osobnik	6.72			13-14
	<i>Calosoma rugosa</i>	Egzoszkielec				5
Karaczan	<i>Blattella</i>					18.4
	<i>Periplaneta</i>	Oskórek				54.8
	<i>Blatta lateralis</i>	Wyschnięte nimfy			19.0	0.67
Jedwabnik	<i>Bombyx</i>					44.2
	<i>Bombyx mori l.</i>	Oskórek			23-52	36-62
Motylica	<i>Galleria</i>					33.7
Trocinkowate	<i>Chilecomadia moorei</i>	Wyschnięte larwy			15.5	1.11
Zawiskowate	<i>Manduca sexta</i>	Egzoszkielec dorosłego osobnika			60	20
Biedronkowate	<i>Coleoptera</i>					27-35
Odorek zieleniak	<i>Palomena prasina</i>	Wysuszony dorosły osobnik				10.8
Bielinkowate	<i>Pieris</i>					2
Mucha domowa	<i>Musca domestica</i>	Wysuszony dorosły osobnik			19,7	1,19
Mięczaki						
Kałamarnica		Muszla wewnętrzna		Nieistotna		20-40
	<i>Loligo vulgaris</i>	Muszla wewnętrzna		4.74	46,23	49
	<i>Sepia spp.</i>	Pancerz		91.25	1.35	7.4
		Muszla wewnętrzna		88.48	6.12	5.4
Mątwą	<i>Sepia officinalis</i>					20
Małże		Pancerz		85-90		3-6
Inne zwierzęta						
Myszywioly	<i>Plumatella repens</i>	Suszone				13.3
Koralowina	<i>Antipathella fiordensis</i>	Szkielet (część organiczna)			70	10
Kryzelnice		Warstwa zewnętrzna				
Gąbki						
Pająki	<i>Geolycosa vultuosa</i>		6.42			8-8.5
	<i>Hogna radiata</i>		6.41			5.5-7
Grzyby						

Podstawczaki	<i>Fomes fomentarius</i>				2.4	19
	<i>Lactarius vellereus</i>	Całość biomasy				11
	<i>Agaricus bisporus</i>	Ściana komórkowa				43.8
Sprężniaki	<i>Mucor rouxii</i>	Ściana komórkowa				50.1
		Ściana komórkowa				44.5
Workowce	<i>Rhizopus oryzae</i>	Całość biomasy				14.6
	<i>Aspergillus niger</i>	Ściana komórkowa				42
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Ściana komórkowa				20.1
	<i>Penicillium notatum</i>	Ściana komórkowa				18.5
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ściana komórkowa				2.9
Algi						
Okrzemki	<i>Thalassiosira fluviatilis</i>					
Algi zielone	<i>Pithophora oedogonia</i>	Ściana komórkowa				
	<i>Chlorella vulgaris</i>	Ściana komórkowa				

1.4. Ekstrakcja chityny

Ekstrakcja chityny z różnych źródeł to proces pozyskiwania tej substancji ze ścian komórkowych niektórych grzybów, skorup i pancerzy owadów i skorupiaków, a także w niektórych gatunkach roślin. Proces ekstrakcji chityny składa się z trzech głównych etapów- (1) separacji białek, tj. deproteinizacji, (2) separacji węgla wapnia i fosforanu wapnia, tj. demineralizacji. (3) dekoloryzacji.

- Deproteinizacja

Proces ten jest zwykle przeprowadzany przez obróbkę alkaliczną. Surowa chityna jest poddawana działaniu około 1 M wodnych roztworów NaOH przez 1- 72 h w temperaturach od 65 do 100°C [28]. Istnieją również alternatywne metody enzymatyczne, wykorzystujące np. proteazy alkaliczne [29]. Jednak po tym procesie ilość pozostałego białka jest wyższa, wydłuża się też czas obróbki [30].

- Demineralizacja

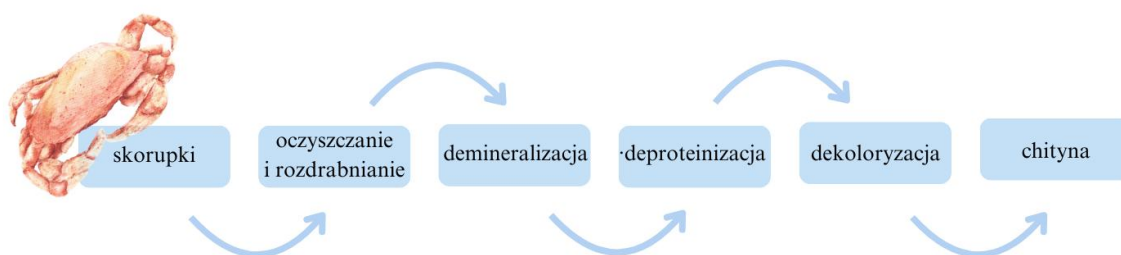
Demineralizacja polega na usuwaniu minerałów, poprzez rozkład węgla wapnia do chlorku wapnia wraz z uwolnieniem dwutlenku węgla. Proces ten jest powszechnie prowadzony poprzez obróbkę surowej chityny przy użyciu kwasu

siarkowego, solnego, azotowego, octowego, szczawiowego lub mrówkowego [31,32]. Jednak w ekstrakcji chityny z owadów najskuteczniejszy jest HCl [33,34]. Alternatywną metodą demineralizacji jest zastosowanie fermentacji kwasu mlekowego [35].

- Dekoloryzacja

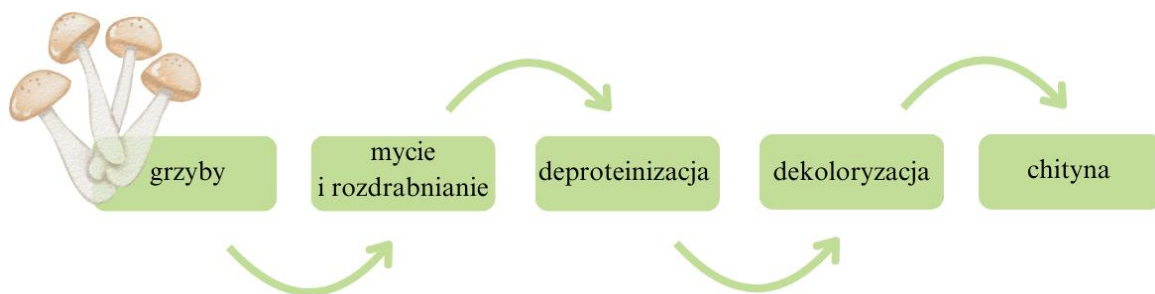
Etap odbarwiania jest zwykle niezbędny do usunięcia pigmentów i uzyskania bezbarwnego produktu, co jest szczególnie ważne w zastosowaniach biomedycznych lub spożywczych [36].

W zależności od źródła chityny niektóre etapy mogą być pominięte albo konieczne jest dodanie innych. W przypadku ekstrakcji ze skorupiaków (Rys. 3) konieczne jest oddzielenie resztek mięsa i prowadzenie silniejszego procesu demineralizacji ze względu na dużą zawartość CaCO_3 [37].



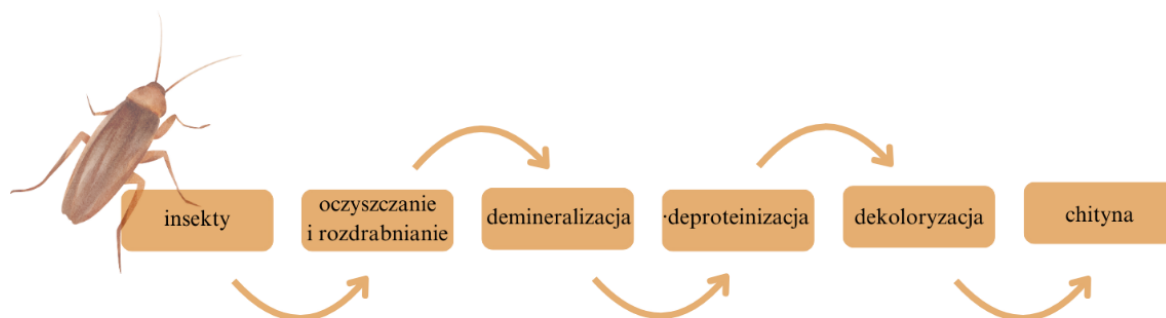
Rys. 3 Schemat pozyskiwania chityny ze skorupiaków

W ekstrakcji chityny z grzybów pomijany jest etap demineralizacji ze względu na brak wapnia w ich strukturze (Rys. 4).



Rys. 4 Schemat pozyskiwania chityny z grzybów

W przypadku chityny pozyskiwanej z insektów istotnym jest dodanie po etapie deproteinizacji i demineralizacji etapu usunięcia tłuszczu, np. poprzez ekstrakcję acetonem lub chloroformem (Rys. 5).

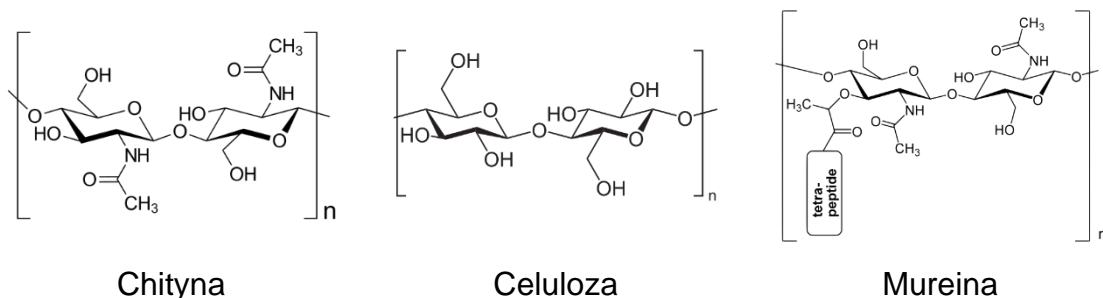


Rys. 5 Schemat pozyskiwania chityny z insektów.

1.5. Struktura chityny

Pod względem chemicznym cząsteczka chityny $(C_8H_{13}O_5N)_n$ przypomina cząsteczkę celulozy, przy czym jedyną różnicę stanowi obecność grupy acetyloaminowej w monomerze chityny w pozycji węgla- 2, w miejsce grupy hydroksylowej (Rys. 6) [38,39]. Wspomniane podobieństwo w ich strukturze przekłada się na zbliżone role odgrywane w środowisku naturalnym przez te dwa polimery, będące zarówno materiałami konstrukcyjnymi, jak i ochronnymi. Chityna wykazuje również pewne podobieństwo strukturalne do mureiny, która jest głównym polimerem budulcowym ścian komórkowych bakterii [40,41].

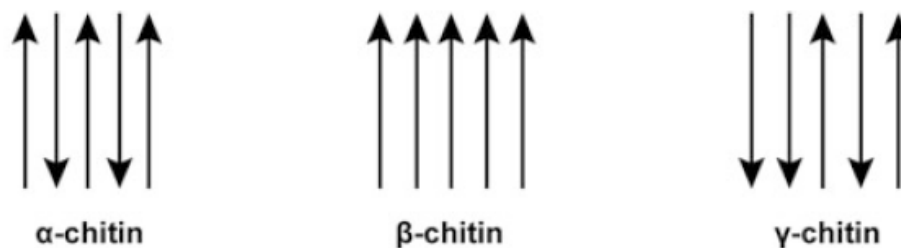
Pod względem chemicznym cząsteczka chityny $(C_8H_{13}O_5N)_n$ przypomina cząsteczkę celulozy, przy czym jedyną różnicę stanowi obecność grupy acetyloaminowej w monomerze chityny w pozycji węgla- 2, w miejsce grupy hydroksylowej (Rys. 6) [38,39]. Wspomniane podobieństwo w ich strukturze przekłada się na zbliżone role odgrywane w środowisku naturalnym przez te dwa polimery, będące zarówno materiałami konstrukcyjnymi, jak i ochronnymi. Chityna wykazuje również pewne podobieństwo strukturalne do mureiny, która jest głównym polimerem budulcowym ścian komórkowych bakterii [40,41].



Rys. 6 Struktura cząsteczki chityny w porównaniu do zbliżonych polisacharydów

Bardzo ważnego odkrycia na temat budowy chityny dokonali w 1901 roku Sigmund Fränkel i Agnes Kelly. W swojej publikacji wykazali oni, że składa się ona z acetylowanej chitozaminy z wiązaniem grupy acetylowej z azotem, czyli N-acetyloglukozaminy (monomer chityny) oraz uznali ją za polisacharyd [42]. Dopiero zaproponowana w 1926 roku przez Gonella [43], a ostatecznie potwierdzona przez Meyera i Pankowa w roku 1935 struktura została powszechnie zaakceptowana. Użyli oni dyfrakcji rentgenowskiej do analizy struktury chityny pozyskanej z włókna pochodzącego ze ścięgna langusty pospolitej (*Palinurus vulgaris*). Struktura ta została później nazwana α -chityną antyrównoległymi włóknami chityny [44].

Chityna w naturze występuje w postaci wielowarstwowych polisacharydowych struktur, z których każda złożona jest z równolegle ułożonych łańcuchów chityny (Rys. 7) [45]. Do powstania wysoce krystalicznych włókien dochodzi w wyniku interakcji między poszczególnymi strukturami [46], a w zależności od ich orientacji możliwe jest rozróżnienie trzech form krystalicznych- α , β i γ . Jak wspomniano wcześniej α -chityna charakteryzuje się antyrównoległym układem włókien chitynowych. β -chitynę charakteryzuje równoległy układ łańcuchów chitynowych, który został zidentyfikowany w 1950 roku przez Lotmara i Pickena, którzy użyli analizy rentgenowskiej do badania szczeciny myszy morskiej (*Aphrodita aculeata*) [47,48]. W 1962 Rudall po raz pierwszy opisał pochodzącą z oskórka przetyku kałamarnicy z rodziny *Loligo* γ -chitynę, którą charakteryzuje naprzemienne ułożenie równoległe i antyrównoległe włókien [49].



Rys. 7 Formy krystaliczne chityny

Najbardziej rozpowszechnioną i najlepiej zbadaną formą chityny jest α -chityna występująca w krylu, w ścięgnach i skorupach homarów oraz krabów, jak i w skorupach krewetek, w oskórku owadów, a także w ścianach komórkowych drożdży i grzybów [36]. Występuje ona również w szeregu żywych organizmów morskich lub jest przez nie wytwarzana, tak jak w przypadku strzałki jadowej u stożków [50,51], szczeciny chwytnej u szczecioszczeków [52–54] czy filamentów wydzielanych przez glon *Phaeocystis* z klasy *Coccolithophyceae* [55]. W porównaniu z α -chityną stawonogów te rzadziej występujące źródła chityny okazały się niezwykle istotne dla badań strukturalnych, ponieważ część z nich charakteryzuje się bardzo wysoką krystalicznością oraz czystością co jest bezpośrednio związane z faktem, że są one syntezowane bez udziału pigmentu, białka lub kalcytu. Poza natywnie występującą α -chityną, możliwe jest jej otrzymywanie w wyniku biosyntezy in-vitro [56,57], polimeryzacji enzymatycznej [58] lub rekrytalizacji z roztworu [59,60]. Charakteryzujące tę formę antyrównoległe ułożenie łańcuchów pozwala na maksymalizację tworzenie wiązań wodorowych, dokładniej dochodzi do powstania dwóch wiązań wewnątrzcząsteczkowych oraz dwóch wiązań międzycząsteczkowych. Pierwsze wiązanie międzycząsteczkowe tworzy się w orientacji pionowej z łańcuchem cząsteczki sąsiadującej w obszarze tej samej struktury, drugie natomiast w poziomie z łańcuchem cząsteczki sąsiadującej znajdującej się w równoległej strukturze [61]. Obecność tych wiązań sprawia, że α -chityna jest wysoko krystaliczna, a tym samym jest sztywnym i stabilnym materiałem, który jest niereaktywny i nierozpuszczalny [62].

Rzadziej występującą formą chityny jest β -chityna, która występuje w muszlach kałamarnic (w połączeniu z białkami) [63,64], rurkach wytwarzanych przez rurkoczułkowce [65,66], szczecinie myszy morskich [67], lorice niektórych

alg oraz pierwotniaków [68,69]. W zależności od źródła pochodzenia może być ona semikrystaliczna lub prawie całkowicie krystaliczna [36,62,70]. Jej szczególna i niezwykle czysta forma, która jest całkowicie acetylowana oraz niepołączona z żadnymi innymi substancjami, znajduje się również w monokrystalicznych kolcach wydzielanych przez okrzemki centryczne *Thalassiosira fluviatilis* [71–73]. Jej łańcuchy są ułożone równolegle i charakteryzują się słabszymi oddziaływaniami międzycząsteczkowymi, z tego powodu jej cząsteczki są bardziej miękkie, charakteryzują się większym powinowactwem do rozpuszczalników oraz są bardziej reaktywne. β -chityna może pęcznieć w wodzie oraz jest rozpuszczalna w kwasie mrówkowym [61].

Trzecią i najrzadziej występującą formą chityny jest γ -chityna. Uznawana jest ona za mieszkankę lub formę pośrednią między α - i β -chityną o jednoczesnym układzie równoległym i antyrównoległym [62]. Co trzeci łańcuch w jej strukturze ma kierunek przeciwny do dwóch poprzednich [74,75]. Do tej pory nie przeprowadzono zbyt wielu badań nad γ -chityną. Ponadto sugerowano, że może być ona tak naprawdę zniekształconą formą dwóch pozostałych typów, a nie prawdziwą, trzecią formą polimorficzną.

1.6. Właściwości

Chityna, będąca naturalnym polisacharydem, wyróżnia się unikalnymi właściwościami fizycznymi, chemicznymi i biologicznymi. Znajduje szerokie zastosowanie w różnych dziedzinach ze względu na poniższe właściwości:

- Przyspieszenie gojenia ran

Chityna korzystnie wpływa na procesy odgrywające kluczową rolę w procesie gojenia ran, takie jak: angiogeneza, ziarninowanie, naskórkowanie oraz bliznowacenie [76,77]. Stymuluje też proliferację fibroblastów [78].

- Nietoksyczność

Właściwości nietoksyczne chityny wynikają z jej naturalnego występowania w organizmach żywych oraz braku szkodliwego działania na komórki i tkanki [79].

Jest też stabilna biologicznie, a podczas jej procesu biodegradacji nie powstają toksyczne produkty uboczne.

- Antybakteryjność

Chityna może wykazywać działanie antybakteryjne w określonych warunkach, choć jest ono często słabsze niż działanie chitozanu czy innych pochodnych. Skuteczność właściwości przeciwdrobnoustrojowych można modulować poprzez dobór zakresu masy cząsteczkowej, rozmiaru cząstek, stopnia czystości i stopnia acetylacji grup aminowych chityny [80]. Benhabiles et al. [81] określili minimalne stężenie hamujące (MIC) chityny, chitozanu i chitynooligosacharydów (Tabela 3). MIC to najmniejsze stężenie środka biobójczego hamujące wzrost bakterii.

Chityna może wykazywać działanie antybakteryjne w określonych warunkach, choć jest ono często słabsze niż działanie chitozanu czy innych pochodnych. Skuteczność właściwości przeciwdrobnoustrojowych można modulować poprzez dobór zakresu masy cząsteczkowej, rozmiaru cząstek, stopnia czystości i stopnia acetylacji grup aminowych chityny [80]. Benhabiles et al. [81] określili minimalne stężenie hamujące (MIC) chityny, chitozanu i chitynooligosacharydów (Tabela 3). MIC to najmniejsze stężenie środka biobójczego hamujące wzrost bakterii.

Tabela 3 Minimalne stężenie hamujące chityny i jej pochodnych

Rodzaj bakterii	MIC (%)		
	Chityna	Chitozan	Chitynooligosacharydy
<i>Escherichia coli</i>	0,01	0,01	0,003
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	< 0,1	0,05	0,003
<i>Salmonella typhimurium</i>	> 0,1	> 0,1	0,003
<i>Shigella dysenteriae</i>	0,01	0,01	0,003

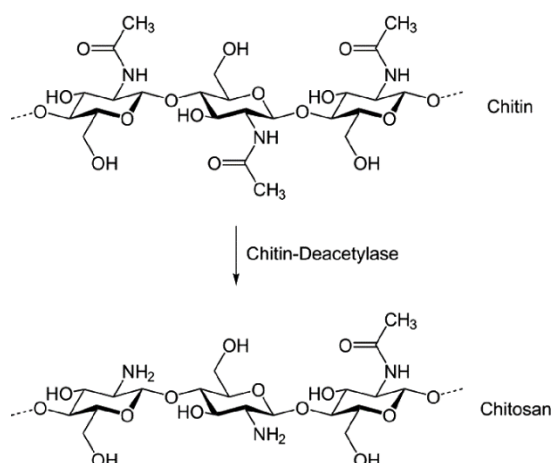
1.7. Modyfikacje chityny

Chityna nie rozpuszcza się w wodzie i w większości organicznych rozpuszczalników, co znacznie ogranicza jej zastosowanie. Ma jednak wiele użytecznych właściwości, takich jak biokompatybilność, biodegradowalność, aktywność hemostatyczna i zdolność do wspomaganie procesu gojenie ran.

W związku z tym prowadzone są liczne prace nad uzyskaniem rozpuszczalnych pochodnych chityny, poprzez modyfikację jej grup hydroksylowych (w pozycjach 6 i 3) oraz grupy acetyloaminowej w pozycji 2. Właściwości fizyczne i chemiczne pochodnych różnią się w zależności od rodzaju wyjściowego polimeru oraz związków stosowanych do modyfikacji.

1.7.1. Chitozan

Chitozan to częściowo deacetylowana pochodna chityny, składająca się z reszt 2-amino-deoksy- β -D-glukopiranozy i 2-acetamido-deoksy- β -D-glukopiranozy (Rys. 8) (Rysunek DD) [56]. Jego stopień deacetylacji wynosi powyżej 60%, a masa cząsteczkowa waha się od 2000 Da do $1,5 \cdot 10^6$ Da [83]. Chitozan jest rozpuszczalny w wodnych roztworach o pH poniżej 7,5 [84]. Jest też biodegradowalny, biokompatybilny i nietoksyczny, co sprawia, że wzrasta jego potencjał komercyjny w rolnictwie, żywności i farmaceutyce [85].

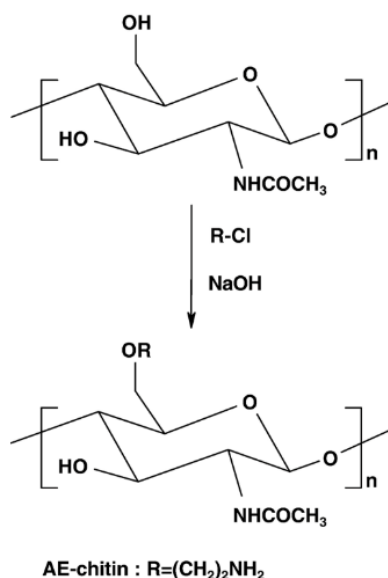


Rys. 8 Reakcja syntezy chitozanu [86]

1.7.2. Aminochityna

Wprowadzenie dodatkowych grup aminowych do chityny jest korzystne ze względu na ich kationowy charakter. Znane są inne polisacharydy, modyfikowane grupami aminowymi, jak ((dietyloamino)etylo)celuloza (DEAE-celuloza) [87] czy maltodekstryna modyfikowana 1,6-heksametylenodiaminą (HMD) [88]. Znajdują one zastosowanie do oddzielania składników biologicznych, takich jak białka i kwasy nukleinowe, ze względu na ich wysoką selektywność w adsorpcji [89].

Jedną z aminowych modyfikacji chityny jest aminoetylochityna (AEC) (Rys. 9). Jest to rozpuszczalna w wodzie pochodna, w której grupa hydroksylowa została zastąpiona grupą aminoetylenową [90].



Rys. 9 Reakcja syntezy aminochityny

Syntezę prowadzono dodając do chityny wodny roztwór chlorowodoru 2-chloroetyloaminowego, w temperaturze 65°C. Następnie, ciągle mieszając, przez 18h dodawano kroplami NaOH. Zbadano aktywność przeciwdrobnoustrojową pochodnej i dowiedziono, że skuteczniej niż chityna hamuje wzrost bakterii *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* i *S. Mutans*. AEC wykazuje też mniejszą toksyczność wobec MRC-5 (ludzka linia komórek fibroblastów pochodzących z tkanki płucnej). Dowiedziono też, że aminoetylochityna przygotowana z chityny o 50% stopniu deacetylacji ma potencjał hamowania aktywności enzymu konwertującego angiotensynę (ACE) [91]. Je, Cho i Kim [92] opisali również kompleks AEC i DNA w formie nanocząstek, który może stanowić niewirusowy system dostarczania genów- bezpieczniejszą alternatywę dla nośników wirusowych. Nanocząstki AEC/DNA wykazały dobrą zdolność wiązania DNA oraz niską cytotoksyczność. Z pochodnej tej wytworzono również hydrożele [93], które wykazały dobrą aktywność antybakteryjną przeciw *S. Aureus*.

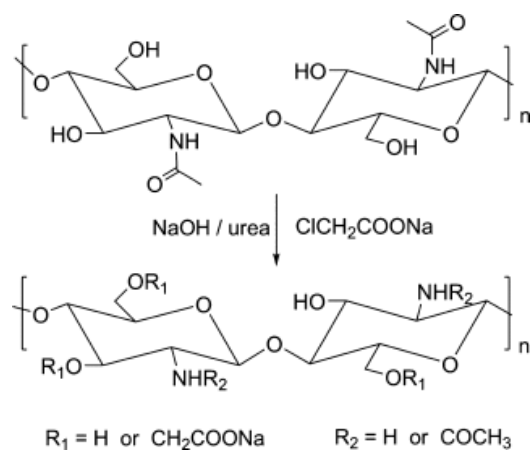
Inną pochodną jest ((dietyloamino)etylo)chityna (DEAECH). Do jej wytworzenia Kurita et al. [68]. użyli dyspersji chityny w dimetylosulfotlenku, do której dodano 20% wodny roztwór wodorotlenku sodu. Po 1h dodano

chlorowodorek (dietyloamino)etylu i mieszano przez 3h w temperaturze pokojowej. Wytworzone produkty były łatwo rozpuszczalne w wodzie i znacznie pęczniały w popularnych rozpuszczalnikach, takich jak benzen czy alkohole. Znalazły zastosowanie jako adsorbenty i materiały rozdzielające. Inną metodę wytworzenia DEAECH opisali Kim, Kim i Choi [95]. Sproszkowaną chitynę dyspergowano w 42% wodnym roztworze NaOH. Po 3h dodano lód z dejonizowanej wody oraz wodny roztwór chlorku N,N-dietyloaminoetylu (DEAE-Cl) i mieszano przez 2h w 0°C. Pochodna ta była rozpuszczalna w wodzie i kwasie octowym.

1.7.3. Karboksymetylochityna (CMCH)

Karboksymetylochityna (CMCH) jest uważana za jedną z najważniejszych pochodnych chityny i jest szeroko stosowana w biomedycynie i ochronie środowiska (Rys. 10). Ma działanie immunomodulujące i zwiększa aktywność komórek, wydzielanie cytokin i chemokin poprzez wpływ na układ odpornościowy [96,97].

Ding i inni [98] syntezyowali CMCH w wodnym roztworze NaOH i mocznika, uzyskując produkt rozpuszczalny w wodzie o potencjalnym zastosowaniu w systemach dostarczania leków kontrolowanych elektrochemicznie. Liu z zespołem [99] stosowali dwie metody do syntezy karboksymetylochityny. Pierwszą metodą był homogeniczny proces w którym chitynę umieszczono w wodnym roztworze zawierającym 11% NaOH i 4% mocznika. Następnie dodano monochlorooctan sodu, mieszając roztwór z użyciem mieszadła mechanicznego w temperaturze 2°C. Układ reakcyjny utrzymywano w temperaturze 15°C przez 24h.



Rys. 10 Reakcja syntezy karboksymetylochityn [99]

Druga metoda- heterogeniczna- polegała na umieszczeniu chityny w 40% roztworze NaOH w -20°C przez 12h. Do rozmrożonej zawiesiny chityny dodano izopropanol, a następnie, ciągle mieszając, dodawano monochlorooctanu sodu. Układ reakcyjny utrzymywano w temperaturze 35°C przez 6h. Sini et al. [100] dowiedli, że optymalne warunki do produkcji karboksymetylochityny to 60% stężenie NaOH i temperatura reakcji $35-40^{\circ}\text{C}$. Pozwala to uzyskać higroskopijny, całkowicie rozpuszczalny w wodzie produkt.

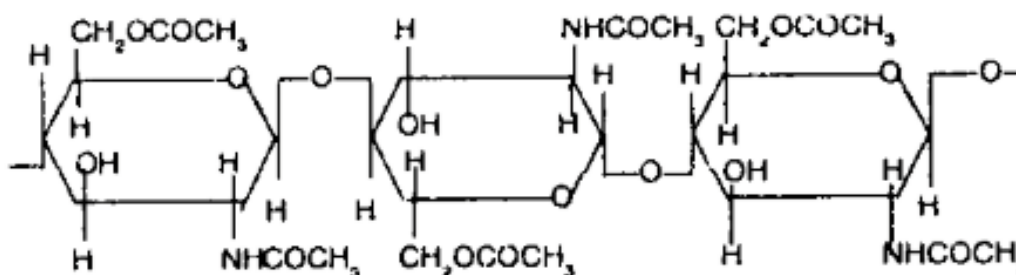
1.7.4. Acetylochityna

Acetylowanie chityny przerywa międzycząsteczkowe wiązanie wodorowe między grupą $-\text{OH}$ a grupą amidową (Rys. 11). Acetylochityna stosowana jest do produkcji opatrunków, jako matryca w kontrolowanym uwalnianiu leków i jako nici chirurgiczne [101].

Noguchi et al. [102] opisują, że synteza acetylochityny przebiega zgodnie z poniższymi metodami:

- chityna w nadmiarze bezwodnika octowego i chlorowodoru przechowywana w 0°C przez kilka dni,
- chityna w nadmiarze bezwodnika octowego i kwasu metanosulfonowego przechowywana w 0°C przez noc,
- reakcja chityny w nadmiarze bezwodnika octowego i kwasu nadchlorowego prowadzona w temperaturze 0°C przez 3h.

Dutkiewicz et al. [103] przeprowadzili syntezę acetylochityny przez dodanie do chityny z kryla mieszaniny kwasu nadchlorowego, lodowatego kwasu octowego i bezwodnika octowego. Reakcje prowadzono przez 3h w 0°C . Wytworzona pochodna charakteryzowała się wyższymi wartościami współczynnika czasu krzepnięcia niż acetylochitozan czy dibutyrylochityna.

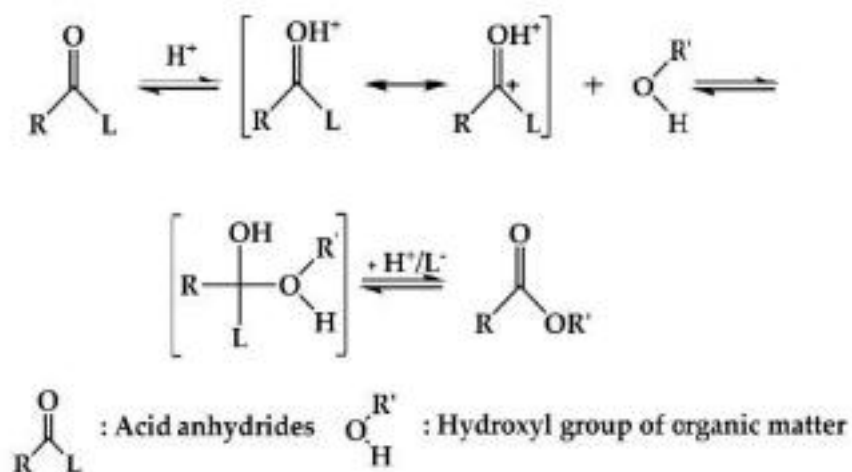


Rys. 11 Struktura acetylochityny [103]

1.7.5. Butyrylochityna (BC)

Butyrylochityna jest bioaktywnym polimerem naturalnym, który wykazuje dobre właściwości włóknotwórcze [104]. Jest rozpuszczalna w wielu rozpuszczalnikach, np. metanolu, etanolu, dimetyloformamidzie, dioksanie, acetonie i tetrahydrofuranie oraz w kwasie mrówkowym i octowym [105].

Kaifu et al. [106] wytwarzali butyrylochitynę poprzez dodawanie sproszkowanej chityny do mieszaniny kwasu metanosulfonowego, bezwodnika masłowego i kwasu masłowego, mieszając przez 2 h w temperaturze 0°C. Powstały żel przechowywano przez noc w temperaturze -20°C, a następnie wytrącano z użyciem lodu i przemywano wodą. Końcowym etapem było gotowanie przez kilka minut w celu usunięcia pozostałości kwasów. Szosland [107] natomiast syntezowała tę pochodną dodając sproszkowaną chitynę do mieszaniny bezwodnika masłowego i 70% kwasu nadchlorowego, w temperaturze 0°C. Reakcja była prowadzona przez 3h w 20°C lub 40°C, a następnie zatrzymana przez dodanie eteru dietylowego. Synteza butyrylochityny z użyciem kwasu nadchlorowego jako katalizatora ma wiele zalet- reakcja jest szybka, łatwa do przeprowadzenia i powtarzalna (Rys. 12).



Rys. 12 Reakcja syntezy butyrylochityny [108]

Bhatt z zespołem [77] wytworzyli butyrylochitynę z użyciem bezwodnika trifluorooctowego, kwasu masłowego i kwasu fosforowego. Schłodzoną mieszaninę dodano do chityny i prowadzono reakcje przez 3h w 50°C.

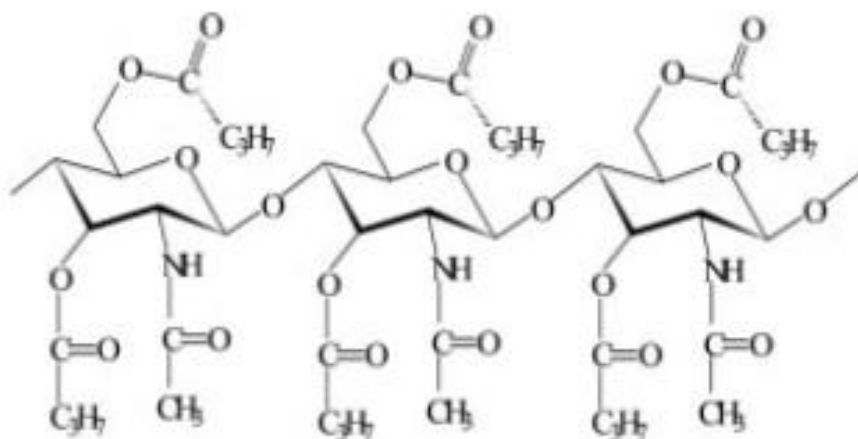
Zhang et al. [108] wytworzyli porowate rusztowania z butyrylochityny i hydroksyapatytu. Wykazali również, że BC ma dobrą cytokompatybilność oraz

wspiera adhezję i proliferację komórek na swojej powierzchni. Jest ona również biokompatybilna, a proces jej degradacji przebiega powoli. Butyrylochitynę wykorzystano również do pokrycia nanowłókien z nylonu-6 [78]. Wyniki sugerują, że osadzenie warstwy BC na powierzchni nylonu-6 może zwiększyć jego kompatybilność komórkową.

1.7.6. Dibutyrylochityna (DBC)

Dibutyrylochityna (DBC) to zmodyfikowana chityna zawierająca grupy butyrylowe w pozycjach 3 i 6 grup N-acetyloglukozaminy (Rys. 13) [109]. Jest nierozpuszczalna w wodzie, jednak rozpuszcza się w rozpuszczalnikach organicznych, takich jak aceton, alkohole, chlorek metylenu i dimetyloformamid [110]. Wykazano, że DBC nie jest cytotoksyczna dla fibroblastów i keratynocytów oraz nie opóźnia wczesnych etapów procesu gojenia [111].

Dibutyrylochitynę otrzymać można w reakcji chityny z bezwodnikiem masłowym i przy użyciu kwasu nadchlorowego jako katalizatora, a także z bezwodnika masłowego i kwasu masłowego przy użyciu kwasu metanosulfonowego jako katalizatora [112].



Rys. 13 Struktura dibutyrylochityny [113]

Muzzarelli et al. [114] rozpoczęli syntezę DBC od przygotowania i schłodzenie do -12°C mieszaniny kwasu nadchlorowego i bezwodnika masłowego. Mieszaninę powoli dodawano do sproszkowanej chityny utrzymując temperaturę 0°C przez 30 minut, a następnie $20-30^{\circ}\text{C}$ przez 3-4h. Reakcja egzotermiczna zakończyła się, gdy temperatura w reaktorze zrównała się

z temperaturą łaźni chłodzącej (ok. 20°C). Następnie produkt odzyskano przez filtrację i przemyto eterem dietylowym w celu usunięcia kwasu masłowego i nadmiaru bezwodnika masłowego. Syntezę dibutyrylochityny opisuje też polski patent P.370755 [115]- chitynę acyluje się mieszaniną bezwodnika masłowego i kwasu nadchlorowego. Mieszaninę wkrapla się utrzymując temperaturę od 0 do 15°C w czasie od 15 minut do 10h. Po tym czasie reakcja powinna być kontynuowana w temperaturze 20-30°C w czasie do 10h. Metoda ta jest łatwa w realizacji i pozwala otrzymać polimer o wysokiej masie cząsteczkowej.

Dibutyrylochityna znajduje zastosowanie w inżynierii tkankowej i produkcji opatrunków. Özdemir et al. [113] wytworzyli rusztowania do zastosowań ortopedycznych metodą salt leaching, używając acetonu i etanolu jako rozpuszczalników, przy stosunku wagowym DBC do soli od 1 do 20 i wielkości kryształów soli od 200 do 400 µm. Chilarski i inni [116] udowodnili, że opatrunek włókninowy z dibutyrylochityny wspomaga gojenie ran, szczególnie ran oparzeniowych i pooperacyjnych. Pielka z zespołem [117] zbadali opatrunki wytworzone z włókniny polipropylenowej powlekaną folią z DBC. Suchy materiał opatrunkowy zawierał około 40% dibutyrylochityny i nie powodował efektów cytotoksycznych czy pierwotnego podrażnienia. Miał też pozytywny wpływ na proces gojenia ran.

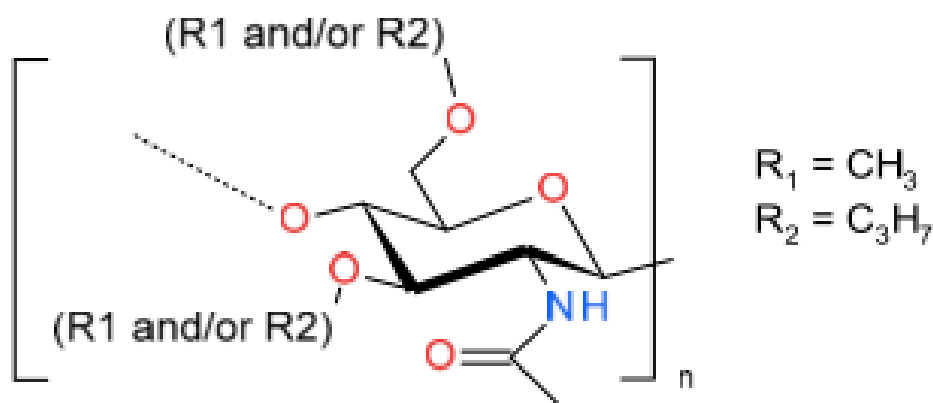
Na rynku dostępny jest opatrunek DibuCell Active produkowany przez Przedsiębiorstwo Farmaceutyczne LEK-AM Sp. z o.o., składający się właśnie z dibutyrylochityny [118]. Producent deklaruje, że opatrunek jest całkowicie biodegradowalny w środowisku rany, skraca czas leczenia i nie traumatyzuje rany.

1.7.7. Acetylomrówczanochityna (AFC)

De Lucca, Kazar i O'Brien [119,120] opisali metodę syntezy acetylomrówczanochityny. Do przygotowania tej pochodnej użyto, schłodzonej do 0°C, mieszaniny kwasu mrówkowego, chlorku metylenu i bezwodnika octowego. Mieszaninę dodano do chityny i powoli wkraplało kwas nadchlorowy, a następnie mieszano przez 12h utrzymując temperaturę 0°C. Pochodna ta była jednak słabo rozpuszczalna w typowych rozpuszczalnikach organicznych.

1.7.8. Butyryloacetylochityna (BAC)

Draczyński et al. [121] syntezowali butyryloacetylochitynę poprzez dodanie mieszaniny acetylującej (bezwodnik octowy, bezwodnik masłowy i kwas nadchlorowy) do chityny (Rys. 14). Reakcje prowadzono w szklanym reaktorze z mieszadłem, chłodzonym w łaźni lodowej z NaCl, w temperaturze 0°C przez pierwsze 30 min i 25°C przez pozostałe 2,5h. W każdej reakcji stosowano pięciokrotny nadmiar mieszaniny estryfikacyjnej. Wprowadzenie dwóch grup hydrofobowych- butyrylowej i acetylowej- jako grup bocznych chityny pozwala na uzyskanie pochodnych przyspieszających gojenia się ran i stymulujących tkankę łączną [122].



Rys. 14 Struktura butyryloacetylochityny [123]

Z BAC formowano włókna metodą z roztworu na mokro [122,124]. Włókna formowane przy wartości wyciągu filierowego 10% charakteryzowały się wartością wytrzymałości właściwej na poziomie 24,8 cN/tex.

Przeprowadzono również próby produkcji pochodnej na skalę przemysłową [125]. Uzyskano wydajność produkcyjną na poziomie 6 kg na dobę, co jest wystraszające do zapewnienia ciągłości dostaw w łańcuchu produkcyjnym. Sujka et al. [123] opisali wytwarzanie porowatych materiałów opatrunkowych na bazie butyryloacetylochityny, zawierającej 90% grup butyrylowych i 10% grup acetylowych. Porowate gąbki wytworzone metodą salt leaching nie wykazywały działania drażniącego ani uczulającego i dodatkowo przyspieszały gojenie ran. Rezultatem tych badań było wprowadzenia przez firmę Tricomed S.A. na rynek trzech opatrunków:

- Medisorb R Membrane - w postaci porowatej błonki,
- Medisorb R Powder - w postaci proszku,
- Medisorb R Ag - w postaci porowatej błonki z mikrosrebrem [126].

1.8. Zastosowania chityny i jej pochodnych

Chityna wykazuje szereg pozytywnych cech, takich jak biokompatybilność, wychwytywanie metali ciężkich, cholesterolu i innych tłuszczów, ponadto wykazuje właściwości przeciwdrobnoustrojowe i przeciwutleniające. Jednak mimo tego jej rzeczywiste zastosowania są raczej ograniczone ze względu na trudność ekstrakcji i oczyszczania czy częstą konieczność modyfikacji w chitozan lub inne pochodne.

- **Opatrunki**

Badania nad zastosowaniem chityny i jej pochodnych do wytwarzania opatrunków rozpoczęły się w 1970 roku. Wtedy to Prudden i inni [127] zauważyli, że n-acetyloglukozaminy pochodzące z chrząstek rekinów są środkami skutecznie przyspieszającymi gojenie ran. W 1972 roku natomiast powstał patent opisujący opatrunki z chityny, częściowo depolimeryzowanej chityny i pochodnych chityny [128]. Obecnie chityna i jej pochodne komercyjnie wykorzystywane są do produkcji opatrunków. Produkty te są dostępne na rynku od lat 80-tych, głównie w Azji i Ameryce Północnej, ale także w Europie. Są one produkowane przez firmy takie jak BioSyntech (Kanada), Hemcon (USA), Medovent (Niemcy), Marine Polymers Technologies (USA), Cytosial (Francja) [129]. Mniejsza popularność tego typu wyrobów w Europie wynika wysokich kosztów związanych z certyfikacją produktów z chityną. Pierwszym komercyjnie dostępnym opatrunkiem był Beschitin (Unitika Ltd., Osaka, Japonia), wprowadzony na japoński rynek w 1982 roku. Była to włóknina z chityny stosowana na oparzenia [82]. Natomiast pierwszym polskim opatrunkiem na bazie chitozanu jest Tromboguard, produkowany przez firmę Tricomed SA. Jest to opatrunek hemostatyczny, o warstwie aktywnej na bazie chitozanu, alginianu sodu/wapnia i soli srebra [130]. Produkowano również opatrunek o nazwie Chitodine (IMS, Polska), który składał się ze sproszkowanego chitozanu z jodyną [131]. Innym polskim opatrunkiem jest KytoCel (Aspen Medical). Ten oparty na acetylowanej formie chitozanu włóknisty opatrunek tamuje

krwawienia, jak i odprowadza nadmiar wysięku z rany [132]. Najnowszym polskim opatrunkiem na bazie pochodnej chityny jest DibuCell (LEK-AM Sp. z o.o., Polska). Według producenta ulega on biodegradacji enzymatycznej w ranie, tworząc rusztowanie dla komórek w nowopowstałych tkankach. Wspomaga gojenie ran przez zapewnienie im wilgotnego środowiska i usuwanie nadmiaru wysięku [133].

Duży potencjał jako składnik produktów do opatrywania ran wykazuje też chityna pochodząca z grzybów gatunków *Aspergillus oryzae*, *Mucor mucedo* i *Phycomyces blakesleeans*. Zwiększa ona proliferację ludzkich fibroblastów, przyczyniając się w ten sposób do wzrostu efektywności ziarninowania rany [134].

- **Leki o przedłużonym uwalnianiu**

Ważnymi składnikami produktów leczniczych są substancje pomocnicze, które poza ułatwieniem procesów technologicznych poprawiają biodostępność substancji leczniczych. Jako substancja pomocnicza w lekach szeroko stosowana jest celuloza mikrokrystaliczna (MCC) [135,136], ponieważ jest fizjologicznie obojętna i cechuje ją szeroką kompatybilność z aktywnymi składnikami farmaceutycznymi (API) [137]. Jako, że chityna i chitozan są strukturalnie spokrewnione z celulozą, trwają badania nad stosowaniem ich jako substancji pomocniczych w produkcji produktów leczniczych. Sawayanagi i inni [138] potwierdzili, że chityna i chitozan są odpowiednimi dodatkami do rozpuszczalnych w wodzie leków o przedłużonym uwalnianiu. Z ich badań wynika również, że mieszanina chitozanu i laktozy zwiększyła twardość tabletki w porównaniu z MCC, co spowalnia uwalnianie substancji czynnych. Inne badania również potwierdzają, że dodatek chitozanu spowalnia uwalnianie leków z tabletek [139,140]. Natomiast w przypadku kapsułek przedłużenie uwalniania można uzyskać stosując kompleks chitozanu i alginianu sodu lub chitozanu i pektyny. Mitrevej z zespołem [141] wykazali, że taka powłoka przedłuża uwalnianie dikolfenaku sodu w porównaniu z komercyjnie dostępnym lekiem.

- **Stomatologia**

Chityna i jej pochodne, w szczególności chitozan, są stosowane w celu zapobiegania chorobom jamy ustnej, takim jak zapalenie błony śluzowej, tworzenie się płytki nazębnej, problemy z przyzębiem i próchnica, ponieważ wykazują

właściwości antybakteryjne, przeciwzapalne i są biokompatybilne. Achmad i inni [142] pastę do zębów na bazie chitozanu z krewetki białej zdolną do zmniejszenia liczby kolonii *Streptococcus Mutans* w przypadku próchnicy wczesnego dzieciństwa. Wytworzono również nośniki chitozanowo-żelatynowe do uwalniania wodorotlenku wapnia przez dłuższy czas, używane podczas leczenia endodontycznego [143]. Dodatkowo wodorotlenek wapnia w połączeniu z chitozaniem wykazał znacznie wyższą aktywność przeciwbakteryjną w porównaniu z każdym z materiałów osobno [144]. Dodatkowo chitozan wykazuje zdolność do penetracji struktury szkliwa, dzięki czemu może dostarczać składniki mineralne do głębszych warstw szkliwa. Arnaud [145] i Zhang [146] dowiedli, że materiały na bazie chitozanu odbudowują zdemineralizowane szkliwo i zapobiegają jego dalszej demineralizacji. Zhang et al. [147] wykazali również, że kompleks chitozan-bioszkliwo może być stosowany w remineralizacji wczesnych zmian próchnicowych lub erozyjnych szkliwa.

- **Inżynieria tkankowa**

Głównym celem inżynierii tkankowej jest rekonstrukcja uszkodzonych lub chorych tkanek, takich jak kości, skóra, chrząstka czy naczynia krwionośne. Kumar et al. [148] opracowali nanokompozytowe rusztowanie wykorzystując mieszaninę pektyny, chityny i węglanu wapnia. Struktury wytworzone metodą liofilizacji wykazywały znikomą toksyczność wobec komórek mysich fibroblastów i ludzkich fibroblastów skórnych. Unnithan i inni [149] stworzyli natomiast rusztowanie do zastosowania w inżynierii tkanki kostnej. Struktura na bazie tlenku grafenu, chitozanu i kwasu hialuronowego wpływała na osteogenezę i biomineralizację, jednocześnie posiadając doskonałą kompatybilność. Ge et al. [150] opisali natomiast wytwarzanie porowatych rusztowań do regeneracji kości metodą odlewania z roztworu i liofilizacji. Płatki chityny rozpuszczano w N, N-dimetyloacetamidzie, a następnie dodawano sproszkowany hydroksyapatyt. Chityna i jej pochodne mogą też być stosowane do regeneracji tkanki chrzęstnej. Lahiji et al. [151] wykazali biokompatybilność chitozanu jako substratu dla wzrostu ludzkich osteoblastów i chondrocytów. Suzuki z zespołem [152] porównywali natomiast zdolności chondrocytów do syntezy kolagenu w rusztowaniach wytworzonych z β -chityny i chitozanu. Rusztowania na bazie czystej β -chityny

wykazały najlepsze wyniki w syntezie kolagenu typu II. Pochodne chityny znajdują też zastosowanie w regeneracji nabłonka rogówki. Rusztowania wytworzone z karboksymetylochityny w większym stopniu wspierały adhezję i proliferację komórek oraz wykazały lepsze właściwości w zakresie przepuszczalności światła w porównaniu do rusztowań z czystego chitozanu. Z karboksymetylochityny wytworzono również rusztowania mogące znaleźć zastosowania w inżynierii tkankowej skóry. Struktury te były wytwarzane z sieciowanej karboksymetylochityny metodą zol-żel połączoną z liofilizacją i wykazywał brak cytotoksyczności i dobrą biokompatybilność [153].

- **Rolnictwo**

Chityna i jej pochodne stosowane są do ochrony roślin przed patogenami. Chityna przyczynia się do ochrony nasion, głównie poprzez umożliwienie wzrostu mikrobiologicznych pestycydów, takich jak *Trichoderma harzianum* P1, który wzbudza odporność w roślinach [129]. Xu et al. [154] opisali zastosowanie chityny jako nawozu o spowolnionym uwalnianiu, wynikające ze zdolności polimeru do powolnej degradacji, co prowadzi do braku ryzyka przenawożenia. Chityna zwiększa również produkcję węglowodanów w roślinie i poprawia tolerancję roślin na mróz [155]. Może również tworzyć kompleksy z metalami ciężkimi, co doprowadziło do badań nad użyciem chityny i jej pochodnych do rekultywacji zanieczyszczonych gleb i źródeł wody [156,157].

Chityna i jej pochodne znajdują też zastosowanie w ochronie świeżych produktów w okresie przechowywania po zbiorach [158]. Pokrycie warstwą chitozanu owoców takich jak, jabłka, wiśnie, czereśnie, kiwi, liczi czy papaja zapobiega zgniliznom spowodowanymi grzybami [159]. Sivakumar et al. [160] wykazali, że oprócz zwalczania grzybowych chorób roślinnych na przechowywanej papai, zastosowanie chitozanu poprawiło jakość owoców poprzez opóźnienie procesu dojrzewania. Produkty na bazie chityny były również z powodzeniem stosowane w celu przedłużenia okresu przechowywania kwiatów ciętych [161].

2. Cel i hipoteza

Celem pracy jest opracowanie metody syntezy nowej pochodnej chityny – butyrylo-bursztyno chityny oraz ocena jej potencjału aplikacyjnego.

Hipoteza badawcza zakłada, że wprowadzenie do makrocząsteczki chityny grup butyrylowych i bursztynowych doprowadzi do wytworzenia nowej pochodnej chityny- butyrylo-bursztyno chityny, rozpuszczalnej w często stosowanych w przetwórstwie polimerów rozpuszczalnikach, która umożliwi otrzymanie materiałów o potencjalnym zastosowaniu w medycynie.

W związku z powyższym zakres pracy w pierwszej kolejności obejmował opracowanie warunków syntezy nowej pochodnej chityny, uzyskanej w reakcji estryfikacji grup hydroksylowych chityny oraz wprowadzenia reszt kwasu masłowego i reszt kwasu bursztynowego. Realizacja tego etapu wymagała określenie rodzaju katalizatora reakcji i doboru składu mieszaniny reakcyjnej. Wybór bezwodnika masłowego oraz bursztynowego podyktowany jest potencjalnym zastosowaniem wytworzonych polimerów do celów medycznych. Bezwodnik kwasu masłowego poprzez wprowadzenie grup alkilowych wpływa na wzrost właściwości hydrofobowych wytworzonych polimerów, co może być korzystne w przypadku opatrunków, jak i materiałów do implantacji. Zwiększa on również powinowactwo do hydrofobowych substancji bioaktywnych. Natomiast obecność bezwodnika bursztynowego w procesie estryfikacji skutkować może wprowadzeniem do otrzymanych polimerów grup hydroksylowych, co zwiększy ich hydrofilowość. W zależności od zawartości poszczególnych grup pochodzących od bezwodnika masłowego i bursztynowego, możliwe będzie dopasowanie właściwości hydrofilowych i hydrofobowych do zastosowania. Otrzymany polimer został scharakteryzowany pod względem budowy chemicznej, właściwości termicznych oraz reologicznych.

Kolejnym etapem pracy była ocena możliwości wykorzystania kopolimeru do wytworzenia materiałów o potencjalnym zastosowaniu w medycynie. W ramach tych prac przeprowadzono badania na otrzymywaniem porowatych struktur mogących znaleźć zastosowanie do wytwarzania materiałów opatrunkowych oraz rusztowań komórkowych. Na tym etapie pracy istotny był dobór stężenia roztworu, stężenia porogenu oraz warunków procesu salt-leachingu. Z butyrylo-bursztyno

chityny wytworzono również włókna metodą z roztworu na mokro oraz metodą elektroprzędzenia.

3. Materiały i metody

3.1. Materiały

Do celów badawczych w niniejszej pracy wykorzystano:

- Chitynę ze skorupki krewetek w płatkach (CAS 1398-61-4), Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, USA),
- Kwas nadchlorowy, 70% CZDA (CAS 7601-90-3), Avantor (Radnor Township, Pensylwania, USA),
- Bezwodnik *n*-masłowy, 98% (CAS 106-31-0), Termo Fischer Scientific (Waltham, Massachusetts, USA),
- Bezwodnik bursztynowy, 99% (CAS 108-30-5), Termo Fischer Scientific, Waltham, Massachusetts, USA),
- Amoniak (woda amoniakalna) 25% CZDA (CAS 1336-21-6), Chempur (Piekary Śląskie, Polska),
- Alkohol etylowy 96% CZDA (CAS 64-17-5), Stanlab (Lublin, Polska),
- Dimetyloformamid CZDA (CAS 68-12-2), Chempur (Piekary Śląskie, Polska),
- Dimetyloacetamid 99% (CAS 127-19-5), Termo Fischer Scientific, Waltham, Massachusetts, USA),
- Dimetylosulfotlenek CZDA (CAS 67-68-5), Chempur (Piekary Śląskie, Polska).

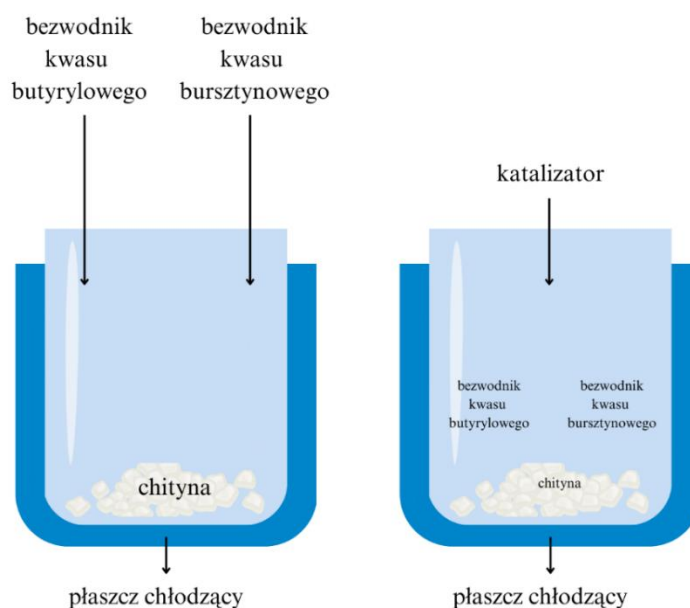
3.2. Synteza butyrylo-bursztyno chityny (BSC)

- **Przygotowanie chityny**

W celu zapewnienia homogeniczności używanej do badań chityny rozdrobiono ją za pomocą młynka kulowego Pullverisette 7 firmy Fritsch. Jeden cykl mielenia trwał 5 minut i miał prędkość 600 obr/min. Dla każdej partii mielonej chityny przeprowadzono 5 takich cykli.

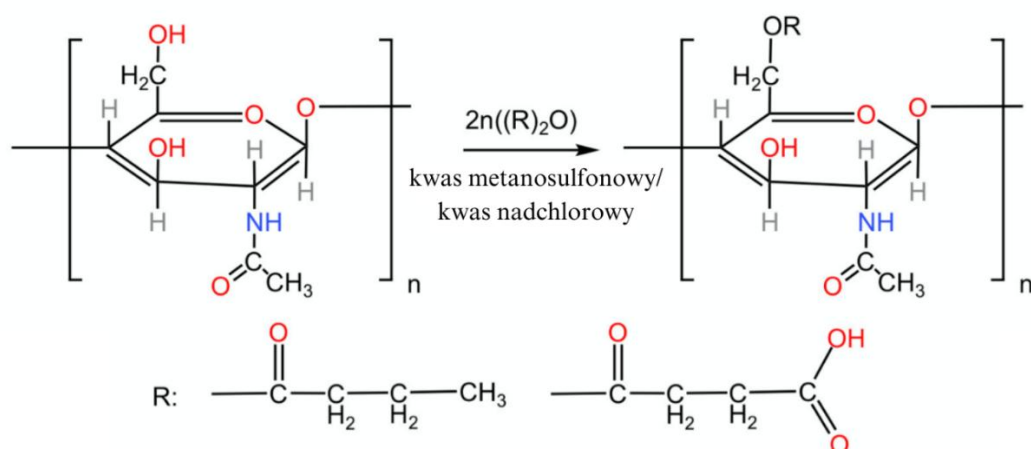
- **Synteza bursztyno-butyrylo chityny**

W ramach niniejszej pracy przeprowadzono syntezy kopoliestru chityny z użyciem bezwodnika kwasu masłowego i bezwodnika kwasu bursztynowego oraz dwóch różnych katalizatorów- kwasu nadchlorowego i kwasu metanosulfonowego. Na mieszaninę reakcyjną składały się rozdrobiona chityna oraz bezwodnik kwasu masłowego i bezwodnik kwasu bursztynowego oraz wybrany katalizator. Reakcje były prowadzone zgodnie ze schematem poniżej (Rys. 15).



Rys. 15 Schemat syntezy butyrylo-bursztyno chityny

Celem przeprowadzonych syntez było otrzymanie nowego kopoliestru chityny- butyrylo- bursztyno chityny (Rys 16)



Rys. 16 Reakcja syntezy butyrylo-bursztyno chityny

3.3. Badania nad potencjałem aplikacyjnym butyrylo-bursztyno chityny

W celu oceny możliwości wykorzystania butyrylo-bursztyno chityny zdecydowano się a próbę wytworzenia czterech różnych form z otrzymanych polimerów. W ramach niniejszej pracy badawczej wytworzone zostały folie, włókna metodą formowania z rotworu na mokro, włókna metodą elektroprzędzenia oraz struktury porowate.

- **Wytwarzanie folii z butyrylo-bursztyno chityny**

W celu wytworzenia folii z otrzymanych kopolimerów butyrylo-bursztyno chityny, sporządzono ich 5% roztwory w alkoholu etylowym. Następnie niewielką ilość roztworu wylewano na gładką folię z polipropylenu i przeciągano go rakłą w celu utworzenia równomiernej warstwy. Konstrukcja rakli zapewniała stałą grubość powierzchni wylewanego roztworu. Przygotowane w ten sposób próbki pozostawiano na folii polipropylenowej aż do momentu całkowitego odparowania alkoholu etylowego.

- **Formowanie włókien z kopolimeru butyrylo-bursztyno chityny metodą z roztworu na mokro**

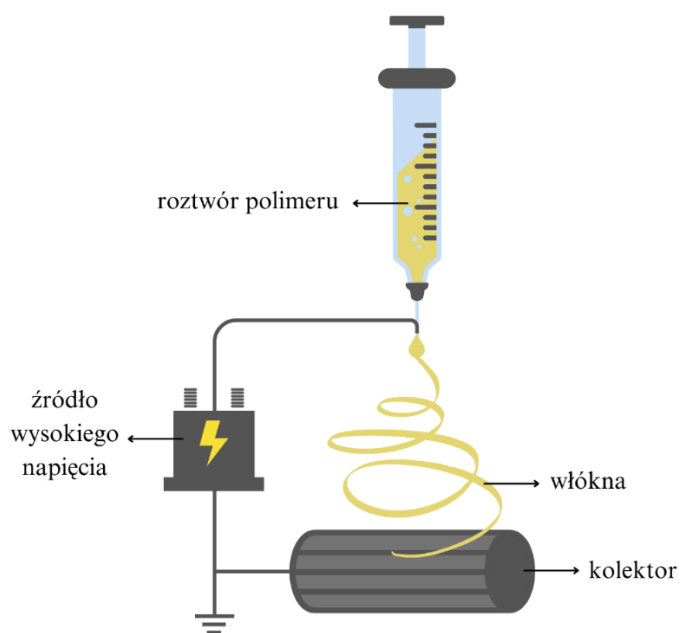
Włókna z butyrylo-bursztyno chityny były formowane metodą z roztworu na mokro, z wykorzystaniem przędzarki wielkolaboratoryjnej. Parametry procesu zostały dobrane na podstawie danych literaturowych dotyczących przędzenia włókien z kopolimeru butyrylo-acetylo chityny [162]. Stężenie roztworu przędzalniczego w alkoholu etylowym wynosiło 10%. Włókna formowano z użyciem 250 otworowej dyszy o średnicy otworków wynoszącej 0,08 mm, a prędkość podawania roztworu wynosiła 2,5 cm³/min. Proces zestalania włókien prowadzono w kąpeli wodnej o temperaturze 15°C, zawierającej 10% alkoholu etylowego. Alkohol etylowy został wybrany do tego celu z powodu jego szerokiego zastosowania w medycynie oraz jego zdolności do mieszania się z wodą. Wodna kąpiel, w której prowadzono jednoetapowy proces rozciągania miała temperaturę 65°C. Przeprowadzenie jedno etapowego procesu rozciągania było podyktowane chęcią maksymalnego uproszczenia układu technologicznego. Włókna były

formowane przy wyciągu filierowym w zakresie -40% do 0% i rozciągu na poziomie około 85%. Włókna były odbierane na szpule, które następnie były umieszczane w wodzie destylowanej, w celu usunięcia pozostałego alkoholu etylowego. Ostatnim etapem było wysuszenie włókien.

- **Wytwarzanie włókien metodą elektroprzędzenia**

Aby możliwe było przeprowadzenie procesu elektroprzędzenia przygotowano 3% roztwory każdego z produktów syntezy w alkoholu etylowym. Tak przygotowane roztwory mieszano przez 24 godziny z użyciem mieszadła mechanicznego, a następnie przeprowadzono proces elektroprzędzenia w temperaturze 25°C. Średnica igły wynosiła 0,8 mm, odległość od kolektora 25 cm, a przyłożone napięcie od 15 do 45 kV.

Włókna wytwarzano na urządzeniu składającym się ze zbiornika na roztwór polimeru, filiiery, kolektora oraz zasilacza prądu stałego (Rys. 17). Proces elektroprzędzenia trwał dla każdej z próbek 15 minut.



Rys. 17 Schemat urządzenia do elektroprzędzenia

- **Wytwarzanie struktur porowatych metodą salt leaching**

Etapem przygotowującym do wytworzenia struktur porowatych metodą salt leachingu było przygotowanie roztworów z produktów syntezy w alkoholu etylowym,

gdzie polimer stanowił 7% masy całego roztworu. Roztwory były następnie mieszane przez 24 godziny z użyciem mieszadła mechanicznego. Do zhomogenizowanych roztworów polimeru dodano chlorek sodu w ilości od 10% do 90%, który pełnił rolę porogenu oraz glikol polipropylenowy w celu nadania większej plastyczności próbkom. Wytworzono również próbki niezawierające porogenu w celach porównawczych.

Próbki umieszczono w naczyniach o średnicy 5cm i pozostawiono aż do całkowitego odparowania alkoholu etylowego w warunkach podwyższonej wilgotności. Następnie wypłukano każdą próbkę kilkakrotnie w wodzie destylowanej w celu oczyszczenia próbki z pozostałego chlorku sodu i pozostawiono do całkowitego wyschnięcia. Gotowe próbki zbadano z użyciem skaningowego mikroskopu elektronowego.

3.4. Metody badań

- **Analiza FTiR ATR**

W przeciwieństwie do promieniowania UV-vis czy rentgenowskiego, podczerwone promieniowanie elektromagnetyczne jest niewystarczające do wzbudzenia elektronów, ale intensyfikuje drgania molekularne i rotacyjne [163] charakterystyczne dla wiązań chemicznych w danej cząsteczce. W obszarze dalekiej podczerwieni widmo określa ilościowo zmiany wywołane drganiami rotacyjnymi, podczas gdy obszar bliskiej podczerwieni obejmuje zarówno drgania wibracyjne, jak i rotacyjne. Intensywność pasm zależy od tego, jak skutecznie cząsteczki absorbują energię, co z kolei zależy od zmiany momentu dipolowego. Cząsteczki symetryczne, takie jak gazy dwuatomowe - N_2 , H_2 i O_2 - są pozbawione momentu dipolowego, a co za tym idzie, nie posiadają charakterystycznego widma w podczerwieni. Podstawą działania w FTIR jest wykorzystanie interferometru Michelsona, który odpowiedzialny jest za generowanie interferogramu. Dzięki matematycznej metodzie analizy- transformacie Fouriera, dochodzi do przekształcenia interferogramu w widmo absorpcji, gdzie jej intensywność jest prezentowana jako funkcja długości fali. Dzięki temu możliwe jest uzyskanie szczegółowych informacji na temat obecności grup funkcyjnych oraz identyfikacja związków chemicznych. Dzięki swojej wszechstronności oraz możliwości analizy

próbek w stanie stałym, ciekłym jak i gazowym technika FTIR jest szeroko stosowana w chemii, biologii, inżynierii materiałowej oraz medycynie.

Próbki chityny i wytworzonych na jej podstawie polimerów w postaci proszku zostały zbadane za pomocą analizy FTIR ATR w celu potwierdzenia zmian w ich strukturze chemicznej. Badanie przeprowadzono za pomocą aparatu Thermo Scientific, Nicolet 6700 (Waltham, Massachusetts, USA), stosując rozdzielczość 4 nm. Dla każdej próbki zostały wykonane 64 skany.

- **Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H NMR)**

Jedną z najważniejszych technik analitycznych stosowanych w chemii organicznej oraz materiałoznawstwie jest spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H NMR). Opiera się ona na absorpcji promieniowania elektromagnetycznego przez jądra wodoru występujące w zewnętrznym polu, co pozwala na przeprowadzenie analizy strukturalnej oraz interakcji międzycząsteczkowych, jak i badanie dynamiki molekularnej [164].

Szczegółowe informacje o środowisku chemicznym protonów oraz ich rozmieszczeniu względem siebie w cząsteczce są dostępne dzięki przesunięciom chemicznym (δ), które są zależne od lokalnego ekranowania magnetycznego oraz stałego sprzężenia spinowo-spinowego (JJ). Na tej podstawie możliwe jest precyzyjne określenie struktury związków organicznych jak i badanie ich stereochemii oraz konformacji [165,166]. Technika NMR pozwala na identyfikację oraz analizę ilościową związków organicznych, ocenę czystości próbek, badania wpływu struktury na właściwości oraz badania roztworów zawierające biomolekuły. Jest ona niezwykle istotna zarówno w badaniach podstawowych jak i aplikacyjnych [167,168].

W niniejszej pracy zastosowanie spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego pozwoliło na ocenę stopnia podstawienia w polimerze. Znając integrację sygnałów w otrzymanym widmie możliwe jest określenie stosunków ilościowych grup funkcyjnych oraz ich położenie w strukturze [169].

W celu analizy struktury chemicznej otrzymanych polimerów przeprowadzono analizę przy użyciu ^1H NMR Avance II plus (Bruker BioSpin, Billerica, Massachusetts, USA) pracującego na częstotliwości ^1H 700 MHz.

Na podstawie pomiarów intensywność wybranych pików określono stopnie podstawienia wytworzonych polimerów, stosując poniższe równanie:

$$DS_M = \frac{1/3 I_{\gamma CH_3}}{1/6 I_{H_2-H_6}} \quad (1)$$

Gdzie:

$I_{\gamma CH_3}$ - wielkość całkowita intensywności sygnału, pochodząca od protonów w grupie metylowej reszty kwasu masłowego/ bursztynowego

$I_{H_2-H_6}$ - wartość całkowita intensywności sygnału w zakresie 3,0-4,2 ppm pochodząca od protonów H2 - H6 w cząsteczce glukozaminy polimeru

- **Badanie lepkości dynamicznej pozornej**

Niezwykle istotnym pomiarem, dzięki któremu możliwe jest określenia charakterystyki reologicznej roztworów polimerów jest pomiar lepkości dynamicznej pozornej. Parametr ten wyrażany jest poprzez stosunek naprężenia stycznego (τ) do szybkości ścinania ($\dot{\gamma}$) i pozwala opisać charakter przepływu cieczy newtonowskich oraz nienewtonowskich. W przypadku roztworów polimerów określenie lepkości dynamicznej pozornej pozwala na uzyskanie informacji o masie cząsteczkowej, stężeniu oraz oddziaływaniach międzycząsteczkowych. Określenie powyższych parametrów ma kluczowy wpływ na proces formowania włókien metodą z roztworu na mokro, ponieważ dobranie odpowiedniej lepkości roztworu wpływa na stabilność procesu przedzenia oraz właściwości i jakość otrzymanego produktu [170]. Możliwości przetwórcze roztworów polimerowych są determinowane poprzez ocenę zachowań pseudoplastycznych, dylatanalnych czy tiksotropowych, której dokonuje się dzięki badaniom lepkości dynamicznej pozornej. Używając reometru rotacyjnego uzyskujemy możliwość precyzyjnego odwzorowania właściwości badanego roztworu w określonych warunkach, stosując układy takie jak stożek- płytki czy cylindry współosiowe oraz regulując wysokość temperatury czy szybkość ścinania [171].

W celu oceny właściwości reologicznych roztworów wytworzonych polimerów przeprowadzono badania reologiczne. Właściwości reologiczne roztworów zostały zmierzone za pomocą reometru rotacyjnego Rheolab QC firmy

Anton Paar (Graz, Austria). Pomiarzy przeprowadzono przy szybkościach ścinania od 0 do 160 s⁻¹ w temperaturach 15°C i 25°C, przy użyciu cylindra CC17.

Parametry n i k zostały określone zgodnie z modelem Ostwalda-de Waele:

$$t = k g^n \quad (2)$$

Gdzie:

n - charakterystyczny wskaźnik przepływu (-)

k - współczynnik spójności (Pa·sⁿ).

- **Analiza termogravimetryczna (TGA)**

Jedną z kluczowych technik stosowanych w badaniach polimerów jest analiza termogravimetryczna. Polega ona na rejestrowaniu w kontrolowanych warunkach zmian w masie próbki w funkcji temperatury lub czasu. Stosując technikę TGA możliwe jest określenie kluczowych właściwości termicznych badanego materiału, wśród których wyróżnić można stabilność termiczną, zakres temperatur degradacji oraz zawartość substancji lotnych i pozostałego popiołu.

Dzięki zastosowaniu TGA do badań polimerów możliwe jest uzyskanie informacji o ich strukturze chemicznej, zmianach właściwości wynikających z modyfikacji oraz oddziaływań międzycząsteczkowych. Dla nowopowstałych polimerów analiza TGA jest również niezwykle istotna, ponieważ pozwala ona na wstępną ocenę możliwych zastosowań oraz trwałości. W przypadku polimerów poddanych modyfikacji możliwe jest analiza wpływu nowych grup funkcyjnych na właściwości polimeru takich jak stabilność termiczna.

Analiza termogravimetryczna pełni również kluczową rolę w ocenie mechanizmów degradacji termicznej, która może mieć jeden lub więcej etapów. Dzięki temu możliwe jest lepsze zrozumienie właściwości fizykochemicznych badanych materiałów oraz ich zachowań w warunkach krytycznych. TGA pozwala również na przewidzenie zachowania materiału w procesach przetwórczych oraz ich optymalizacji.

Analizę termogravimetryczną wytworzonych kopolimerów przeprowadzono na urządzeniu TG Labsys Evo 1150 firmy Setaram (Genewa, Szwajcaria), używając do tego oprogramowania sterującego Calisto firmy AKTS (Sierre, Szwajcaria), którego później użyto również do opracowania wyników pomiaru.

Pomiary były wykonywane w atmosferze azotu przy przepływie 21 cm³/min. Naczynka, w których umieszczono naważki były wykonane z platyny i miały pojemność 100µl. Badanie było prowadzone w zakresie temperatur 20°C ÷ 600°C, przy szybkości ogrzewania 10°C/min.

- **Skaningowa mikroskopia elektronowa**

Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM) należy do zaawansowanych technik obrazowania. Dzięki niej możliwa jest szczegółowa analiza powierzchni próbek w mikro- i nanoskali. W przeciwieństwie do mikroskopii optycznej, SEM bazuje na użyciu wiązki elektronów, która pozwala na otrzymanie obrazów o zdecydowanie wyższej rozdzielczości. Wytwarzane przez mikroskop elektrony wchodzi w interakcję z materiałem badanej próbki, wskutek czego dochodzi do emisji wtórnych elektronów. W wyniku tej emisji dochodzi do generowania różnych sygnałów, które następnie są wykorzystywane do analizy powierzchni. Pewnym ograniczeniem mikroskopu SEM jest konieczność pokrywania nieprzewodzących próbek cienką warstwą materiału przewodzącego np.: złota, węgla czy platyny. Wysoka rozdzielczość oraz możliwość uzyskiwania obrazów topograficznych o charakterze trójwymiarowym sprawia, że metoda ta znajduje zastosowanie w wielu obszarach nauki. Skaningowa mikroskopia elektronowa jest również szeroko stosowana w badaniach polimerów oraz materiałów z nich wytworzonych. Dzięki technice SEM możliwa jest szczegółowa analiza struktur włóknistych, w tym pomiar średnic włókien (wytworzonych zarówno metodami formowania z roztworu na mokro, ze stopu oraz otrzymanych metodą elektroprzędzenia), ocena ich jednorodności oraz występowanie defektów na ich powierzchni. Z kolei w przypadku materiałów porowatych możliwa jest analiza wielkości oraz kształtu porów.

W celu zbadania morfologii wytworzonych włókien oraz mikrowłókien użyto skaningowego mikroskopu elektronowego Quanta 200 firmy FEI (USA). Przed przeprowadzeniem badania, próbki zostały pokryte warstwą złota o grubości 20 nm w napyłarce próżniowej Q 150R S. Zdjęcia były wykonywane w trybie próżniowym HiVac (wysoka próżnia) przy napięciu przyspieszającym wiązkę elektronów wynoszącym 2, 5, 10 i 15 kV i zastosowaniu detektora ETD.

Na podstawie obrazów SEM dokonano również pomiarów średnic włókien oraz wielkości porów z użyciem programu ImageJ (National Institute of Health, USA).

- **Badanie wytrzymałości**

Badania z użyciem maszyny wytrzymałościowej stanowią nieodzowne narzędzie w inżynierii materiałowej. W przypadku badania włókien podstawową funkcją tej analizy jest określenie właściwości mechanicznych, wśród których wyróżnić można wytrzymałość na rozciąganie, wydłużenie przy zerwaniu oraz moduł sprężystości. Na podstawie tych parametrów możliwa jest ich ocena oraz przypisanie odpowiedniego zastosowania. Zasada działania maszyny wytrzymałościowej bazuje na precyzyjnym przykładaniu sprecyzowanego odkształcenia do próbki, dzięki czemu możliwe jest określenie odpowiedzi mechanicznej badanego materiału. Parametry wytrzymałościowe wytworzonych włókien zbadano na maszynie wytrzymałościowej firmy Zwick (Ulm, Niemcy). Przeprowadzone w oparciu o normę PN-EN ISO 5079:2021-03 [172] badanie pozwoliło określić wytrzymałość właściwą badanych włókien

Odległość między zaciskami wynosiła 100 mm, a prędkość przesuwu belki wynosiła 100 mm/min. Dla każdej wytworzonej próbki wykonane zostało dziesięć pomiarów, na podstawie których wyznaczone zostały średnia wytrzymałość właściwa i wydłużenie przy zerwaniu.

Przed wykonaniem pomiaru określono masę liniową badanych włókien na podstawie normy PN-ISO 1973:1997 [173] zgodnie ze wzorem:

$$T = \frac{m}{l} \quad (3)$$

Gdzie:

T- masa liniowa włókien (tex)

m- masa odcinka włókien (g)

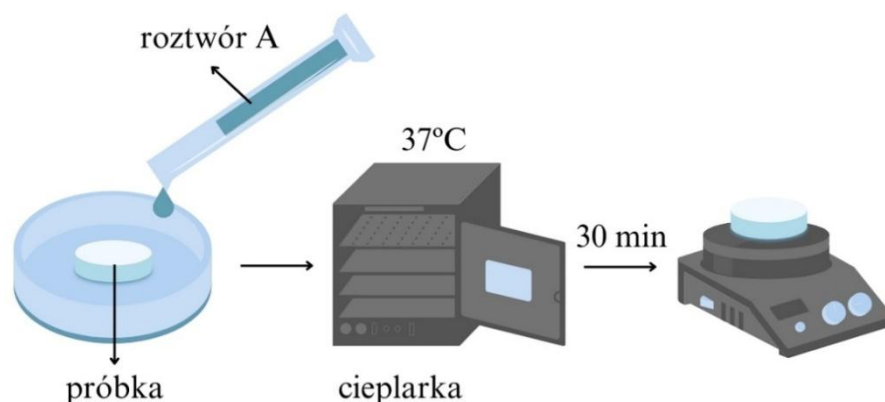
l- długość odcinka włókien (km)

- **Badanie zdolności sorpcyjnych**

W przypadku materiałów do zastosowań medycznych, a zwłaszcza materiałów opatrunkowych bardzo istotnym parametrem jest ich zdolność sorpcyjna. Norma PN-EN 13726-1:2005 opisuje metodę oceny właściwości

sorpcyjnych materiałów opatrunkowych. Chłonność przy swobodnym nasiąkaniu określa ilość płynu, którą jest w stanie wchłonąć badany materiał opatrunkowy. Zdolności sorpcyjne stosowanego opatrunku powinny być dopasowane do ilości i charakterystyki wysięku, jak i utrzymania właściwej wilgotności leczonej rany, co ma kluczowe znaczenie w prawidłowym procesie gojenia. Jest to szczególnie istotne w leczeniu ran przewlekłych o znaczącej ilości wysięku. Nadmierna ilość wysięku w otoczeniu rany może doprowadzić do maceracji tkanek, a tym samym powodować infekcje i zaburzenia procesu gojenia. Dlatego badania zdolności sorpcyjnych odgrywają kluczową rolę w badaniu zarówno komercyjnie dostępnych opatrunków jak i projektowaniu nowych materiałów opatrunkowych.

Mając na uwadze potencjalne wykorzystanie otrzymanych kopolimerów do celów medycznych, przeprowadzono badanie chłonności wytworzonych z nich materiałów porowatych. Badania przeprowadzono w oparciu o normę PN-EN 13726-1:2005 (Rys. 18) [174].



Rys. 18 Schemat badania właściwości sorpcyjnych

Pierwszym etapem badań było przygotowanie zgodnie z wytycznymi zawartymi w normie wodnego roztworu A, który składał się 0,8298% NaCl oraz 0,0368% CaCl₂ i miał imitować płyny ustrojowe. Do badań przygotowano próbki o masie $\pm 0,2$ g, które następnie umieszczono w naczyniach zawierających roztwór A, który stanowił czterdziestokrotność masy próbki. Tak przygotowane próbki umieszczono w suszarce laboratoryjnej, w której temperatura miała być podobna do temperatury ludzkiego ciała i wynosiła 37°C i pozostawiono na 30 minut. Po wyjęciu preparatów z suszarki, w celu pozbycia się niewchłoniętej cieczy z próbek podniesiono za jeden z ich rogów i trzymano w tej pozycji przez 30 sekund,

a następnie zważono. W oparciu o dokonane pomiary masy, obliczono zdolności sorpcyjne badanych próbek zgodnie z poniższym wzorem:

$$C_m \frac{m_w - m_s}{m_s} \quad (4)$$

Gdzie:

C_m - chłonność masowa,

m_w - masa próbki nasyconej cieczą,

m_s - masa suchej próbki.

- **Pomiar kąta zwilżania**

Badanie kąta zwilżania stanowi jedno z podstawowych narzędzi w ocenie właściwości powierzchniowych materiałów. Pozwala ona na ocenę właściwości powierzchni badanej substancji pod kątem hydrofilowości czy hydrofobowości. Narzędziem wykorzystywanym do pomiaru kąta zwilżania jest goniometr. Technika badania z jego użyciem polega na określeniu charakterystyki interakcji między cieczą, a badaną powierzchnią. Definiuje się ją jako kąt pomiędzy badaną powierzchnią, a kroplą cieczy na niej umieszczonej. Do podstawowych elementów goniometru należą: układ dozowania cieczy- aplikuje on kroplę o określonej objętości na badaną powierzchnię, stolik roboczy- umieszcza się na niej badaną próbkę, układ optyczny z kamerą- rejestruje obraz kropli, który pozwala później dokonać pomiaru oraz oprogramowanie analityczne- program przetwarzając obraz kropli i analizujący jej kształt, a następnie w oparciu o model matematyczny wyznacza kąt styku pomiędzy kroplą, a badaną powierzchnią.

Kąt zwilżania jest następnie wyznaczany zgodnie z równaniem Younga:

$$\cos \theta = \frac{\gamma_{SG} - \gamma_{SL}}{\gamma_{LG}} \quad (5)$$

Gdzie:

γ_{SG} - napięcie powierzchniowe między ciałem stałym a gazem

γ_{SL} - napięcie powierzchniowe między ciałem stałym a cieczą

γ_{LG} - napięcie powierzchniowe między cieczą a gazem

Jedyną wadą zastosowania goniometru jest możliwa zależność wyników od temperatury, wilgotności czy czystości badanej powierzchni, jednak szybkość i precyzja pomiaru oraz możliwość badania wielu rodzajów materiałów sprawia, że jest to urządzenie szeroko stosowane do badań właściwości polimerów takich jak

energia powierzchniowa czy obecność modyfikacji na powierzchni badanego materiału.

Pomiaru kąta zwilżania wytworzonych z kopoliestrów folii polimerowych dokonano przy użyciu goniometru Rame-Hart Model 90 (Rame-Hart, Succasunna, USA) oraz oprogramowania DROImage Pro w wersji 3.19.12.0 (Rame-Hart, Succasunna, USA). Do pomiaru wykorzystano wodę destylowaną, a dla każdej badanej próbki wykonano dziesięć powtórzeń.

- **Ocena właściwości antybakteryjnych**

Wraz ze wzrastającą świadomością co do higieny i ryzyka związanego z rozprzestrzenianiem się patogenów, właściwości antybakteryjne są coraz istotniejsze dla szerszej gamy produktów. Z tego powodu badania antybakteryjności odgrywają jedną z ważniejszych ról w projektowaniu materiałów, które minimalizować będą możliwość zakażeń i infekcji. Jedną z metod, która w precyzyjny sposób pozwala ocenić skuteczność materiału do hamowania rozwoju bakterii jest norma ISO 22196. Opisuje ona metody oceny antybakteryjności powierzchni z tworzyw sztucznych oraz innych materiałów nieporowatych.

Dla wytworzonych z otrzymanych kopoliestrów folii badania zostały przeprowadzone zgodnie z normą ISO 22196:2011[175]. Próbki były sterylizowane promieniowaniem UV przez 10 min dla każdej strony. Następnie zawiesina bakterii *E. coli* i *S. aureus* została naniesiona na badaną próbkę folii o wymiarach 50x50 mm. Po 24 godzinach bakterie były wmywane i oznaczana była liczba komórek, które przeżyły kontakt z próbką. Porównując ją z liczbą bakterii na próbce kontrolnej obliczano aktywność antybakteryjną próbki badanej:

Aktywność przeciwbakteryjną R dla próbki badanej obliczano za wzoru:

$$R = (U_t - U_0) - (A_t - U_0) = U_t - A_t \quad (6)$$

Gdzie:

A_t - logarytm dziesiętny ze średniej liczby bakterii na próbce aktywnej po 24 godzinach

U_t - logarytm dziesiętny ze średniej liczby bakterii na folii kontrolnej po 24 godzinach

U_0 - logarytm dziesiętny ze średniej liczby bakterii na folii kontrolnej w czasie 0 godzin

4. Wyniki badań

4.1. Synteza kopolimeru butyrylo-bursztyno chityny z użyciem kwasu nadchlorowego

Pierwszym etapem przeprowadzonych prac badawczych było opracowanie warunków syntezy butyrylo-bursztyno chityny. W oparciu o badania prowadzone nad uzyskaniem acetylomrówczanochityny [119,120], butyrylo-acetylo chityny [122] zdecydowano się na użycie kwasu nadchlorowego.

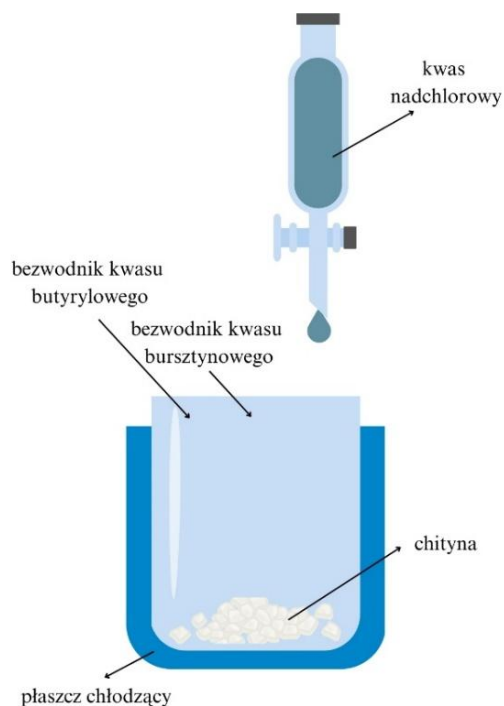
Przygotowano cztery mieszaniny reakcyjne o różnych stosunkach molowych zawartości bezwodnika masłowego i bezwodnika bursztynowego (Tabela 5) oraz 25 g zmielonej chityny. Tak przygotowane mieszaniny umieszczono w chłodzonych reaktorach Wkraplacze wypełniono kwasem nadchlorowym i powoli wkraplano do mieszaniny reakcyjnej. Proces syntezy prowadzono przez 4 godziny, w temperaturze nieprzekraczającej 20°C (Rys. 19).

Tabela 4 Stosunek molowy bezwodnika kwasu masłowego i bezwodnika kwasu bursztynowego w zależności od wariantu syntezy

	Bezwodnik kwasu masłowego (mol)	Bezwodnik kwasu bursztynowego (mol)
Synteza 1	0,95	0,05
Synteza 2	0,85	0,15
Synteza 3	0,75	0,25
Synteza 4	0,65	0,35

Po zakończeniu procesu syntezy, otrzymany produkt zobojętniono z użyciem 5% roztworu amoniaku, wypłukano w wodzie destylowanej- do momentu, w którym zostało osiągnięte pH neutralne, a następnie wysuszono.

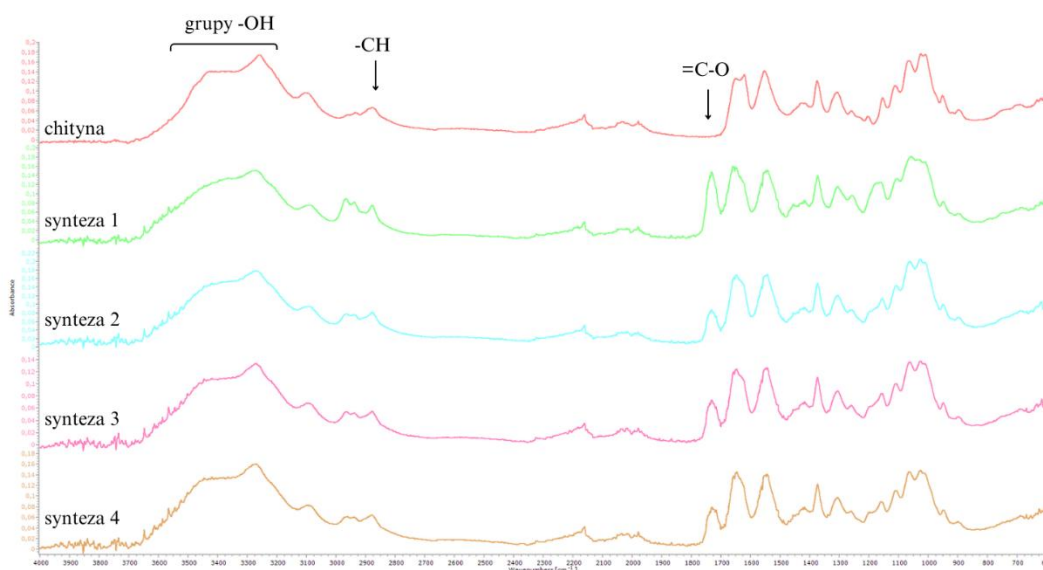
Do suchych już produktów każdej z czterech syntez dodano alkohol etylowy, w celu oddzielenia ich z nieprzereagowanej w trakcie procesu chityny. Przygotowano roztwory o stężeniu około 7%, a następnie mieszano przez 24 godziny. Kolejnym krokiem było wytrącenie roztworów polimeru do wody destylowanej. Wydajność procesu była bardzo niska, ponadto w otrzymanym produkcie widoczna była również znaczna ilość nieprzereagowanej chityny. Otrzymany produkt pozwolił jedynie na wykonanie analizy FTIR ATR.



Rys. 19 Schemat procesu syntezy z użyciem kwasu nadchlorowego

- **Analiza FTIR ATR kopolimeru butyrylo-bursztyno chityny syntezowanego z użyciem kwasu nadchlorowego**

W celu oceny efektów syntezy z użyciem kwasu nadchlorowego przeprowadzono analizę FTIR ATR uzyskanych polimerów. W przedstawionych poniżej widmach (Rys. 20) nie widać znaczących różnic między referencyjnym widmem chityny, a widmami otrzymanych polimerów. Nadal widoczne są drgania rozciągające pochodzące od grupy -OH przy długości fali od 3600 cm^{-1} do 3200 cm^{-1} oraz drgania rozciągające pochodzące od grupy -CH przy długości fali 2876 cm^{-1} . W przypadku produktów syntezy, zauważyć można pojawienie się niewielkich pików przy długości fali 2968 cm^{-1} , które również pochodzą od grupy -CH oraz bardziej intensywnych pików przy długości fali 1732 cm^{-1} , które odpowiadają drganiom rozciągającym C=O. Piki te mogą wskazywać na proces estryfikacji otrzymanych polimerów lub obecność związków zawierających karbonylowych- co może być spowodowane niskimi wydajnościami reakcji i niemożliwością prawidłowego oczyszczenia produktów przed poddaniem ich badaniu.



Rys. 20 Widmo FTIR butyrylo-bursztyno chityny syntezowanej z użyciem kwasu nadchlorowego

Podsumowanie

Proces syntezy z użyciem kwasu nadchlorowego charakteryzuje się niską wydajnością oraz obecnością dużej ilości nieprzereagowanej chityny w otrzymanych produktach. Wystarczającą ilość produktu do prowadzenia dalszej analizy udało się uzyskać tylko w przypadku dwóch z czterech syntez. Otrzymane widma FTIR ATR potwierdziły brak wyraźnych różnic między otrzymanymi kopolimerami, a referencyjnym widmem chityny. Nowy pik przy długości fali 1732 cm^{-1} świadczy o niewystarczająco skutecznym procesie estryfikacji. W celu przeprowadzenia reakcji o wysokiej wydajności konieczna jest zmiana warunków reakcji.

4.2. Synteza kopolimeru butyrylo-bursztyno chityny z użyciem jako katalizatora kwasu metanosulfonowego- wariant I

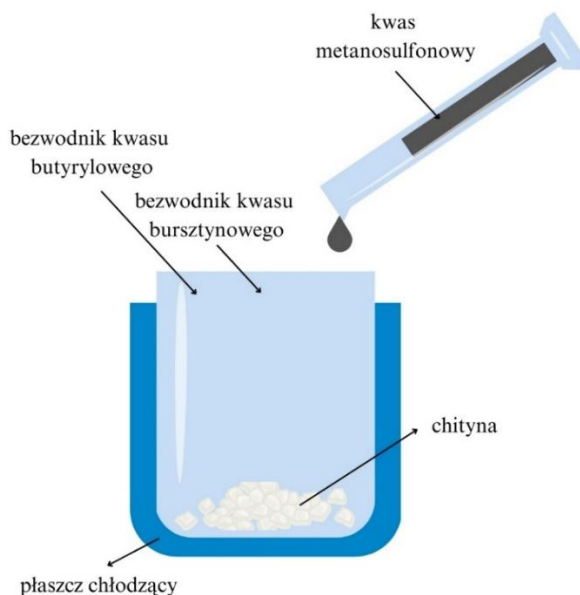
Ze względu na minimalną wydajność oraz znikome zajście procesu estryfikacji produktów otrzymanych w wyniku syntez z użyciem kwasu nadchlorowego, zdecydowano się na zmianę katalizatora. Kolejnym wytypowanym katalizatorem był kwas metanosulfonowy, który podobnie jak kwas nadchlorowy był wcześniej stosowany w pracach opisujących syntezę pochodnych chityny

[102,106,122]. Zdecydowano się na przeprowadzenie syntezy z jego użyciem i ponownie przygotowano cztery mieszaniny, z których każda zawierała 25g chityny, 100 cm³ kwasu metanosulfonowego oraz bezwodniki kwasu masłowego i bursztynowego w różnych stosunkach molowych zgodnie z Tabelą 5.

Tabela 5 Stosunek molowy bezwodnika kwasu masłowego i bezwodnika kwasu bursztynowego w zależności od wariantu syntezy

	Bezwodnik kwasu masłowego (mol)	Bezwodnik kwasu bursztynowego (mol)
Synteza 1a	0,95	0,05
Synteza 2a	0,85	0,15
Synteza 3a	0,75	0,25
Synteza 4a	0,65	0,35

Gotowe mieszaniny umieszczono w chłodzonych reaktorach, w których prowadzono proces syntezy przez 4 godziny, często mieszając oraz dbając o to aby temperatura mieszaniny reakcyjnej nie przekroczyła 4°C (Rys. 21). We wszystkich przypadkach w trakcie trwania procesu zauważyć można było zmieniającą się strukturę mieszaniny reakcyjnej.



Rys. 21 Schemat procesu syntezy z użyciem kwasu metanosulfonowego

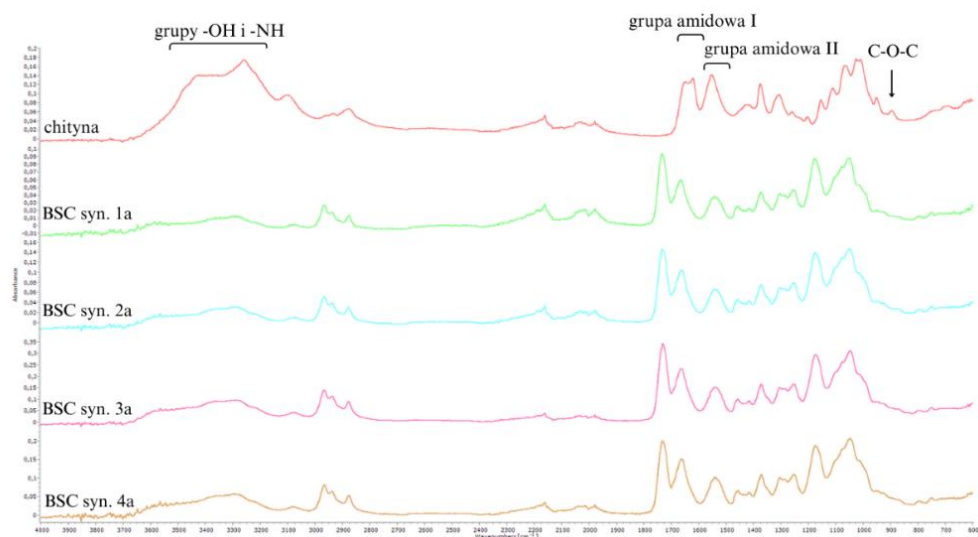
Po czterech godzinach prowadzenia reakcji, produkty Syntez 1a, 2a, 3a i 4a zobojętniono 5% roztworem amoniaku, a następnie płukano w wodzie destylowanej do momentu otrzymania neutralnego pH, a tym samym pozbycia się

z mieszaniny nieprzereagowanego kwasu metanosulfonowego. Zneutralizowany produkt dokładnie wysuszono, po czym sporządzono około 7% roztwory produktów każdej z syntez w alkoholu etylowym, które następnie mieszano przez 24 godziny. Po tym czasie roztwory pozostawiono na kilka godzin w celu rozdzielania się klarownej części roztworu od osadu w nim występującego. Kiedy widoczny był już podział na dwie frakcje, zdekantowano klarowne części roztworów. Wykorzystując fakt, że zsyntezowane estry chityny nie rozpuszczają się w wodzie, wytrącono rozpuszczone produkty do wody destylowanej, a następnie odsączono z użyciem tygla Schotta. Otrzymane polimery suszono aż do otrzymania ich stałej masy. W przypadku syntezy 1a i 2a udało się otrzymać wystarczającą ilość produktu, aby możliwe było jego poddanie dalszej analizie z użyciem ^1H NMR i FTIR ATR. Natomiast w przypadku produktów syntez 3a i 4a podobnie jak w przypadku syntez z wykorzystaniem kwasu nadchlorowego wydajność procesu była bardzo niska, co skutkowało otrzymaniem ilości produktu pozwalającej jedynie na analizę FTIR ATR.

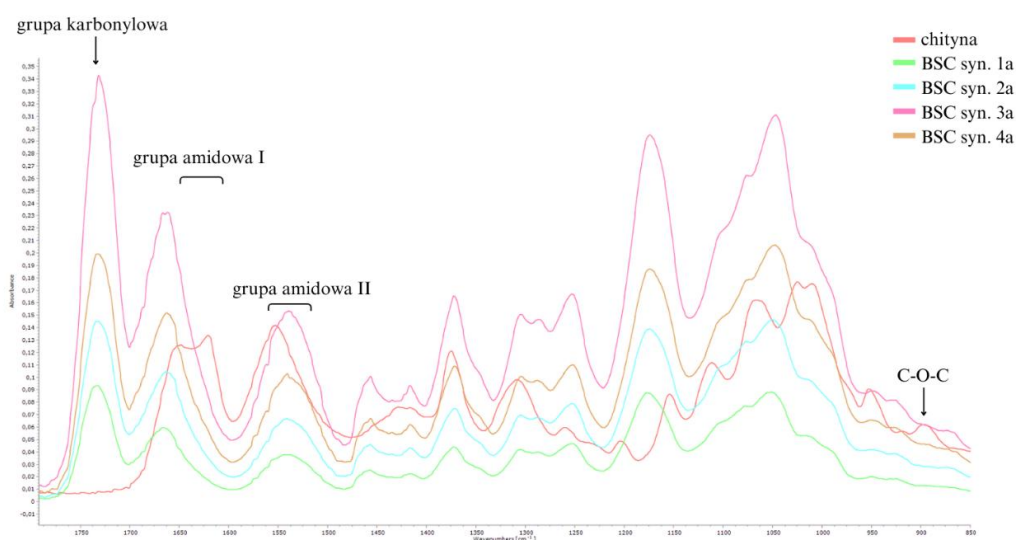
- **Analiza FTIR ATR kopolimeru butyrylo-bursztyno chityny syntezowanego z użyciem kwasu metanosulfonowego- wariant I**

Aby możliwa była ocena zmian w strukturze wytworzonych z użyciem kwasu metanosulfonowego polimerów przeprowadzono analizę FTIR ATR (Rys. 22-23). Do badań użyto polimerów w formie proszku. W odróżnieniu od niezmodyfikowanej chityny w otrzymanych polimerach widoczny jest zanik piku przy długości fali $3500\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$, co jest związane z modyfikacjami grup -OH lub -NH w wyniku estryfikacji. Przy długości fali 1732 cm^{-1} zauważyć można nowe i intensywne pasma absorpcji pochodzące od grupy karbonylowej, a tym samym wynikające z procesu estryfikacji. Piki pochodzące od grup amidowych I przy długości fali $1650\text{--}1620\text{ cm}^{-1}$ oraz amidowych II $1550\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ są widoczne zarówno w widmach chityny, jaki i w nieco zmienionej formie w widmach produktów syntezy. Piki te są charakterystyczne dla naturalnych struktur amidowych w chitynie, a ich zmiana może sugerować modyfikację strukturalną w grupach amidowych, za co odpowiada użycie bezwodnika kwasu bursztynowego. W zakresie daktyloskopowym widoczne są pasma pochodzące od wiązań glikozydowych C-O-C przy długości fali 898 cm^{-1} . Ich niewielka zmiana w przypadku produktów

syntez, w porównaniu do chityny jest spowodowana modyfikacjami, które zaszły w trakcie procesu estryfikacji. We wszystkich widmach produktów syntezy są widoczne delikatne przesunięcia lub zmiany w intensywności pików w stosunku do niemodyfikowanej chityny. Wynikają one z procesu estryfikacji, któremu zostały poddane badane próbki.



Rys. 22 Widma FTIR ATR butyrylo-bursztyno chityny syntezowanej z użyciem kwasu metanosulfonowego- metoda I



Rys. 23 Widma FTIR ATR butyrylo-bursztyno chityny syntezowanej z użyciem kwasu metanosulfonowego- metoda I

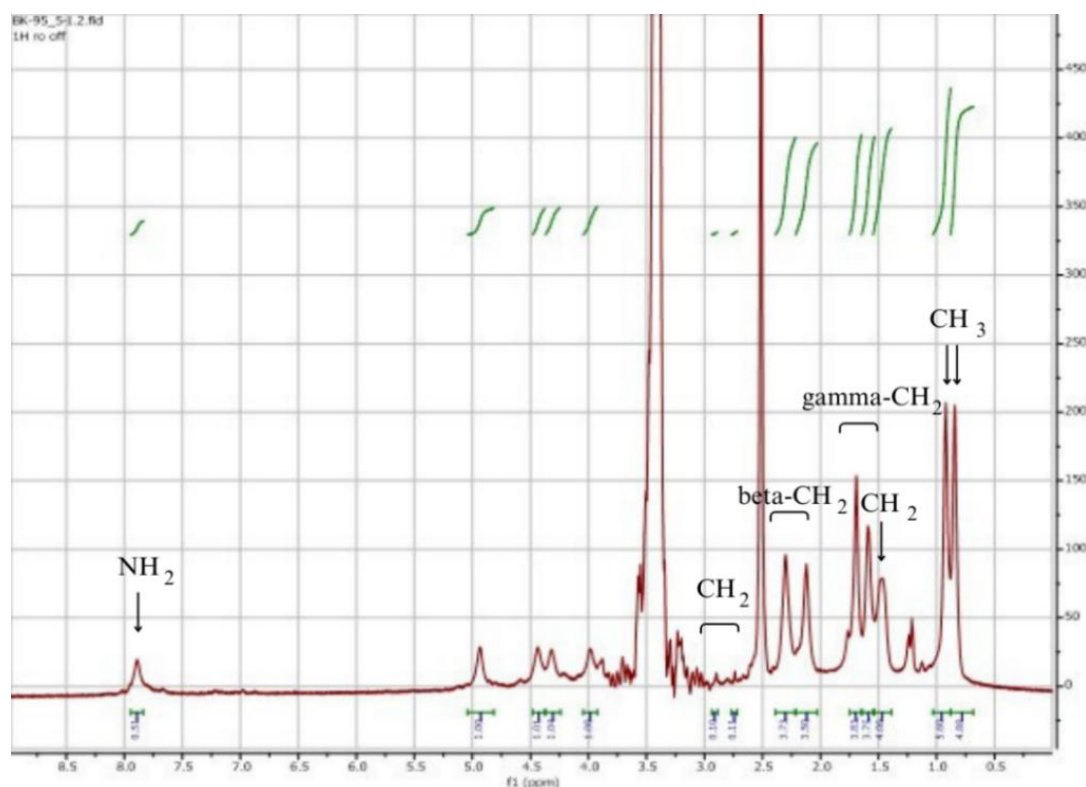
- Analiza ^1H NMR kopolimeru butyrylo-bursztyno chityny syntezowanego z użyciem kwasu metanosulfonowego- wariant I

W celu oceny stopnia podstawienia grupami funkcyjnymi produkty syntezy zostały poddane analizie ^1H NMR (Rys. 24-25). Do badań wykorzystano jedynie produkty wytworzonych syntezach 1a i 2a, niestety ilość produktów wytworzonych w ramach syntez 3a i 4a okazała się zbyt mała, aby możliwe było ich dokładne oczyszczenie i dalsza analiza

W widmie ^1H NMR (Rys. 24), które zostało wykonane dla produktu syntezy 1a, możliwe jest wyodrębnienie następujących sygnałów protonów (Tabela 6):

Tabela 6 Sygnały protonów w widmie ^1H NMR produktu syntezy 1a

Rodzaj grupy	Przesunięcie chemiczne (ppm)
NH_2	7,8
CH_2	2,9-2,7
Beta- CH_2	2,3-2,1
Gamma- CH_2	1,7-1,6
CH_2	1,47
CH_3	0,9 i 0,84

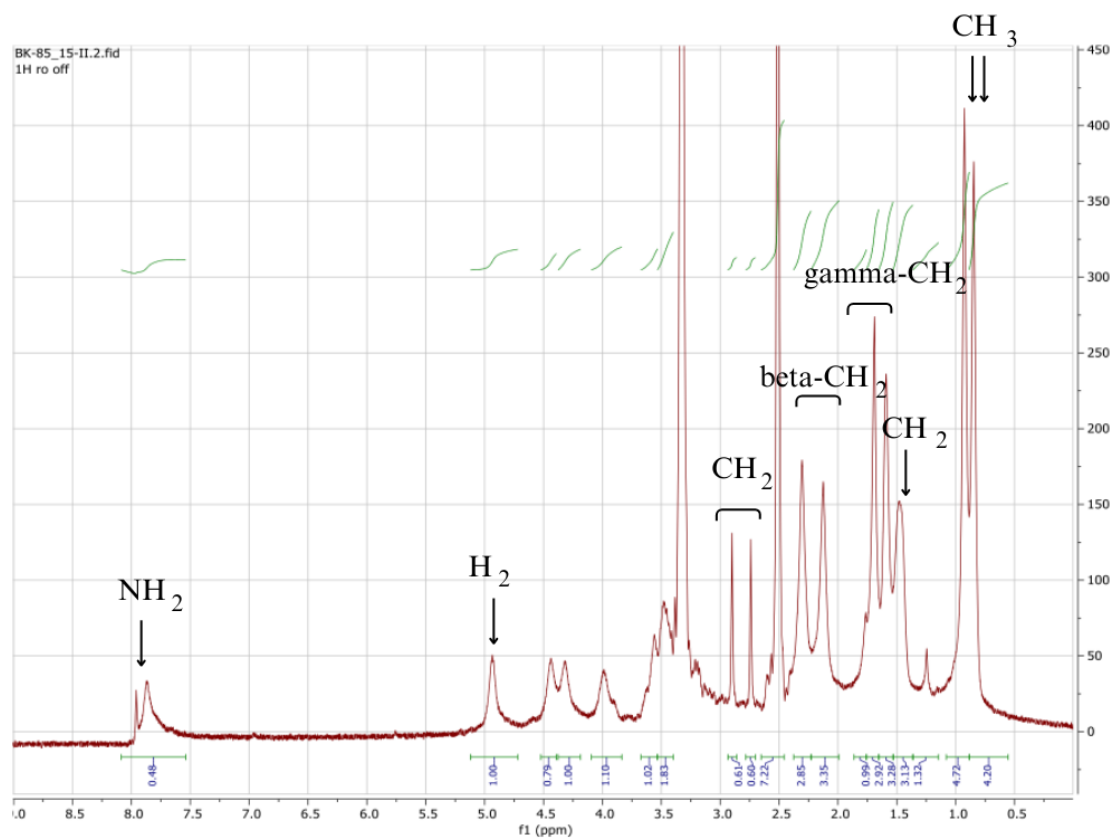


Rys. 24 Widmo ^1H NMR produktu syntezy 1a

Poniższe widmo ^1H NMR (Rys. 25) jest wynikiem analizy produktu syntezy 2a. Na jego podstawie zostały zidentyfikowane poniższe sygnały protonów (Tabela 7).

Tabela 7 Sygnały protonów w widmie ^1H NMR produktu syntezy 2a

Rodzaj grupy	Przesunięcie chemiczne (ppm)
NH_2	7,8
H_4	4,9
CH_2	2,9-2,7
Beta- CH_2	2,3-2,1
Gamma- CH_2	1,7-1,6
CH_2	1,47
CH_3	0,9 i 0,84



Rys. 25 Widmo ^1H NMR produktu syntezy 2a

W oparciu o wzór poniżej możliwe było obliczenie stopnia podstawienia (DS) grupami funkcyjnymi przyłączonymi w wyniku reakcji estryfikacji- pochodzącymi od bezwodnika butylowego i bursztynowego, polimerów otrzymanych w syntezie 1a i 2a (Tabela 8):

$$DS_M = \frac{1/3 I_{\gamma CH_3}}{1/6 I_{H_2-H_6}} \quad (7)$$

Gdzie:

$I_{\gamma CH_3}$ – wartość całkowita dla intensywności sygnału, pochodzącego od protonów w grupie metylowej reszty kwasu masłowego przy 0,60 ppm

$I_{H_2-H_6}$ całkowita wartość intensywności sygnałów w zakresie 3,0-4,2 ppm, pochodzących od protonów H₂ - H₆ w członie glukozamidowym polimeru

Tabela 8 Stopnie podstawienia

Nazwa próbki	Stosunek reagentów w mieszaninie (mol)		Stopnie podstawienia oznaczone metodą ¹ H NMR		Teoretyczne stopnie podstawienia	
	Bezwodnik kwasu masłowego	Bezwodnik kwasu bursztynowego	DS _B	DS _S	DS _B	DS _S
Synteza 1a	0,95	0,05	1,74	0,05	1,90	0,10
Synteza 2a	0,85	0,15	1,48	0,30	1,70	0,30

Gdzie:

DS_B stopień podstawienia grupami butyrylowymi

DS_S stopień podstawienia grupami bursztynowymi

Na podstawie obliczeń wykonanych dla produktu syntezy 1a można stwierdzić, że podstawienie grupami butyrylowymi jest niekompletne. Wynosi on bowiem 1,74, a jego teoretyczny stopień podstawienia to 1,9. Podobną zależność można zauważyć w przypadku podstawienia grupami bursztynowymi, gdzie teoretyczny stopień podstawienia wynosi 0,1, natomiast otrzymany produkt charakteryzuje się stopniem podstawienia 0,05

Produkt syntezy 2a osiągnął stopień podstawienia zgodny z jego teoretyczną wartością. Zarówno w przypadku teoretycznego jak i uzyskanego

stopnia podstawienia wartość ta wynosi 0,3. Natomiast w przypadku grup butyrylowych nie udało się uzyskać założonego stopnia podstawienia, ponieważ jego teoretyczna, wynikająca z ilości wykorzystanego bezwodnika wartość wynosi 1,9, a uzyskany produkt ma stopień podstawienia o wartości 1,74. Stopień deacetylacji chityny obliczony na podstawie integracji wynosił 0,25.

Podsumowanie

W przypadku syntez przeprowadzonych z użyciem kwasu metanosulfonowego wydajność procesu również była niska. Otrzymana ilość kopoliestrów w przypadku produktów syntezy 1a i 2a pozwoliła na przeprowadzenie analizy FTIR ATR oraz ^1H NMR. Niestety wydajność syntez 3a i 4a była na tyle niska, że możliwe było jedynie przeprowadzenie analizy FTIR ATR. Na podstawie widm FTIR ATR wszystkich badanych próbek butyrylo-bursztyno chityny wykazano zmiany w strukturze kopoliestrów w odniesieniu do próbki chityny. Zanikowi uległy pasma przy długości fali 3500-3200 cm^{-1} , pojawiły się również piki pochodzące od wiązania karbonylowego przy 1732 cm^{-1} co potwierdziło zajście procesu estryfikacji. Analiza ^1H NMR wykazała, że zarówno w przypadku produktów syntezy 1a, jak i 2a stopnie podstawienia grupami butyrylowymi i bursztynowymi nie osiągnęły założonych wartości. W celu poprawy wydajności reakcji niezbędna jest zmiana warunków reakcji.

4.3. Synteza butyrylo-bursztyno chityny z użyciem jako katalizatora kwasu metanosulfonowego- wariant II

Ze względu na niską wydajność dwóch z czterech wariantów syntez, zdecydowano się na modyfikację metody, w której kwas metanosulfonowy został użyty jako katalizator. Ponieważ w pierwszym wariantcie syntezy z użyciem kwasu metanosulfonowego występowały problemy z ciągłym utrzymaniem odpowiednio niskiej temperatury, zwłaszcza na początkowym etapie reakcji, zdecydowano się na wstępne schłodzenie substratów reakcji. Proporcje użytych bezwodników zostały przedstawione w tabeli 9.

Tabela 9 Stosunek molowy bezwodnika kwasu masłowego i bezwodnika kwasu bursztynowego w zależności od wariantu syntezy

		Bezwodnik kwasu masłowego (mol)	Bezwodnik kwasu bursztynowego (mol)
Synteza 1b	BSC 90/10	0,90	0,10
Synteza 2b	BSC 80/20	0,80	0,20
Synteza 3b	BSC 70/30	0,70	0,30
Synteza 4b	BSC 60/40	0,60	0,40

W celu łatwiejszej interpretacji wyników badań w dalszej części pracy stosowane będą skróty BSC 90/10, BSC 80/20, BSC 70/30 i BSC 60/40.

Przygotowane substraty umieszczono w chłodzonym reaktorze, po czym dodano do nich katalizator- również wcześniej schłodzony. Reakcje prowadzono przez 4 godziny w temperaturze nieprzekraczającej 4°C, często mieszając w celu zapobiegnięcia miejscowym przegrzaniom mieszanin reakcyjnych. Również w przypadku wariantu II syntezy dało się zauważyć zmieniającą się wraz z trwającym czasem strukturę mieszanin reakcyjnych. Po upływie czasu prowadzenia reakcji, zneutralizowano produkty syntez za pomocą 5% wodnego roztworu amoniaku, a następnie płukano w wodzie destylowanej, aż do momentu otrzymania neutralnego pH wody, co sygnalizowało pozbycie się nieprzereagowanego kwasu metanosulfonowego z otrzymanych polimerów.

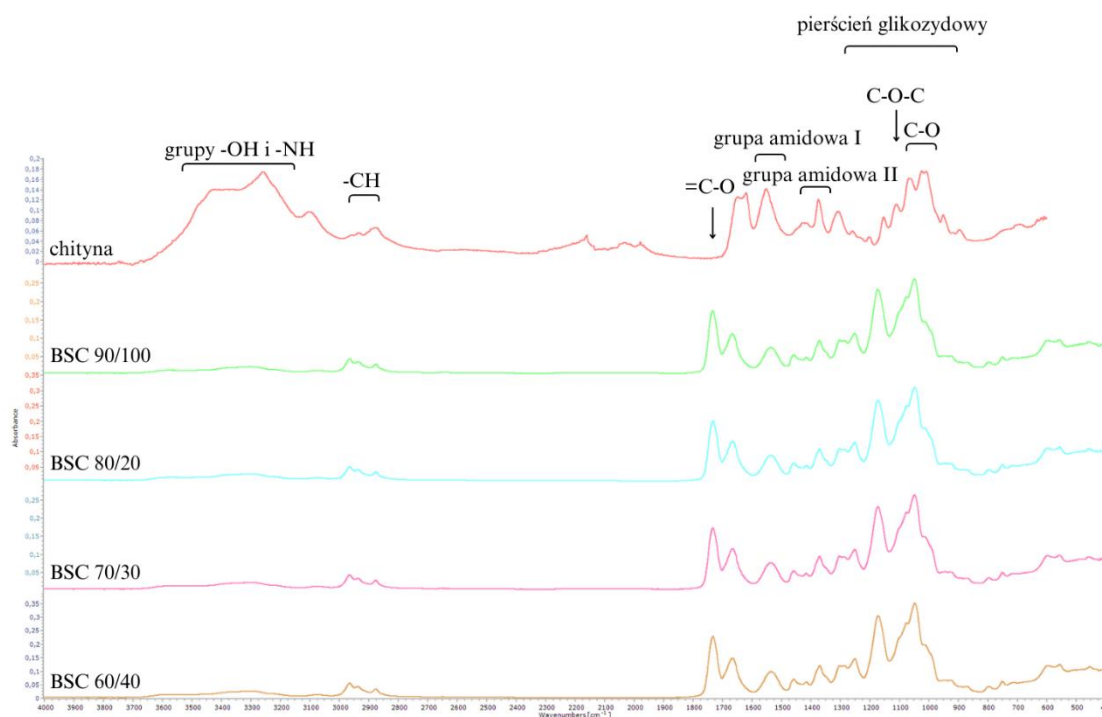
Wysuszone już produkty syntez rozpuszczono w alkoholu etylowym, gdzie polimery stanowił około 7% masy całego roztworu i mieszano przez 24 godziny. Po upływie tego czasu roztwory pozostawiono na kilka godzin w celu umożliwienia procesu sedymentacji. Kiedy widoczny był już wyraźny rozdział frakcji we wszystkich roztworach, klarowne części zostały zdekantowane, a pozostałości zostały odwirowane w celu maksymalnego oddzielenia polimerów od części nieprzereagowanych.

Klarowne części roztworów, będące oczyszczonymi frakcjami polimerów, wytrącono następnie do wody destylowanej. Następnie oddzielono je od wody z użyciem tygla Schotta i pozostawiono do wyschnięcia aż do otrzymania stałej masy.

Ze względu na fakt uzyskania wysokiej wydajności reakcji we wszystkich wariantach, postanowiono przystąpić do dalszej analizy otrzymanych polimerów.

- **Analiza FTIR ATR butyrylo-bursztyno chityny z użyciem kwasu metanosulfonowego- wariant II**

W celu potwierdzenia zmian w budowie wytworzonych polimerów przeprowadzono badanie techniką FTIR ATR (Rys. 26- 27). Polimery w formie proszku zbadano metodą odbiciową. W widmach spektroskopowych chityny można zaobserwować charakterystyczne sygnały, które korelują z określonymi grupami funkcyjnymi w jej strukturze. Pasma w obszarze 4000- 3000 cm^{-1} związane są z drganiami rozciągającymi grup hydroksylowych (-OH) oraz grup amidowych i aminowych (-NH) w chitynie. W przypadku wszystkich produktów syntez widoczne jest zmniejszenie intensywności pasm w obszarze 3600-3000 cm^{-1} , co świadczy o zredukowaniu grup -OH oraz NH_2 wskutek reakcji estryfikacji i ograniczeniu liczby wiązań wodorowych w wyniku wprowadzenia grup estrowych.

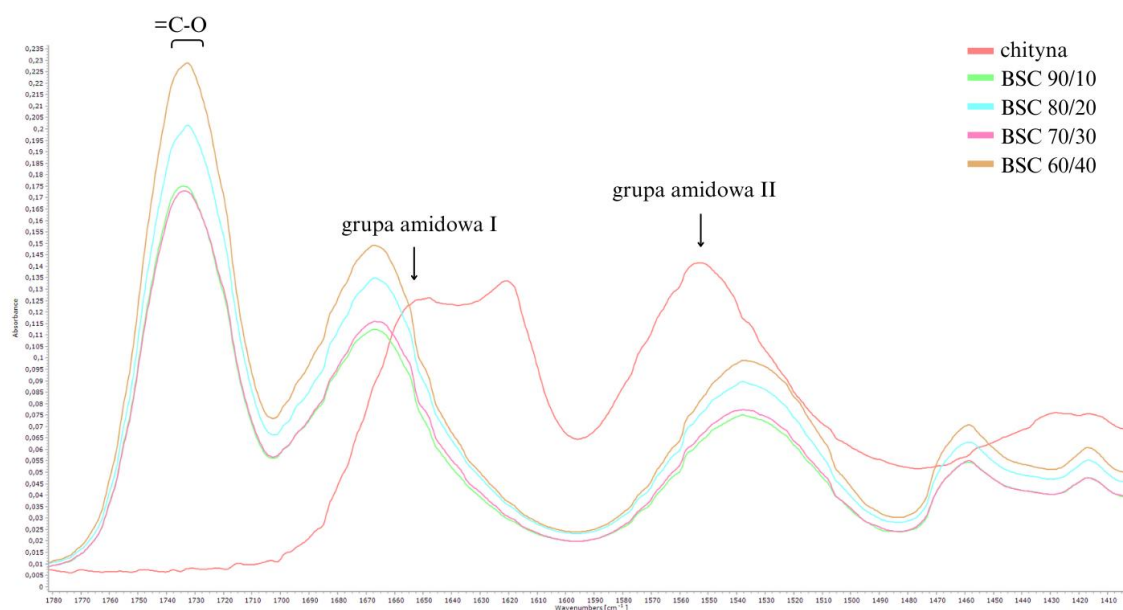


Rys. 26 Widma wytworzonych polimerów w odniesieniu do chityny z krewetek

Pasma w zakresie 3000-2800 cm^{-1} przypisywane są drganiom rozciągającym pochodzącym od grup -CH. W widmach otrzymanych polimerów zauważyć można, że pasma te są bardziej zdefiniowane, co świadczy o skutecznym wprowadzeniu grup alkilowych pochodzących z bezwodnika kwasu

masłowego oraz bezwodnika kwasu bursztynowego. Ponadto w spektrogramie chityny widoczne są intensywne sygnały charakterystyczne dla grup amidowych. Pasma o maksimum 1656 cm^{-1} jest przypisane do grupy amidowej I, podczas gdy pasmo przy 1554 cm^{-1} odpowiada grupie amidowej II. W widmach otrzymanych dla produktów syntezy zauważyć można częściowy zanik tych pików, co wskazuje na częściową modyfikację grup amidowych, w wyniku reakcji z bezwodnikami oraz potwierdza zmniejszenie udziału amidów w strukturze otrzymanych kopoliestrów.

W obszarze $1200\text{-}900\text{ cm}^{-1}$, który związany jest z pierścieniem glikozydowym nie są zauważalne szczególne różnice. W widmie chityny widoczne są charakterystyczne dla pierścienia glikozydowego drgania symetryczne i asymetryczne, mostków tlenowych w pierścieniu glikozydowym (C-O-C) przy długości fali 1150 cm^{-1} oraz drganiom C-O w strukturze pierścieniowej przy długości fali $1030\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$. W widmach wytworzonych polimerów nadal obecne są pasma charakterystyczne dla pierścienia glikozydowego. Widoczne jest również pasmo pochodzące od nowopowstałych wiązań estrowych przy długości fali $1100\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, które częściowo nałożyły się na sygnały z pierścienia glikozydowego. Dowodzi to, że charakterystyczny dla chityny pierścień glikozydowy został zachowany dla wszystkich wytworzonych polimerów, zmianie uległo tylko jego otoczenie chemiczne. Po procesie syntezy nadal widoczne są zarówno mostki tlenowe (C-O-C), jak i podstawowe wiązania w strukturze pierścieniowej w zakresie $1200\text{-}900\text{ cm}^{-1}$. W przeciwieństwie do referencyjnego widma chityny w produktach wszystkich syntez zauważyć można nowe intensywne pasma przy długości fali $1740\text{-}1730\text{ cm}^{-1}$ pochodzące od grup karbonylowych ($=\text{C}-\text{O}$). Grupy te są charakterystyczne dla grup estrowych oraz dowodzą skuteczności procesu estryfikacji z użyciem bezwodników masłowego i bursztynowego.



Rys. 27 Obszar występowania nowych wiązań w wytworzonych polimerach w odniesieniu do chityny z krewetek

- **Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego**

Aby określić zmiany w strukturze chemicznej otrzymanych polimerów przeprowadzono analizę ^1H NMR. Przed przygotowaniem próbek do badania, ponownie rozpuszczono części produktów syntez w alkoholu etylowym, a następnie odwirowano w celu usunięcia drobniejszych zanieczyszczeń. Dokładnie oczyszczone produkty wytrącono do wody destylowanej, a następnie wysuszono z użyciem wagosuszarki aż do osiągnięcia stałej masy. Przygotowane w ten sposób próbki polimerów w postaci proszku rozpuszczono w deuterowanym DMSO. W przedstawionych widmach ^1H NMR (Rys.28-31) można zidentyfikować sygnały protonowe, przedstawione w tabeli 10.

Tabela 10 Sygnały protonowe

Rodzaj grupy	Przesunięcie chemiczne (ppm)
NH_2	7,8
CH_2	2,4-2,2
Beta- CH_2	2,3-2,1
Gamma- CH_2	1,7-1,6
CH_2	1,47
CH_3	0,9 i 0,84

Na podstawie analizy ^1H NMR możliwe jest określenie stopnia podstawienia grupami butyrylowymi i bursztynowymi (Tabela 11).

Tabela 11 Stopień podstawienia grupami butyrylowymi i bursztynowymi

Nazwa próbki	Stosunek reagentów w mieszaninie (mol)		Stopnie podstawienia określone za pomocą ^1H NMR		Teoretyczne stopnie podstawienia	
	Bezwodnik kwasu masłowego	Bezwodnik kwasu bursztynowego	DS _B	DS _S	DS _B	DS _S
BSC 90/10	0.9	0.1	1.8	0.2	1.8	0.2
BSC 80/20	0.8	0.2	1.6	0.4	1.6	0.4
BSC 70/30	0.7	0.3	1.2	0.8	1.4	0.6
BSC 60/40	0.6	0.4	1.2	0.8	1.2	0.8

Gdzie:

DS_B – stopień podstawienia grupami pochodzącymi z bezwodnika kwasu masłowego

DS_S- stopień podstawienia grupami pochodzącymi z bezwodnika kwasu bursztynowego

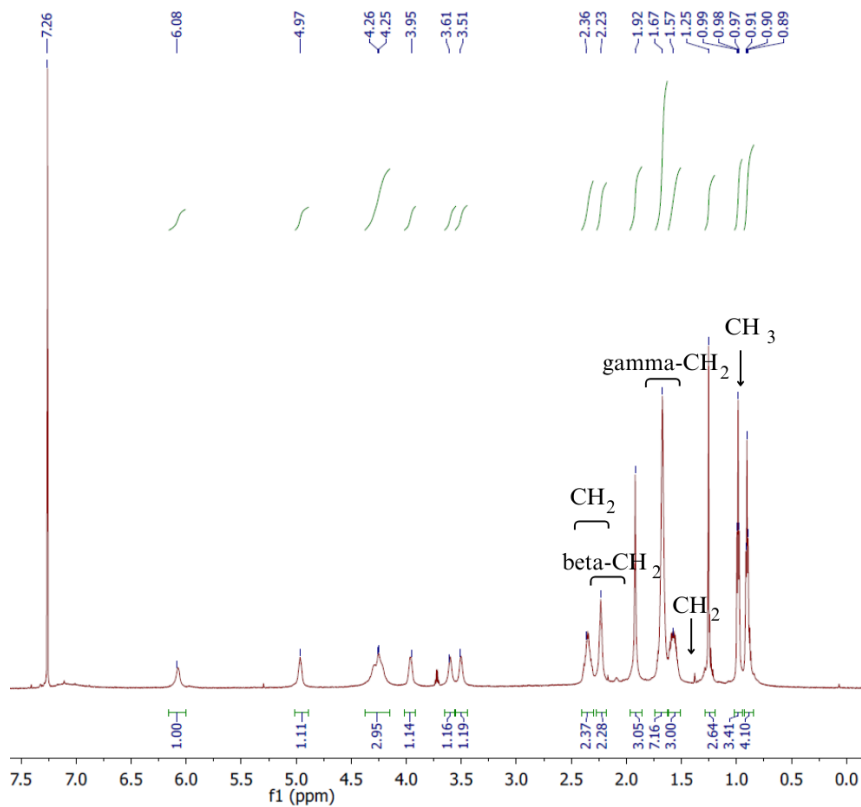
Dla BSC 90/10 stopień podstawienia obliczony dla grup pochodzących z bezwodnika kwasu butyrylowego wynosi 1,8, co odpowiada maksymalnemu teoretycznemu stopniowi podstawienia. Podobną zależność zaobserwowano w przypadku grup pochodzących z bezwodnika kwasu bursztynowego – obliczony na podstawie widm ^1H NMR stopień podstawienia wynosi 0,2, co również jest zgodne z wartością teoretyczną.

W kopolimerze BSC 80/20 stopień podstawienia grupami z bezwodnika kwasu masłowego wynosi 1,6, osiągając wartość maksymalną. Dla grup pochodzących z bezwodnika kwasu bursztynowego również zaobserwowano zgodność z teoretycznym maksymalnym stopniem podstawienia.

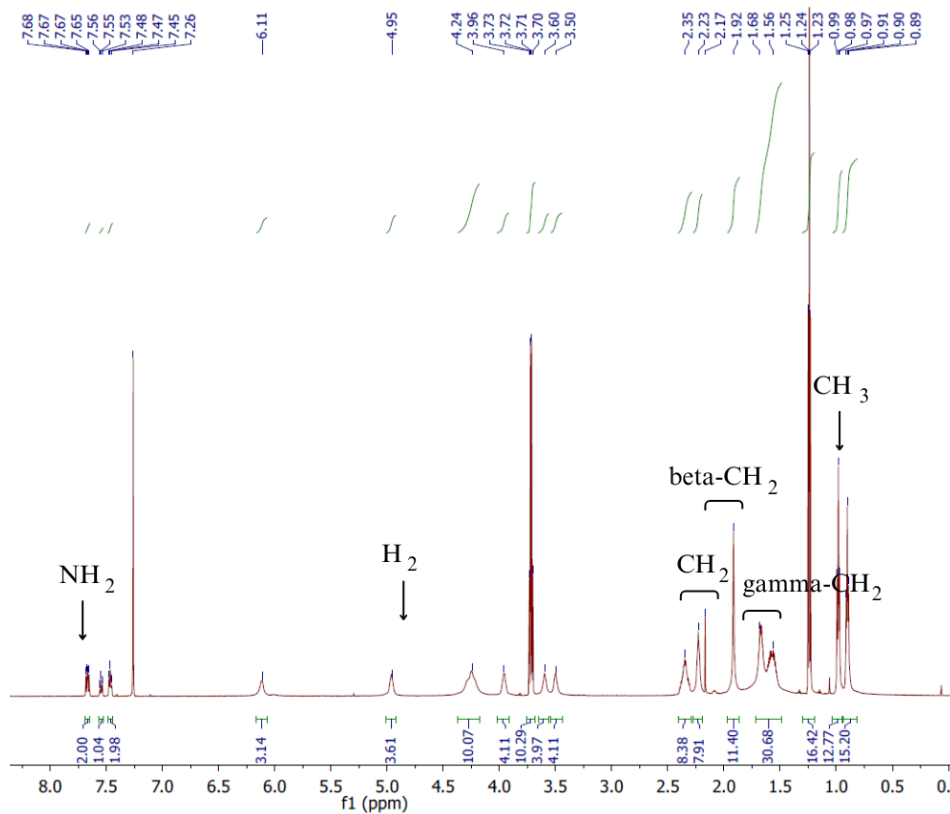
Kopolimery BSC 70/30 i 60/40 wykazują różne wartości stopni podstawienia. Dla produktu BSC 70/30 stopień podstawienia grupami z bezwodnika kwasu

masłowego wynosi 1,2 (teoretyczna wartość to 1,4), natomiast dla grup z bezwodnika kwasu bursztynowego wynosi 0,8 (przy wartości teoretycznej 0,6). W przypadku syntezy 4b stopnie podstawienia dla obu typów grup są zgodne z wartościami teoretycznymi.

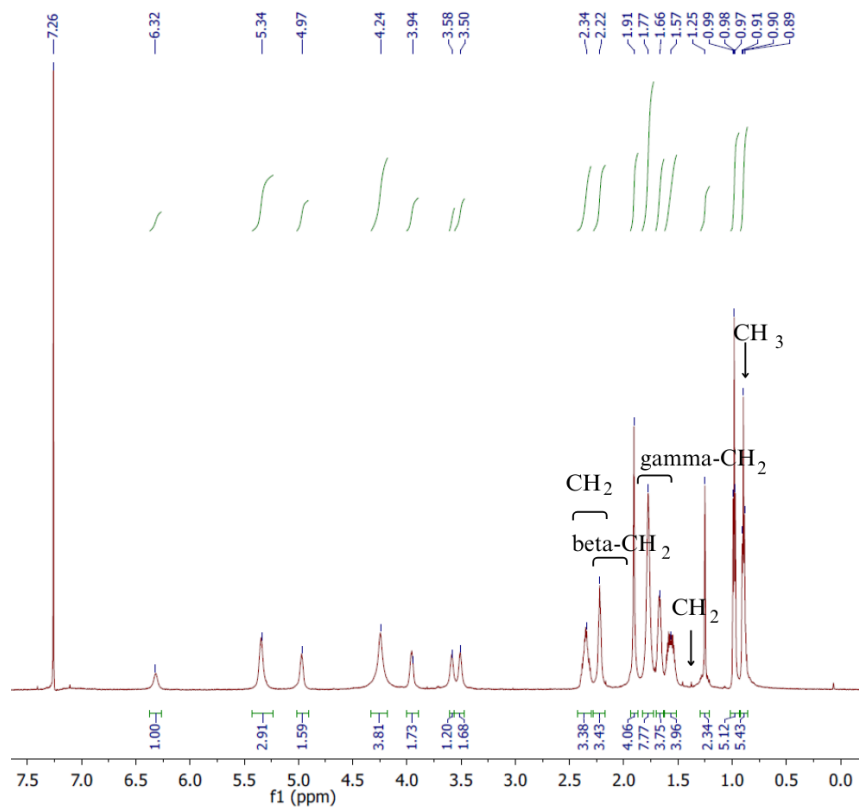
Powodem zbyt niskiego podstawienia grupami kwasu masłowego w BSC 70/30 jest wystąpienie efektu sterycznego, w tym przypadku zawady przestrzennej. Grupy pochodzące od bezwodnika kwasu bursztynowego są większe w porównaniu do grup bezwodnika masłowego, co powoduje ograniczenia przestrzenne i trudność w dostępie mniejszych grup do miejsc reaktywnych. Wyższe niż teoretycznie podstawienie grupami pochodzącymi z bezwodnika kwasu bursztynowego wynika z jego bardziej symetrycznej struktury, w porównaniu do bezwodnika kwasu masłowego. Powoduje to jego większą reaktywność i podatność na atak nukleofilowy co prowadzi do bardziej efektywnego i szybszego postępowania reakcji. Dodatkowo bezwodnik kwasu bursztynowego ma strukturę czteroczłonowego pierścienia w wyniku czego generowane jest napięcie pierścieniowe, które sprawia, że wiązania stają się bardziej podatne na rozerwanie w trakcie prowadzenia reakcji chemicznych. Natomiast bezwodnik kwasu masłowego, nie posiada takiego napięcia co powoduje jego niższą reaktywność [176,177].



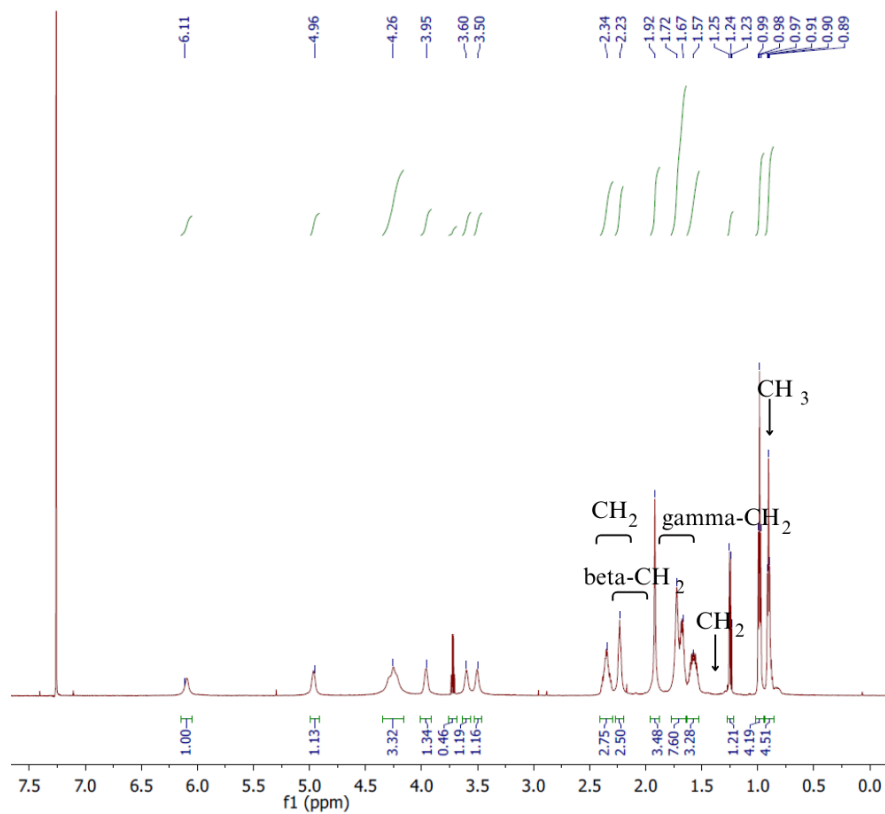
Rys. 28 Widmo ¹H NMR dla BSC 90/10



Rys. 29 Widma ¹H NMR dla BSC 80/20



Rys. 30 Widmo ¹H NMR dla BSC 70/30



Rys. 31 Rys. Widma ¹H NMR dla BSC 60/40

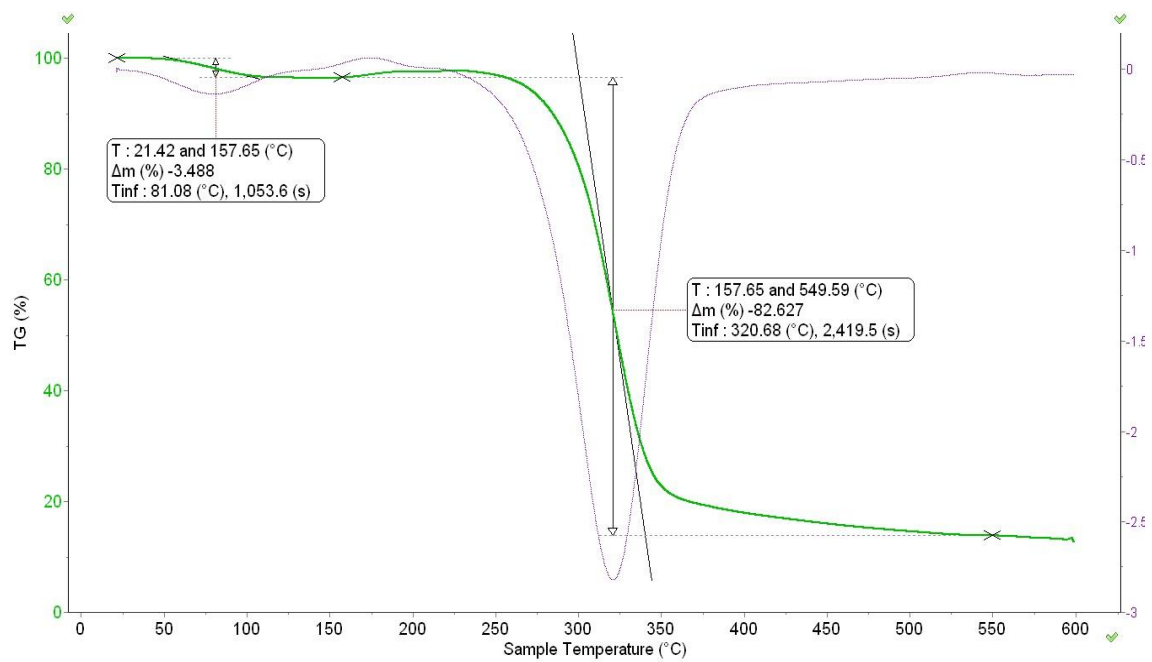
Podsumowanie

W wyniku kolejnej syntezy z użyciem kwasu metanosulfonowego jako katalizatora uzyskano wysoką wydajność reakcji, a tym samym wystarczającą do dalszej analizy ilość kopolimerów butyrylo-bursztyno chityny. Dzięki użyciu analizy FTIR ATR potwierdzono zmiany w strukturze chemicznej wytworzonych kopoliestrów. Zaobserwowany został częściowy zanik pasm w obszarze 3600-3000 cm^{-1} , co związane jest z estryfikacją grup hydroksylowych i aminowych. Obecność grup alkilowych pochodzących z bezwodnika kwasu masłowego i bursztynowego została potwierdzona przez pojawienie się nowych pasm w zakresie 3000-2800 cm^{-1} . Pasma pochodzące od grup karbonylowych przy długości fali 1740-1730 cm^{-1} dowodzą skutecznego przeprowadzenia reakcji estryfikacji. We wszystkich produktach syntezy został również zachowany pierścień glikozydowy chityny.

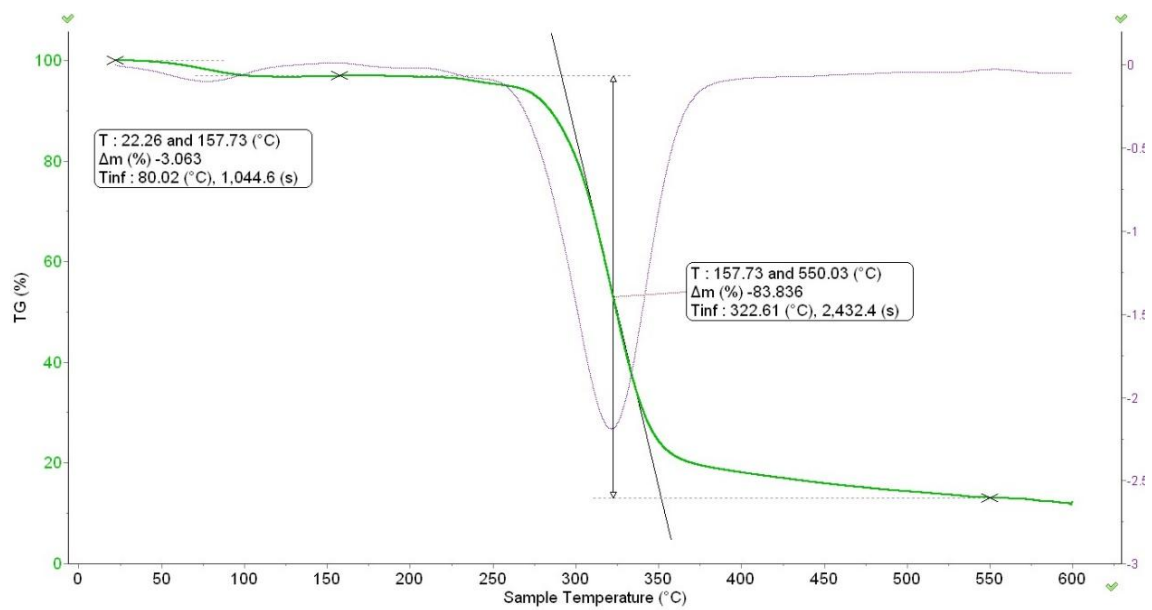
W przypadku stopnia podstawienia grupami butyrylowymi i bursztynowymi większość produktów uzyskała zgodność wartości teoretycznych z otrzymanymi. Wyjątek stanowiło BSC 70/30, w przypadku którego wystąpił efekt steryczny. Dodatkowo wyższa reaktywność bezwodnika bursztynowego przyczyniła się do bardziej efektywnego podstawienia, tym samym blokując możliwość podstawienia grupami kwasu masłowego.

- **Właściwości termiczne**

W celu oceny wpływu procesu estryfikacji na właściwości termiczne wytworzonych polimerów przeprowadzono analizę termogravimetryczną. Krzywe termogravimetryczne (Rys. 32-33) dla wszystkich próbek charakteryzują się jednoetapową degradacją, a różnice między nimi są stosunkowo niewielkie.

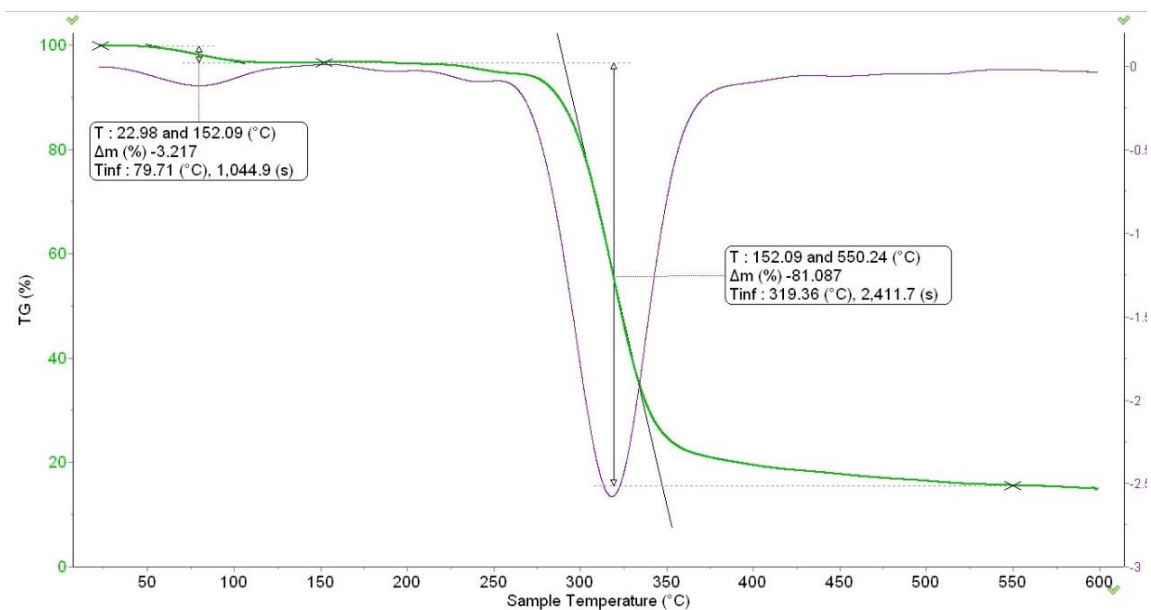


BSC 90/10

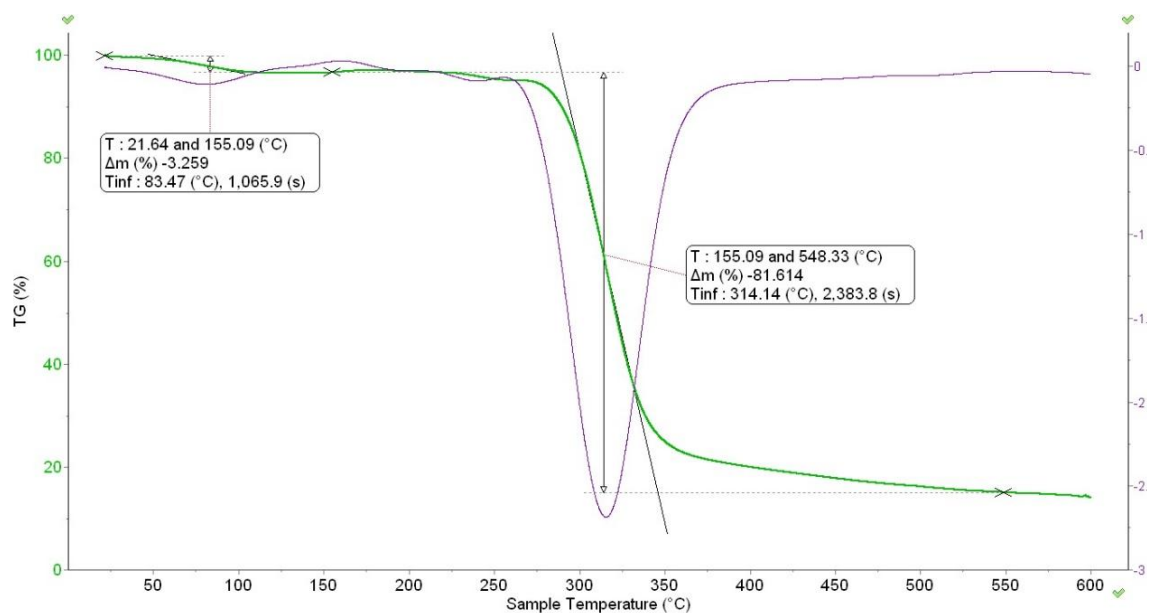


BSC 80/20

Rys. 32 Krzywe termograwimetryczne dla BSC 90/10 i 80/20



BSC 70/30



BSC 60/40

Rys. 33 Krzywe termogravimetryczne dla BSC 70/30 i BSC 60/40

Pierwszy etap procesu rozpoczyna się dla wszystkich próbek w temperaturze około 50°C, największy ubytek masy obserwowany jest w temperaturze 80,0-83,5°C, a proces kończy się w temperaturze od 96,7°C do 103,1°C w zależności od badanej próbki (Tabela 12). Ubytek masy badanych próbek jest niewielki i zamyka się w granicach 3,1-3,5%. Jest on spowodowany odparowaniem wody lub innych rozpuszczalników lotnych oraz utratą

rozpuszczalników resztkowych. Jest to proces fizyczny i nie powoduje degradacji polimerów. Etap głównej degradacji termicznej rozpoczyna się w znacznie wyższej temperaturze (289,7- 291,1°C), temperatura, w której obserwowany jest największy ubytek masy mieści się w granicach 314-322,6°C, a maksymalna temperatura 340-351,4°C kończy etap degradacji. Ubytek masy w trakcie tego etapu jest znaczący i waha się w granicach 81,1-83,8%, co oznacza intensywną degradację materiału, jest to proces charakterystyczny dla termicznej degradacji polimeru.

Tabela 12 Temperatuty utraty masy dla badanych próbek

Nazwa próbki	Temperatura utraty masy				Główna degradacja termiczna			
	T ₁ [°C]	T ₂ [°C]	T ₃ [°C]	Ubytek masy [%]	T ₁ [°C]	T ₂ [°C]	T ₃ [°C]	Ubytek masy [%]
BSC 90/10	54,5	81,1	103,1	-3,5	300,5	320,7	340,3	-82,6
BSC 80/20	50,3	80,0	96,7	-3,1	291,1	322,6	351,4	-83,8
BSC 70/30	53,5	79,7	101,4	-3,2	290,6	319,4	347,4	-81,1
BSC 60/40	51,5	83,5	99,4	-3,3	289,7	314,1	346,1	-81,6

Gdzie: T_n- temperatura utraty masy

Stawski i inni [178] wykazali, że podstawowy zakres degradacji termicznej chityny wynosi 300-460°C, w zależności od źródła jej pochodzenia [179]. Temperatura degradacji wytworzonych kopoliestrów mieści się w zakresie temperatur degradacji chityny.

Podsumowanie

Analiza właściwości termicznych wytworzonych polimerów wykazała, że w trakcie procesu ogrzewania występują dwa etapy utraty masy. Pierwszy z nich związany jest z odparowywaniem wody oraz lotnych rozpuszczalników. Proces ten kończy się niewielkim ubytkiem masy i nie powoduje degradacji polimerów. Drugi, a tym samym główny etap rozkładu termicznego powoduje znaczący ubytek masy i zachodzi w temperaturze 314°C a 322,6°C. Zakres temperatury degradacji

termicznej wytworzonych kopoliestrów jest zatem zbliżony do temperatury degradacji chityny.

4.4. Ocena właściwości folii

- **Wyznaczanie kąta zwilżania**

Wartość kąta zwilżania określa hydrofobowość lub hydrofilowość materiału. Przyjmuje się, że kąt zwilżania niższy niż 90° oznacza, że materiał jest bardziej hydrofilowy, natomiast wyższy niż 90° świadczy o większej hydrofobowości. W przypadku wszystkich badanych próbek kąt zwilżania wyniósł mniej niż 90° co oznacza, że charakteryzują się one większą hydrofilowością (Tabela 13).

Najwyższy kąt zwilżania odnotowano dla folii otrzymanej z BSC 90/10 co wskazuje na jej najsilniejsze właściwości hydrofobowe w porównaniu do pozostałych próbek. Jest to związane z najwyższą zawartością grup butyrylowych, które zbudowane są z krótkich, alifatycznych łańcuchów posiadających hydrofobowy charakter. Próbka wytworzona z produktu syntezy 2b ma nieco niższy kąt zwilżania niż pierwsza próbka, wynika to najprawdopodobniej z wyższego udziału grup bursztynowych w wytworzonym polimerze. Grupy pochodzące od bezwodnika kwasu bursztynowego zawierają grupy karbonylowe oraz hydroksylowe, które nadają mu nieco hydrofilowy charakter. Natomiast próbka uzyskana z BSC 70/30 ma jeszcze bardziej hydrofilowy charakter niż próbki otrzymane z BSC 90/10 i BSC 80/20. Jest to związane z jeszcze wyższą zawartością grup bursztynowych w polimerze. Najniższy kąt zwilżania odnotowano dla próbki wytworzonej z produktu BSC 60/40, można zatem stwierdzić, że ma ona najbardziej hydrofilowy charakter.

Tabela 13 Średnia wartość kąta zwilżania

		Średnia wartość kąta zwilżania
BSC 90/10		$75,62 \pm 4,56$
BSC 80/20		$72,46 \pm 2,83$
BSC 70/30		$68,45 \pm 0,82$
BSC 60/40		$65,45 \pm 1,44$

W kontekście potencjalnego zastosowania wytworzonych polimerów w medycynie wartość kąta zwilżania odgrywa jedną z istotniejszych ról w określeniu ich przyszłego zastosowania. Materiały o większej hydrofilowości- próbki 3 i 4 sprzyjają lepszej interakcji materiału polimerowego z tkankami (materiały opatrunkowe, rusztowania tkankowe czy implanty), zmniejsza ryzyko wystąpienia reakcji zapalnych oraz ułatwiają tworzenie się warstwy hydratacyjnej, która powoduje słabszą adhezję białek i komórek. Ze względu na swoje właściwości materiały wytworzone z produktów syntezy 3b i 4b mogłyby znaleźć zastosowanie w inżynierii tkankowej do wytwarzania scaffoldów wspierających regenerację tkanek oraz jako nośnik leków. Większa zawartość grup pochodzących od bezwodnika bursztynowego, a tym samym większa hydrofilowość może wpływać na przyspieszenie procesu biodegradacji materiału polimerowego w wilgotnym środowisku.

Z kolei materiały charakteryzujące się nieco wyższą hydrofobowością- próbki 1 oraz 2 będą ograniczać interakcję materiału polimerowego z wodą oraz komórkami, co będzie miało pozytywny wpływ w przypadku zastosowań takich jak powłoki ochronne np. do stentów. Materiały z wyższą zawartością grup pochodzących od bezwodnika kwasu masłowego będą one charakteryzowały się wolniejszym przebiegiem procesu biodegradacji.

- **Badania antybakteryjności**

Badanie aktywności antybakteryjnej materiałów pozwala ocenić, czy dany materiał może skutecznie ograniczać rozwój bakterii. W celu oceny kopolimerów pod kątem ich możliwych właściwości antybakteryjnych przeprowadzono badanie z użyciem *Staphylococcus aureus*, czyli Gram-dodatniej bakterii występującej na skórze, oraz *Escherichia coli*, Gram-ujemnej bakterii wchodzącej w skład mikrobioty jelitowej.

W tabeli 14 przedstawiono wyniki aktywności antybakteryjnych folii. Testowane folie nie spełniają wymagań dotyczących aktywności antybakteryjnej wg normy ISO 22196:2011. Materiał ten wymaga więc modyfikacji lub dodatku składników antybakteryjnych.

Tabela 14 Aktywność antybakteryjna próbek

Symbol próbki	Czas	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739			<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 P		
	[h]	Liczba bakterii, [jtk/cm ²]	log N _{sr}	Aktywność antybakteryjna R	Liczba bakterii, [jtk/cm ²]	log N _{sr}	Aktywność antybakteryjna R
kontrola	0	1,8 x 10 ⁴	U ₀ = 4,26	-	1,4 x 10 ⁴	U ₀ = 4,14	-
kontrola	24	9,5 x 10 ⁵	U _t = 5,98	-	1,7 x 10 ⁴	U _t = 4,22	-
BSC 90/10	24	1,7 x 10 ⁶	A _t = 6,22	<0	4,1 x 10 ⁴	A _t = 4,61	<0
BSC 80/20	24	1,4 x 10 ⁶	A _t = 6,14	<0	3,1 x 10 ⁴	A _t = 4,49	<0
BSC 70/30	24	1,3 x 10 ⁶	A _t = 6,12	<0	3,4 x 10 ⁴	A _t = 4,53	<0
BSC 60/40	24	1,6 x 10 ⁶	A _t = 6,21	<0	3,9 x 10 ⁴	A _t = 4,59	<0

Podsumowanie

W oparciu o otrzymane wyniki można stwierdzić, że hydrofilowość próbek rośnie wraz ze wzrostem zawartości grup bezwodnika bursztynowego w badanych kopoliestrach. Jest to związane z wyższą zawartością grup polarnych-karboksyłowych i hydroksyłowych. Dzięki możliwości sterowania składem kopolimeru materiały wytworzone z produktów syntez mogłyby znaleźć szerokie zastosowanie w sektorze medycznym. Niestety nie wykazują one właściwości antybakteryjnych, co w przypadku niektórych zastosowań można zapewnić z poprzez wprowadzenie dodatków aktywnych, np. srebra .

4.5. Analiza właściwości reologicznych roztworów kopolimerów butyrylo-bursztyno chityny

- **Ocena wpływu rodzaju rozpuszczalnika na właściwości reologiczne roztworów**

W celu doboru najodpowiedniejszego rozpuszczalnika do celów przetwórczych dla otrzymanych kopolimerów zdecydowano się na przeprowadzenie badań lepkości dynamicznej pozornej w czterech różnych rozpuszczalnikach organicznych: alkohol etylowy, dimetyloformamid, dimetylosulfotlenek oraz dimetyloacetamid. Przygotowano 7% roztwory kopolimeru z syntezy 1b dla każdego rozpuszczalnika i mieszano przez 24 godziny z użyciem mieszadła mechanicznego. Następnie zbadano je za pomocą reometru rotacyjnego Rheolab QC firmy Anton Paar (Graz, Austria). Pomiary przeprowadzono przy szybkościach ścinania od 0 do 160 s⁻¹ w temperaturze 25°C, przy użyciu cylindra CC17. Pomiary powtórzono po 7 dniach w celu oceny stabilności roztworów w czasie. Parametry n i k zostały określone zgodnie z modelem Ostwalda-de Waele:

$$\tau = k \dot{\gamma}^n \quad (8)$$

Gdzie:

n - charakterystyczny wskaźnik przepływu (-)

k - współczynnik spójności (Pa·sⁿ).

Proces oceny poszczególnych rozpuszczalników, prowadzono analizując lepkość dynamiczną pozorną 7% roztworów po jednym dniu od ich sporządzeniu oraz siedmiu dniach przechowywania w temperaturze pokojowej (Tabela 15). Wyboru rozpuszczalników dokonano na podstawie analizy literatury [121] oraz powszechności stosowania ich w przemyśle.

Tabela 15 Wartości parametrów k i n dla różnych rozpuszczalników butyrylo-bursztyno chityny dla BSC 90/10

Rozpuszczalnik	Czas od przygotowania roztworu (dni)	k	n
DMF	1	6,30	0,765
	7	3,47	0,780
DMAC	1	7,20	0,750
	7	8,85	0,755
DMSO	1	10,11	0,403
	7	22,09	0,642
EtOH	1	5,62	0,750
	7	2,42	0,783

Widoczne jest, że po upływie jednego dnia parametr n dla wszystkich roztworów jest mniejszy niż 1, potwierdza to, że wszystkie roztwory są płynami rozrzedzonymi ścinaniem, co jest charakterystyczne dla roztworów polimerowych [180].

W przypadku zastosowania dimetyloformamidu (DMF) wartość parametru k po 1 dniu wynosi 6,30 co pozwoliłoby na wytworzenie roztworów zawierających wyższe stężenie polimeru. Po 7 dniach przechowywania roztwory te mają znacząco niższą wartość parametru k, co świadczy o braku stabilności roztworu w czasie. Sugeruje to brak możliwości dłuższego przechowywania roztworu. Mimo że, DMF jest popularnym rozpuszczalnikiem stosowanym w przetwórstwie polimerów w tym otrzymywania włókien, udowodniono, że DMF ma negatywny wpływ na organizm ludzki [181,182]. Biorąc pod uwagę potencjalne zastosowanie wytworzonych polimerów w sektorze medycznym rozpuszczalnik ten został odrzucony.

Roztwór polimeru w dimetyloacetamidzie (DMAC) charakteryzuje się wyższą wartością parametru k w porównaniu do roztworu sporządzonego w DMF co również ogranicza możliwość przygotowania roztworów o wyższych stężeniach. Ponadto zauważyć można wzrost wartości parametru k po okresie przechowywania przez 7 dni, co sugeruje powstawanie żeli w roztworze. DMAC podobnie jak DMF jest wykorzystywany w przetwórstwie polimerów. Używany jest między innymi przy formowaniu włókien z poliakrylonitrylu, jak i w przemyśle

farmaceutycznym. Ze względu na możliwy negatywny wpływ tego rozpuszczalnika na organizmy żywe został on również odrzucony [183].

Roztwory przygotowane w dimetylosulfotlenku (DMSO) charakteryzują się najwyższą wartością parametru k , wśród wszystkich przygotowanych roztworów. Wysoka wartość tego parametru w sposób znaczący ograniczy wytworzenia roztworów o wyższych stężeniach, co jest niekorzystne z punktu widzenia przetwórstwa. Wzrost wielkości parametru k po upływie 7 dni świadczy o powstawaniu żeli w roztworze. DMSO jest uznawany za stosunkowo bezpieczny rozpuszczalnik [184] i od lat jest on stosowany w medycynie jak i farmakologii. Natomiast w wyższym stężeniu może powodować różne działania niepożądane, które w większości jednak są przejściowe i łagodne. Jednak wysoka lepkość uzyskanych roztworów sprawia, że użycie tego rozpuszczalnika miałyby negatywny wpływ na możliwości przetwórstwa polimeru.

W przypadku roztworu, w którym jako rozpuszczalnik został użyty alkohol etylowy (EtOH) wykazano, iż ma on najniższą lepkość dynamiczną pozorną w porównaniu do roztworów otrzymanych z wykorzystaniem innych badanych rozpuszczalników. W porównaniu do roztworu sporządzonego w DMSO lepkość dynamiczna pozorna tego roztworu jest prawie dwukrotnie niższa. Odnotowano jednak jej spadek po upływie siedmiu dni, co może być spowodowane brakiem stabilności roztworów w czasie.

W związku z odrzuceniem zarówno DMF jak i DMAC jako rozpuszczalników ze względu na ich potencjalny negatywny wpływ na organizmy żywe, produkty pozostałych syntez badano jedynie w DMSO i EtOH (Tabela 16).

Tabela 16 Parametry reologiczne 7% roztworów BSC w DMSO i EtOH

		BSC 90/10	BSC 80/20	BSC 70/30	BSC 60/40
DMSO	k	10,116	13,336	33,650	22,106
	n	0,402	0,496	0,382	0,402
EtOH	k	5,620	6,134	13,020	10,776
	n	0,750	0,753	0,702	0,704

Wszystkie 7% roztwory w DMSO charakteryzują się niższą wartością współczynnika n w porównaniu do roztworów wykonanych z wykorzystaniem EtOH, co oznacza, że wykazują one bardziej nienewtonowski charakter. Ponadto charakteryzują się wyższymi wartościami współczynnika k , co może uniemożliwić

zwiększenie stężenia roztworu poprzez trudności z uzyskaniem homogenicznych układów oraz problemy z ich odpowietrzaniem. Roztwory butyrylo-bursztynowej pochodnej chityny w alkoholu etylowym wykazują natomiast bardziej newtonowski charakter, są więc bardziej stabilne. Relatywnie niskie wartości parametru k mogą świadczyć o możliwości zwiększenia stężenia roztworu, co byłoby pożądane z punktu widzenia przetwórstwa.

Najniższa lepkość roztworu kopolimeru butyrylo-bursztyno chityny w alkoholu etylowym w porównaniu do innych rozpuszczalników wynika z jego ograniczonej zdolności do solwatowania cząsteczek polimeru w porównaniu do aprotycznych rozpuszczalników takich jak DMF, DMSO i DMAC. Niska lepkość roztworów w alkoholu etylowym będzie miała pozytywny wpływ na wytwarzanie cienkich warstw polimeru (filmy, powłoki). Ponadto etanol jest nietoksyczny, biodegradowalny oraz ma stosunkowo niską cenę. Alkohol etylowy ma również długą i dobrze udokumentowaną historię zastosowań w medycynie [185]. Wszystkie te cechy sprawiły, że to alkohol etylowy został wybrany jako rozpuszczalnik kopolimeru butyrylo-bursztyno chityny do dalszych badań.

Podsumowanie

Analiza parametrów reologicznych roztworów kopoliestrów butyrylo-bursztyno chityny wykazała, że wszystkie z nich były płynami nienewtonowskimi rozrzedzonymi ścinaniem, co jest cechą charakterystyczną roztworów polimerowych. Najwyższą lepkość miał roztwór sporządzony w DMSO, a najniższą ten w alkoholu etylowym. Mimo nieco wyższych lepkości od roztworu w EtOH roztwory w DMF i DMAC, rozpuszczalniki te zostały odrzucone z powodu toksycznego wpływu na organizmy żywe.

Badania przeprowadzone dla wszystkich wariantów syntez kopoliestrów w alkoholu etylowym i dimetylosulfotlenku wykazały, że roztwory w DMSO charakteryzują się bardziej nienewtonowskim charakterem w porównaniu do roztworów sporządzonych w EtOH. Niestety wyższa wartość współczynnika k może spowodować trudności w otrzymaniu homogenicznych roztworów. Z kolei wartości parametru k dla roztworów sporządzonych w etanolu dają większe możliwości zwiększenia stężenia. Z tego powodu oraz dobrze udokumentowanemu zastosowaniu w medycynie, został on wybrany jako

rozpuszczalnik wykorzystany do prowadzenia dalszych badań na butyrylo-bursztyno chitynie.

- **Badanie właściwości reologicznych wysokostężonych roztworów polimerowych**

Lepkość dynamiczna pozorna 10 % roztworów butyrylo-bursztyno chityny (Tabela 17) została zbadana w celu sprawdzenia, czy możliwe będzie formowanie z nich włókien metodą z roztworu na mokro oraz oceny wpływu temperatury na właściwości roztworów.

Tabela 17 Parametry k i n dla roztworów butyrylo-bursztyno chityny w alkoholu etylowym w zależności od temperatury

	Temperatura	15°C	25°C
BSC 90/10	k	204,94	26,79
	n	0,573	0,823
BSC 80/20	k	179,77	29,34
	n	0,539	0,765
BSC 70/30	k	460,38	67,16
	n	0,313	0,675
BSC 60/40	k	290,53	106,65
	n	0,453	0,486

W przypadku wszystkich badanych roztworów odnotowano wyraźny spadek parametru k wraz ze wzrostem temperatury. Świadczy to o obniżeniu lepkości roztworów pod wpływem zwiększającej się temperatury. Energia kinetyczna cząsteczek zwiększa się wraz ze wzrostem temperatury, a tym samym osłabia oddziaływania międzycząsteczkowe. Skutkuje to łatwiejszym przemieszczaniem się cząsteczek względem siebie, a tym samym spadkiem wartości lepkości dynamicznej pozornej.

Wzrastająca wraz ze wzrostem temperatury wartość parametru n wskazuje na zmniejszenie się zależności od szybkości ścinania, a tym samym osłabienie nienewtonowskiego charakteru badanych cieczy. Struktura molekularna roztworu staje się mniej uporządkowana pod wpływem wzrostu temperatury, co skutkuje spadkiem oddziaływań strukturalnych. Cechą charakterystyczną cieczy nienewtonowskich jest osłabienie ich właściwości pseudoplastycznych pod wpływem wzrastającej temperatury, a tym samym wzrostu wartości parametru n.

Zmiany parametrów k i n badanych roztworów pod wpływem temperatury mają istotny wpływ na przetwórstwo polimerów, gdzie kontrolowanie parametrów reologicznych roztworów jest kluczowe.

Podsumowanie

W przypadku wszystkich badanych roztworów stwierdzono spadek wysokości parametru k wraz ze wzrostem temperatury, co jest jednoznaczne z mniejszą lepkością dynamiczną pozorną. Jednocześnie odnotowano wzrost wartości parametru n , co świadczy o osłabieniu nienewtonowskiego charakteru cieczy. Są to zmiany charakterystyczne dla cieczy nienewtonowskich i mają kluczowe znaczenie dla procesów technologicznych w przetwórstwie polimerów.

4.6. Ocena właściwości włókien formowanych z roztworu na mokro

- **Analiza właściwości mechanicznych wytworzonych włókien**

W celu oceny możliwości wykorzystania nowosyntezowanej pochodnej chityny jako surowca włókienniczego przeprowadzono próby formowania włókien. Ze względu na fakt, iż polimer ten jest polimerem termoreaktywnym proces formowania włókien realizowano z wykorzystaniem metody z roztworu na mokro. Jako rozpuszczalnik wykorzystano alkohol etylowy, ze względu na możliwość uzyskania z niego roztworów o najwyższym stężeniu. Warunki procesu formowania włókien wytypowano w oparciu o wyniki badań nad otrzymywaniem włókien z BAC [122]. Zdecydowano się na formowanie włókien przy zastosowaniu ujemnych wartości wyciągu filierowego oraz jednoetapowego procesu rozciągania, z zastosowaniem wartości deformacji maksymalnej możliwej do uzyskania. Szczegółowe warunki procesu formowania oraz wyniki badań właściwości mechanicznych wytworzonych włókien przedstawiono w Tabeli 18.

Tabela 18 Zestawienie właściwości mechanicznych wytworzonych włókien

Nazwa próbki	Wyciąg (%)	Rozciąg (%)	Masa liniowa wiązki włókien (tex)	Wytrzymałość właściwa (cN/tex)		Wydłużenie (%)	
BSC 90/10	0	84,31	2,1	4,44	0,97	2,13	0,25
	-20	87,50	2,4	4,58	0,65	1,98	0,19
	-40	83,33	2,2	4,62	0,78	1,85	0,17
BSC 80/20	0	84,31	2,3	3,87	0,54	1,74	0,18
	-20	87,50	2,1	2,77	0,52	1,30	0,30
	-40	83,33	2,2	4,56	1,48	1,96	0,28
BSC 70/30	0	84,31	2,7	2,15	0,44	1,11	0,24
	-20	87,50	2,3	3,80	0,69	1,28	0,12
	-40	83,33	3,9	2,96	0,11	1,25	0,19
BSC 60/40	0	84,31	2,1	3,63	0,71	1,92	0,22
	-20	87,50	2,2	2,05	0,29	1,88	0,74
	-40	83,33	2,5	3,64	0,39	1,58	0,17

Analiza uzyskanych wyników badań dotyczących formowania włókien z kopolimeru butyrylo-bursztyno chityny wykazała, iż włókna te charakteryzują się miernymi właściwościami mechanicznymi. Wartość wytrzymałości właściwej tych włókien nie przekracza 5 cN/tex, przy wartości wydłużenia przy zerwaniu na poziomie około 2%. Poza właściwościami polimeru wpływ na to mogła też mieć niestabilność procesu formowania. Analizując uzyskane wyniki badań można zaobserwować, iż najwyższe wartości wytrzymałości wykazują włókna otrzymane z kopolimeru z syntezy, w której stosunek grup butyrylowych do bursztynowych wynosił 90:10. Analizując wpływ warunków procesu formowania na właściwości włókien zaobserwować można jedynie niewielką tendencję wzrostu wytrzymałości właściwej przy stosowaniu bardziej ujemnych wartości wyciągu filierowego. Jest to

zgodne z danymi literaturowymi dotyczącymi formowania włókien z roztworu na mokro. Dodatkowo wartości wyciągu nie stwarzają korzystnych warunków dla uzyskania zwiększonych właściwości mechanicznych włókien [186].

Uzyskany poziom właściwości mechanicznych włókien z kopolimeru butyrylo-bursztyno chityny nie daje możliwości przerobu tego typu włókien klasycznymi metodami włókienniczymi. Możliwe jest natomiast otrzymywanie z wykorzystaniem tego typu włókien płaskich materiałów włókienniczych w postaci włókien formowanych metodą wetlaid, czyli formowania włókniny z zawiesiny włókien w wodzie.

- **Analiza morfologii włókien metodą skaningowej mikroskopii elektronowej**

W celu analizy morfologii wytworzonych włókien dla każdej próbki zostały wykonane zdjęcia SEM. Zdjęcia wykonano przy powiększeniach 1000 i 10000 w celu zobrazowania całej wiązki włókien jak i włókna elementarnego.

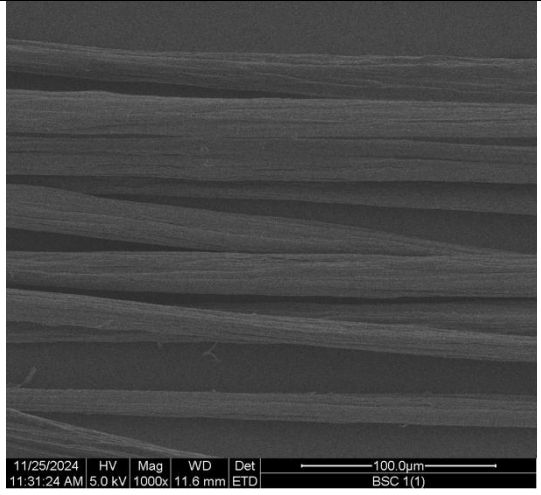
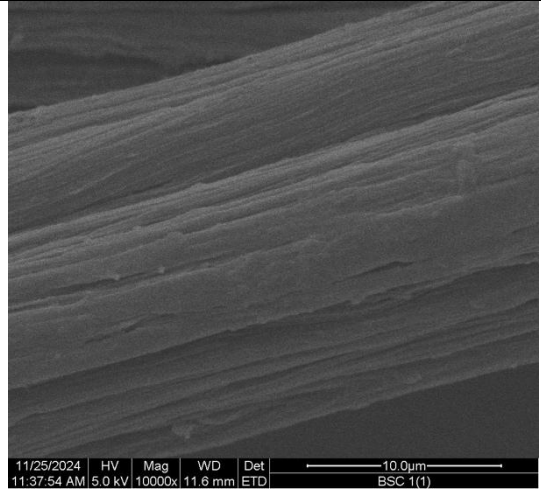
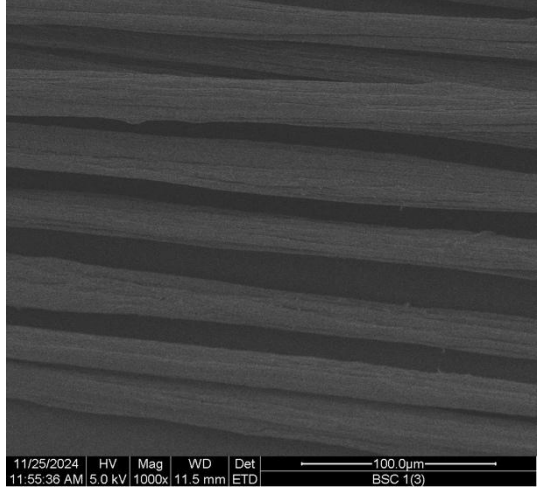
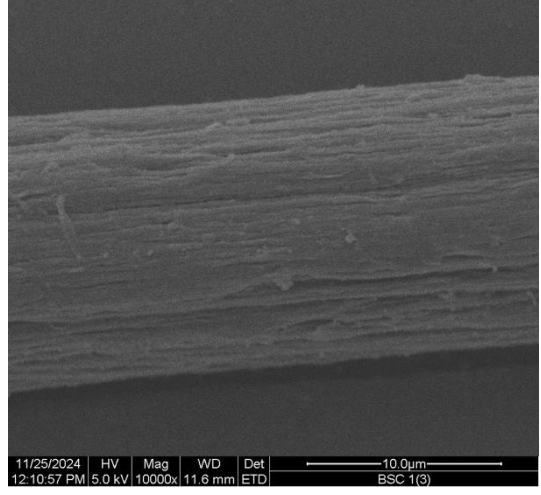
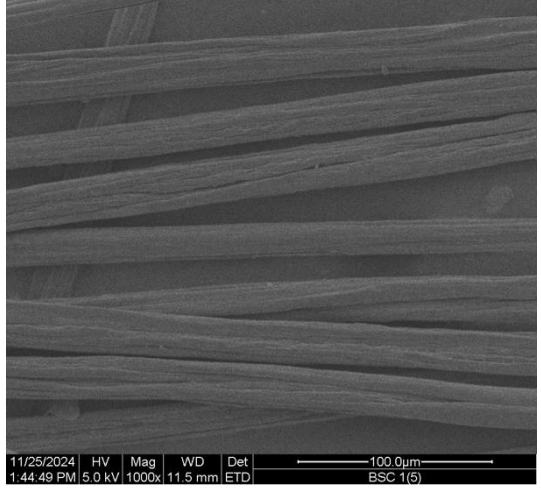
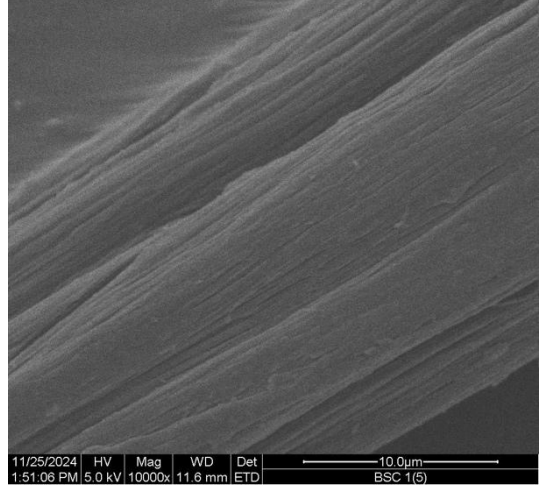
W przypadku włókien z BSC 90/10 już podczas obserwacji całej wiązki włókien niezależnie od zastosowanego wyciągu i rozciągu zauważyć można dużą nieregularność wytworzonych włókien (Rys. 34). Widoczne są zarówno włókna nadmiernie cienkie, jak i nadmiernie grube. Przy powiększeniu 10000 zauważyć można, że włókna elementarne posiadają na swojej powierzchni wiele rys i zagłębień co w pewnym stopniu jest charakterystyczne dla włókien formowanych metodą z roztworu na mokro. Jednak w przypadku otrzymanych włókien na powierzchni widoczne jest zbyt wiele niedoskonałości.

Podobnie jak w przypadku włókien wytworzonych z BSC 90/10, również te wytworzone z kopolimeru BSC 80/20 charakteryzują się dużą nierównomiernością grubości, widoczne są też zgrubienia i pocienienia w pojedynczych włóknach (Rys. 35). Zdjęcia elementarnych włókien przy powiększeniu 10000 ponownie wykazały, że na ich powierzchni widoczne jest wiele niedoskonałości w postaci rys i zagłębień. Jest to szczególnie widoczne dla próbki wytworzonej przy wyciągu 0%.

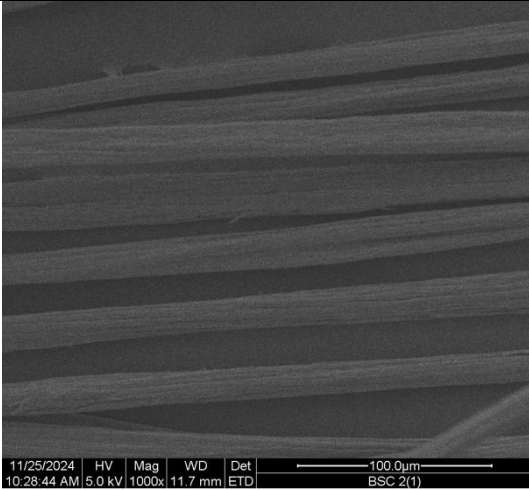
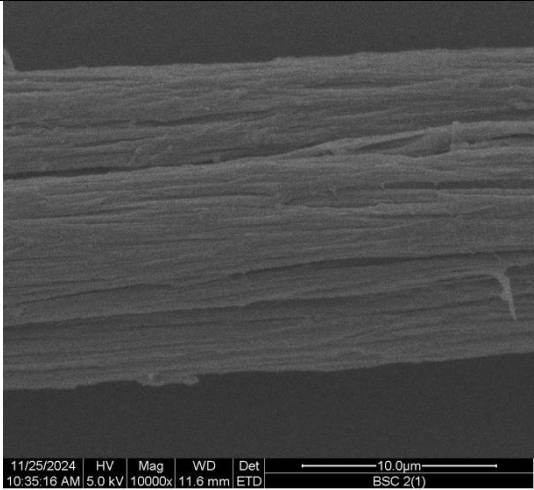
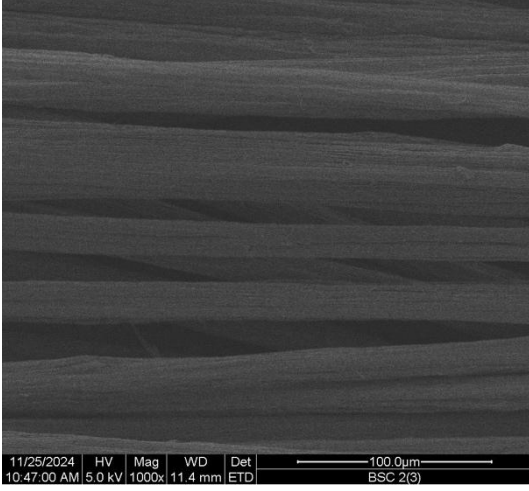
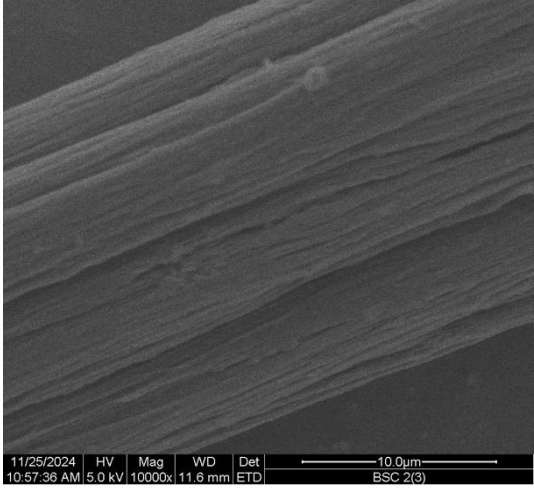
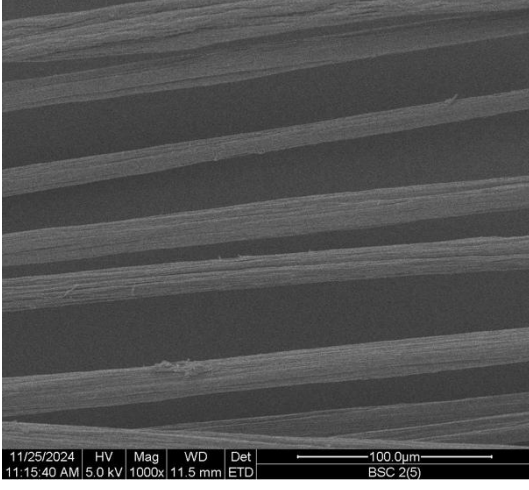
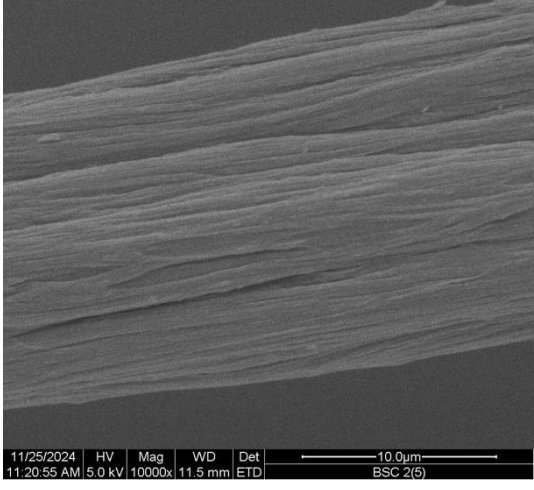
Analogicznie do włókien wytworzonych z kopoliestrów BSC 90/10 i 80/20, włókna wytworzone z BSC 70/30 charakteryzują się występowaniem w jednej wiązce włókien cienkich jak i grubych (Rys. 36). Dodatkowo włókna te również są nierównomierne i posiadają zgrubienia i pocienienia. Ponownie elementarne

włókna charakteryzują się obecnością wielu niedoskonałości na swojej powierzchni.

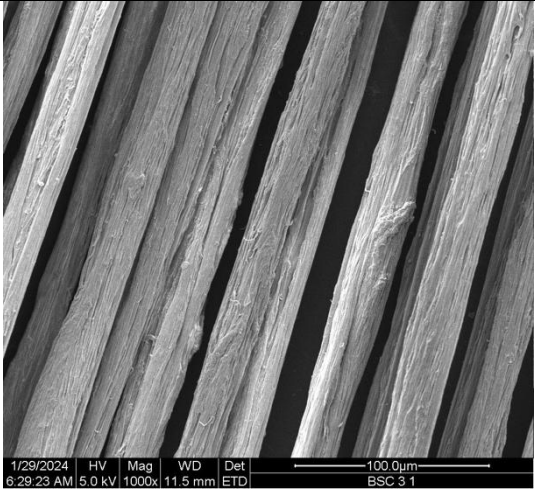
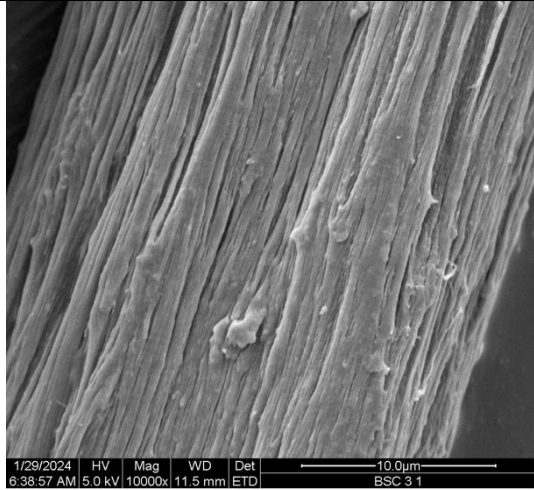
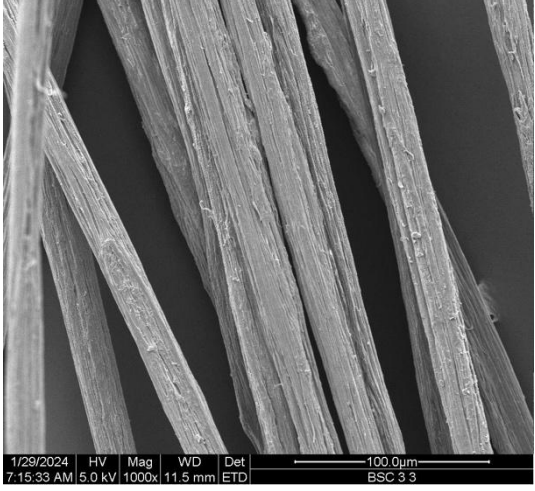
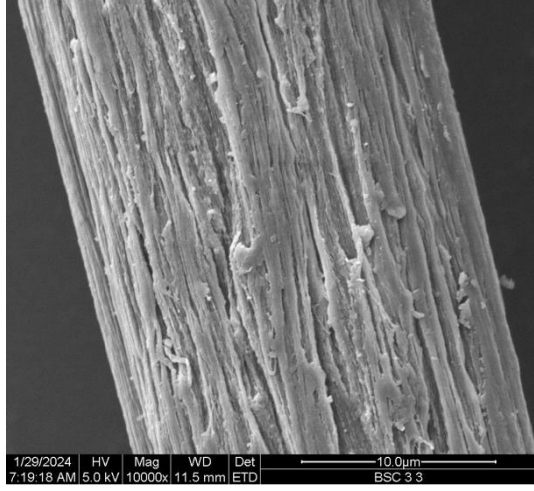
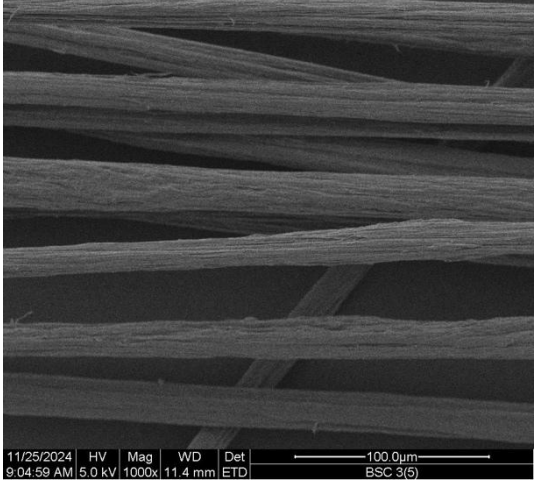
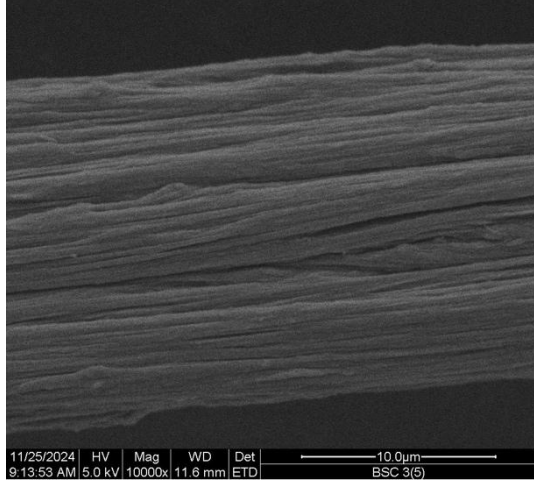
Również w przypadku włókien wytworzonych z kopoliestru BSC 60/40 obserwuje się duże zróżnicowanie grubości w jednej wiązce oraz nieregularnym kształtem na całej długości (Rys. 37). Analogicznie dla włókien z BSC 90/10, 80/20 i 70/30 również te włókna mają nieregularną powierzchnię z dużą ilością rys i zagłębień.

Wyciąg (%)	1000x	10000x
0	 <p>11/25/2024 HV Mag WD Det 11:31:24 AM 5.0 kV 1000x 11.6 mm ETD 100.0µm BSC 1(1)</p>	 <p>11/25/2024 HV Mag WD Det 11:37:54 AM 5.0 kV 10000x 11.6 mm ETD 10.0µm BSC 1(1)</p>
-20	 <p>11/25/2024 HV Mag WD Det 11:55:36 AM 5.0 kV 1000x 11.5 mm ETD 100.0µm BSC 1(3)</p>	 <p>11/25/2024 HV Mag WD Det 12:10:57 PM 5.0 kV 10000x 11.6 mm ETD 10.0µm BSC 1(3)</p>
-40	 <p>11/25/2024 HV Mag WD Det 1:44:49 PM 5.0 kV 1000x 11.5 mm ETD 100.0µm BSC 1(5)</p>	 <p>11/25/2024 HV Mag WD Det 1:51:06 PM 5.0 kV 10000x 11.6 mm ETD 10.0µm BSC 1(5)</p>

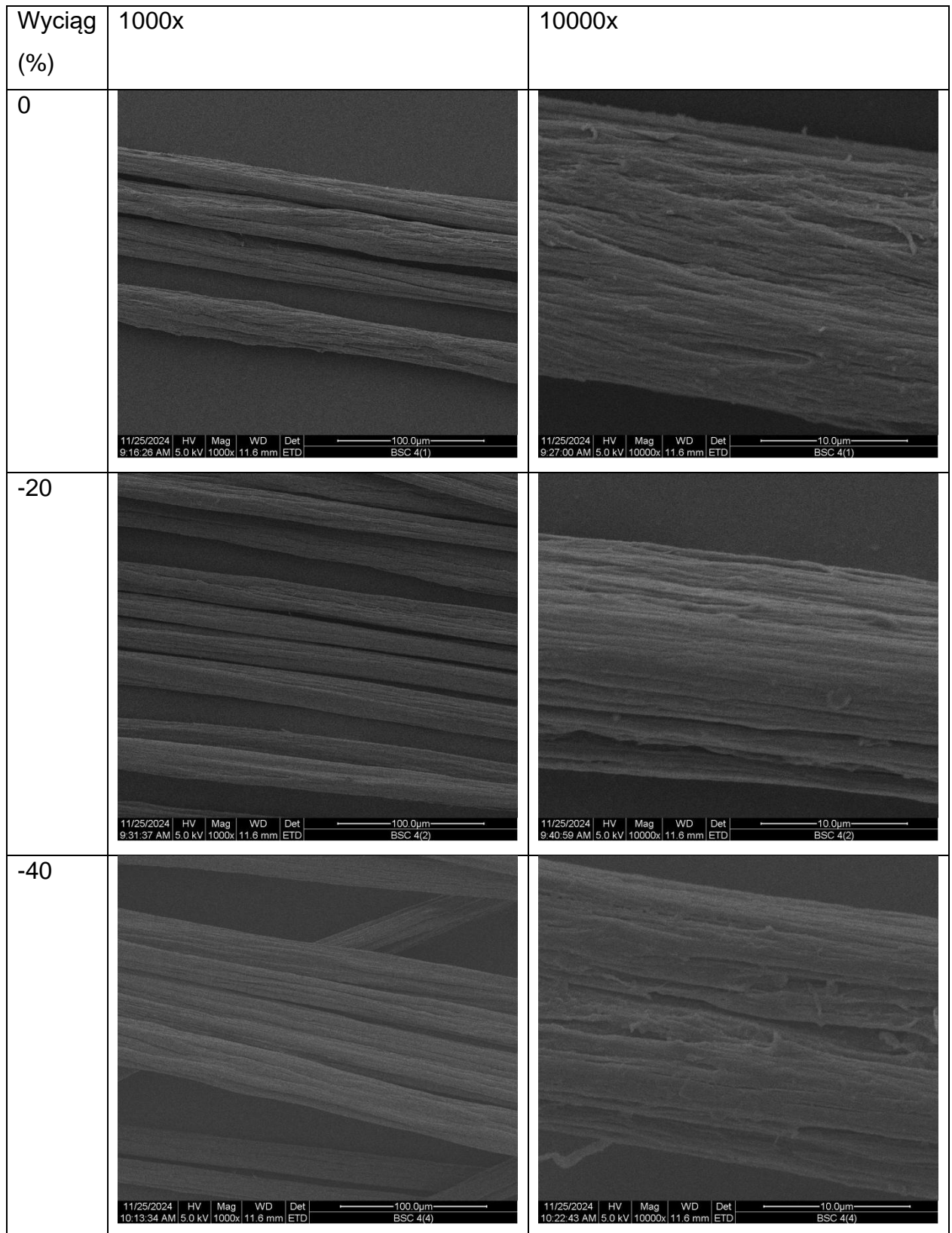
Rys. 34 Obrazy SEM włókien z BSC 90/10

Wyciąg (%)	1000x	10000x
0	 <p>11/25/2024 HV Mag WD Det 10:28:44 AM 5.0 kV 1000x 11.7 mm ETD</p> <p>100.0µm BSC 2(1)</p>	 <p>11/25/2024 HV Mag WD Det 10:35:16 AM 5.0 kV 10000x 11.6 mm ETD</p> <p>10.0µm BSC 2(1)</p>
-20	 <p>11/25/2024 HV Mag WD Det 10:47:00 AM 5.0 kV 1000x 11.4 mm ETD</p> <p>100.0µm BSC 2(3)</p>	 <p>11/25/2024 HV Mag WD Det 10:57:36 AM 5.0 kV 10000x 11.6 mm ETD</p> <p>10.0µm BSC 2(3)</p>
-40	 <p>11/25/2024 HV Mag WD Det 11:15:40 AM 5.0 kV 1000x 11.5 mm ETD</p> <p>100.0µm BSC 2(5)</p>	 <p>11/25/2024 HV Mag WD Det 11:20:56 AM 5.0 kV 10000x 11.5 mm ETD</p> <p>10.0µm BSC 2(5)</p>

Rys. 35 Obrazy SEM włókien z BSC 80/20

Wyciąg (%)	1000x	10000x
0	 <p>1/29/2024 HV Mag WD Det 6:29:23 AM 5.0 kV 1000x 11.5 mm ETD 100.0µm BSC 3 1</p>	 <p>1/29/2024 HV Mag WD Det 6:38:57 AM 5.0 kV 10000x 11.5 mm ETD 10.0µm BSC 3 1</p>
-20	 <p>1/29/2024 HV Mag WD Det 7:15:33 AM 5.0 kV 1000x 11.5 mm ETD 100.0µm BSC 3 3</p>	 <p>1/29/2024 HV Mag WD Det 7:19:18 AM 5.0 kV 10000x 11.5 mm ETD 10.0µm BSC 3 3</p>
-40	 <p>11/25/2024 HV Mag WD Det 9:04:59 AM 5.0 kV 1000x 11.4 mm ETD 100.0µm BSC 3(6)</p>	 <p>11/25/2024 HV Mag WD Det 9:13:53 AM 5.0 kV 10000x 11.6 mm ETD 10.0µm BSC 3(5)</p>

Rys. 36 Obrazy SEM włókien z BSC 70/30



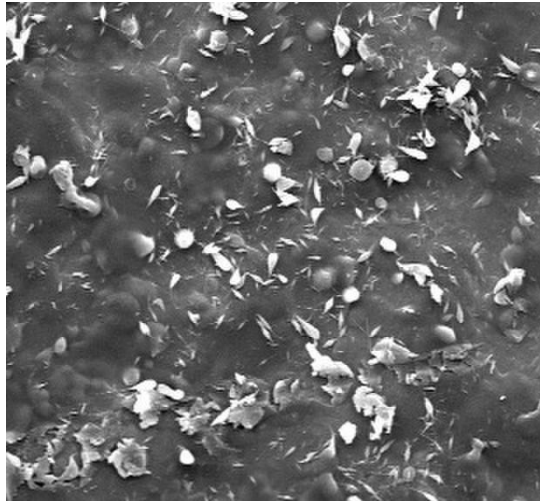
Rys. 37 Obrazy SEM włókien z BSC 60/40

Podsumowanie

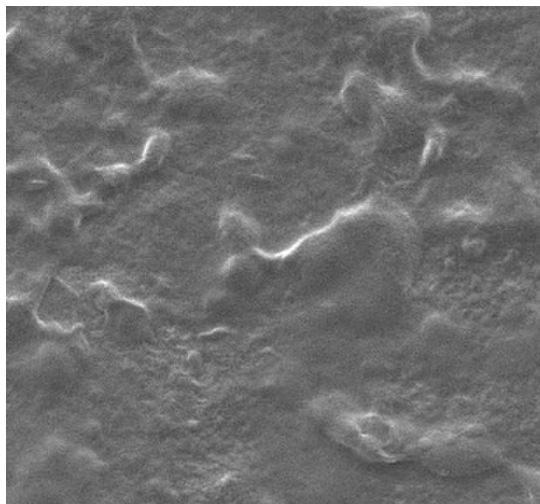
Otrzymane w ramach realizacji pracy włókna z kopolimeru butyrylo-bursztyno chityny charakteryzują się niskimi właściwościami mechanicznymi: wytrzymałość właściwa nie przekracza 5 cN/tex, a wydłużenie przy zerwaniu wynosi około 2%. Najwyższą wytrzymałość osiągnięto dla kopolimeru z syntezy gdzie stosunek grup butyrylowych do bursztynowych wynosi 90:10. Ze względu na niskie właściwości mechaniczne włókna mogą być stosowane do produkcji włóknin metodą wetlaid. Wszystkie otrzymane z kopolimerów butyrylo-bursztyno chityny włókna charakteryzują się wysoką nieregularnością, która jest niezależna od zastosowanych parametrów procesu formowania, jak i składu kopolimeru. Wytworzone włókna posiadają zarówno włókna cienkie jak i grube w jednej wiązce. Obserwacja włókien elementarnych pozwoliła na dokładniejszą analizę powierzchni, która również charakteryzowała się wieloma niedoskonałościami w postaci rys i zagłębień. Niestety nieregularny kształt włókien oraz ich defekty będą osłabiać właściwości mechaniczne, co uniemożliwi ich dalsze przetwórstwo.

4.7. Ocena właściwości mikrowłókien wytworzonych metodą elektroprzędzenia- analiza skaningowym mikroskopem elektronowym

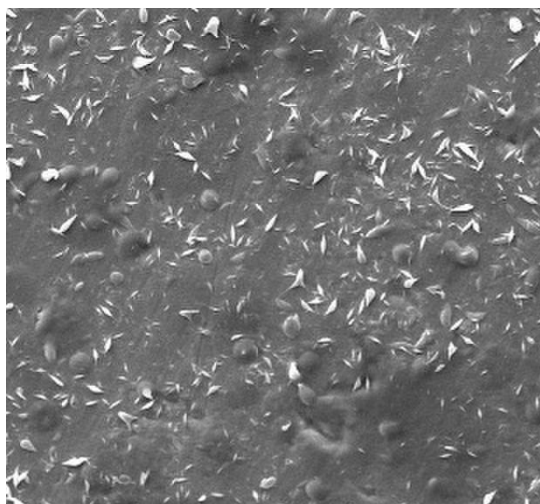
W celu oceny struktur wytworzonych metodą elektroprzędzenia wykonano zdjęcia z użyciem skaningowej mikroskopii elektronowej. W przypadku próbek wytworzonych z BSC 90/10 przy napięciach 25, 35 oraz 45 kV nie udało się uzyskać żadnych struktur włóknistych. W przypadku próbki uzyskanej przy napięciu 25 kV (Rys. 38) na obrazie SEM zauważyć można, że cała powierzchnia jest pokryta nierównomierną warstwą polimeru. Dodatkowo na filmie polimerowym pokrywającym całą próbkę zauważyć można zgrubienia w postaci zdeformowanych kropeł. Próbka wytworzona przy napięciu 35 kV (Rys. 39) również w całości pokryta jest polimerowym filmem o niejednorodnej grubości, na powierzchni widoczne są zacieki i zgrubienia. Materiał wytworzony przy najwyższym napięciu 45 kV (Rys. 40) przypomina opisane powyżej próbki. Jej powierzchnia składa się z niejednorodnego filmu polimerowego wraz ze zgrubieniami w postaci zdeformowanych kropeł.



Rys. 38 Materiał wytworzony z produktu syntezy BSC 90/10 przy napięciu 25 kV



Rys. 39 Materiał wytworzony z produktu syntezy BSC 90/10 przy napięciu 35 kV



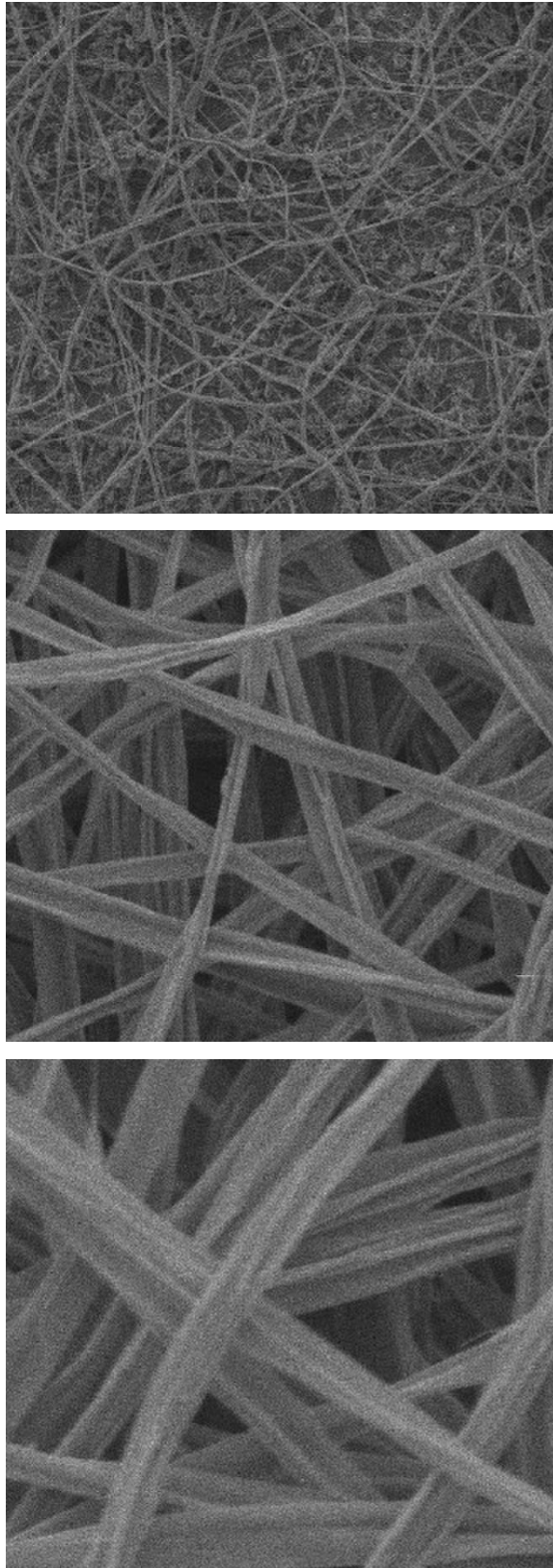
Rys. 40 Materiał wytworzony z produktu syntezy BSC 90/10 przy napięciu 45 kV

Stosując najniższe napięcie- 15 kV uzyskano struktury włókniste (Rys. 41). Przy 1000 krotnym powiększeniu widoczna jest warstwa cienkich włókien. Przy powiększeniu 5000 poza włóknami widoczne są też pojedyncze zanieczyszczenia między nimi. Przy największym powiększeniu zauważyć można, że włókna te charakteryzują się stosunkowo nierównomiernymi średnicami oraz mają delikatnie spłaszczony kształt.

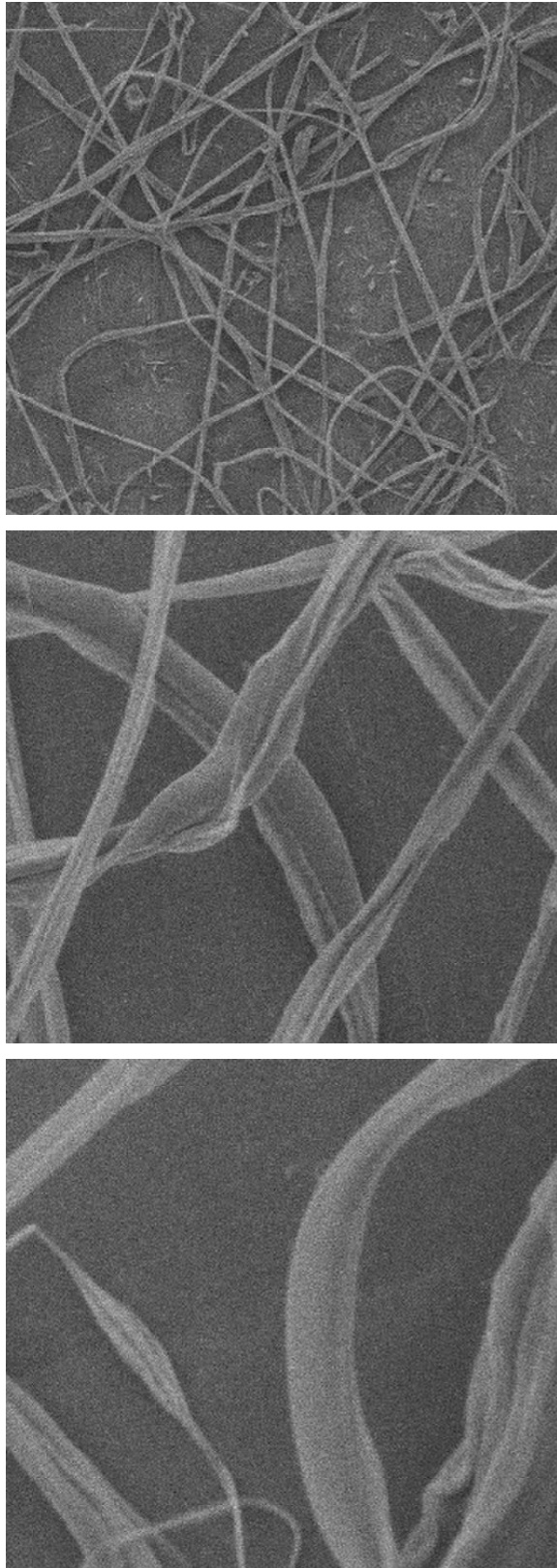
Te same warunki prowadzenia procesu pozwoliły uzyskać struktury włókniste w przypadku kopoliestru BSC 80/20 (Rys. 42). Przy najmniejszym powiększeniu widoczne są struktury włókniste wraz defektami w postaci kropeł polimerów. Obserwując włókna przy wyższych powiększeniach widoczna jest nieregularność kształtu włókien oraz i wstążkowy kształt.

Struktury włókniste zostały także uzyskane dla BSC 70/30 przy napięciu 15 kV (Rys. 43). Przy powiększeniu 1000 widoczne są skupiska włókien wraz z defektami w postaci zgrubień w formie kropeł. Przy pięciokrotnie większym powiększeniu zauważyć można, że otrzymane włókna charakteryzują się niejednorodnymi grubościami oraz obecnością zgrubień o eliptycznym kształcie. Przy 10 000 krotnym powiększeniu zauważyć można, że część włókien jest zdecydowanie cieńsza od pozostałych, a defekty to krople polimeru.

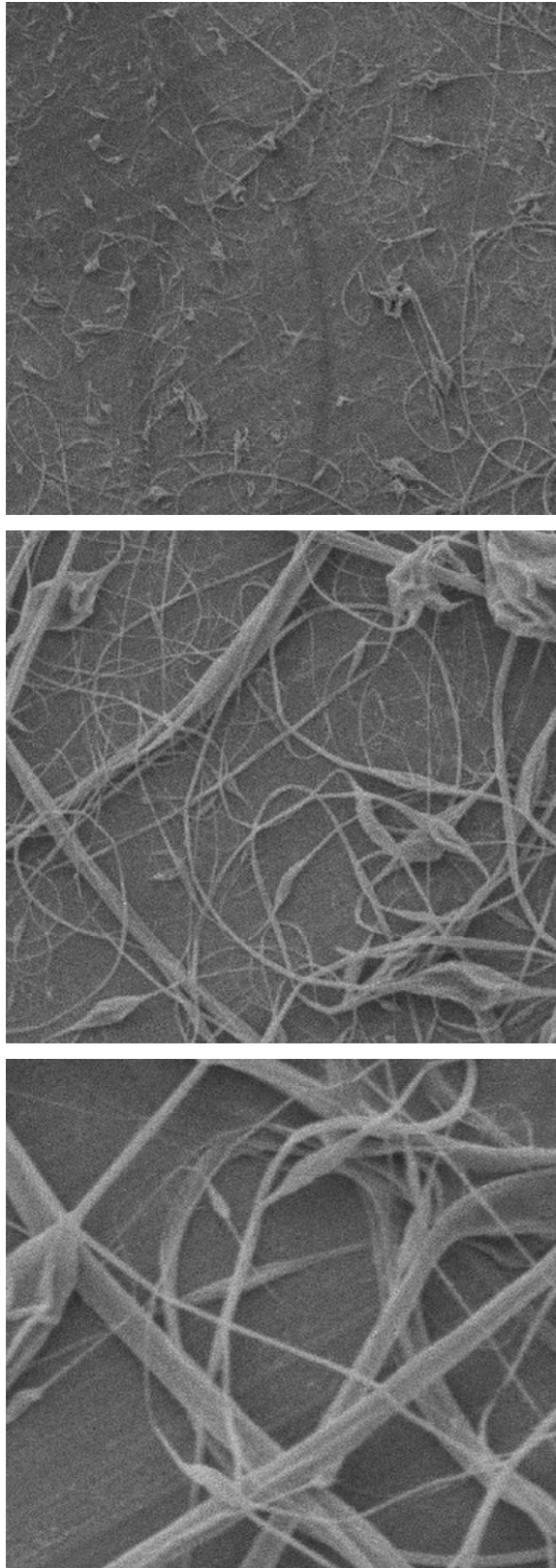
Struktury włókniste uzyskane przy napięciu 15 kV z BSC 60/40 występują miejscowo na powierzchni całej próbki (Rys. 44). Przy 5000 krotnym powiększeniu zauważyć można nieregularność grubości otrzymanych włókien oraz defekty w postaci sklejeń czy kropeł. Dwukrotnie wyższe powiększenie pozwoliło zaobserwować, że włókna są ze sobą połączone i nieregularne, a wśród nich obecne jest wiele defektów w postaci nieregularnych zgrubień.



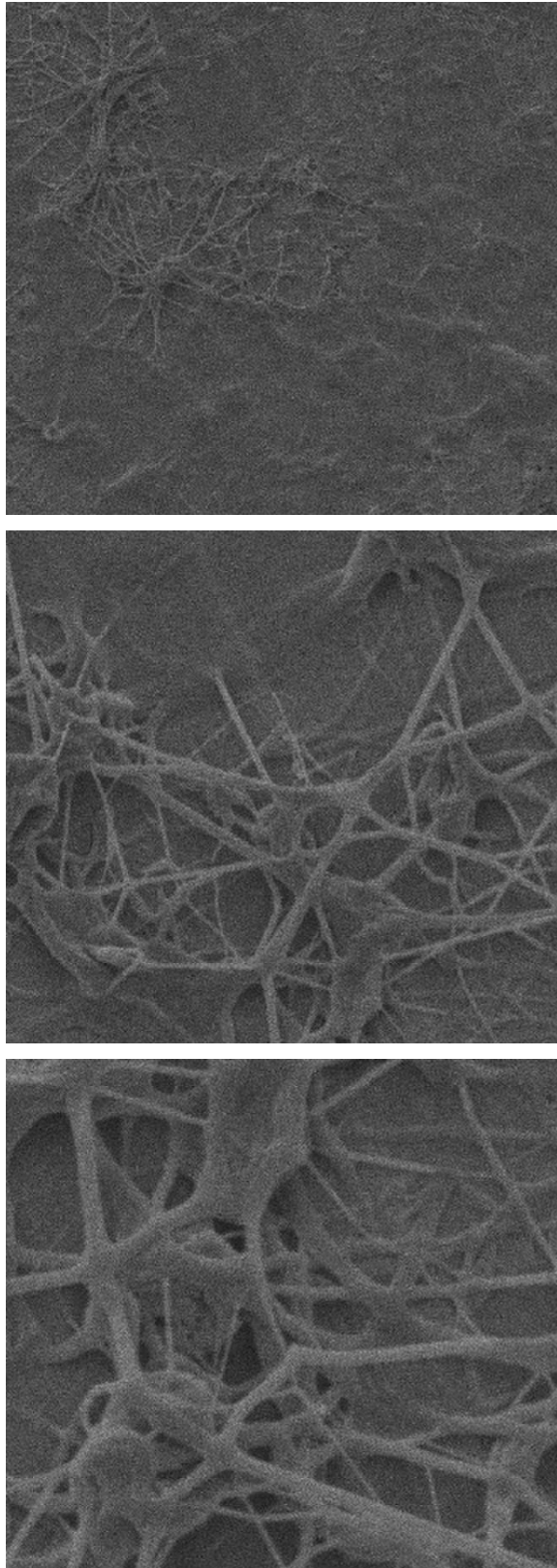
Rys. 41 Obrazy SEM włókien wytworzonych metodą elektroprzędzenia z BSC 90/10



Rys. 42 Obrazy SEM włókien wytworzonych metodą elektroprzędzenia z BSC 80/20



Rys. 43 Obrazy SEM włókien wytworzonych metodą elektroprzędzenia z BSC 70/30



Rys. 44 Obrazy SEM włókien wytworzonych metodą elektroprzędzenia z BSC 60/40

W tabeli poniżej (Tabela 19) przedstawione zostały histogramy i parametry statystyczne dla pomiaru średnic włókien wytworzonych w procesie elektroprzędzenia. Do wyznaczenia ilości przedziałów w histogramach wykorzystano regułę Struges[187], której stosowanie jest powszechne w analizie statystycznej. Jest ona szczególnie zalecana dla maksymalnie kilkuset pomiarów, charakteryzuje się również stosunkową prostotą w analizie i interpretacji wyników. Jest ona oparta na logarytmicznej relacji występującej pomiędzy analizowaną liczbą pomiarów, a liczbą przedziałów histogramu. Dzięki temu zachowana jest równowaga między przedstawieniem danych, a czytelnością histogramu[188]. Liczbę przedziałów dla danych dotyczących średnicy wytworzonych włókien wyznaczono za pomocą wzoru:

$$k = 1 + \log_2(n) \quad (9)$$

Gdzie:

k -liczba przedziałów

n - liczba pomiarów.

Obliczona ilość liczby przedziałów wynosi 6,64, została ona zaokrąglona do najbliższej liczby całkowitej- 7.

Tabela 19 Parametry statystyczne średnicy włókien wytworzonych z produktów syntezy 1b, 2b, 3b oraz 4b

	Histogram	Parametry statystyczne średnic włókien	
BSC 90/10		Średnia	0,904 μm
		Mediana	0,915 μm
		Odchylenie standardowe	0,223
		Skośność	-0,1
		Kurtoza	0,8
BSC 80/20		Średnia	1,025 μm
		Mediana	0,969 μm
		Odchylenie standardowe	0,343
		Skośność	0,9
		Kurtoza	2,0
BSC 70/30		Średnia	0,656 μm
		Mediana	0,650 μm
		Odchylenie standardowe	0,099
		Skośność	-0,7
		Kurtoza	2,3
BSC 60/40		Średnia	0,569 μm
		Mediana	0,547 μm
		Odchylenie standardowe	0,149
		Skośność	0,9
		Kurtoza	2,7

Analizując wyniki pomiarów średnic włókien wytworzonych metodą elektroprzędzenia z produktów syntez możliwa jest dokładniejsza interpretacja różnic między nimi. Próbka wytworzona z kopoliestru BSC 90/10 posiada zbliżone wartości średniej oraz mediany, co świadczy o symetrycznym rozkładzie średnic włókien. Odchylenie standardowe w wysokości 0,223 wskazuje na umiarkowaną zmienność średnic badanych włókien. Wartość skośności bardzo bliska 0 wskazuje na niemal symetryczny rozkład co wynika z równego udziału włókien o większej i mniejszej średnicy w badanej próbce. Natomiast niska wartość kurtozy oznacza, że rozkład jest platykurtyczny i w badanej próbce brak jest znaczącej liczby włókien bardzo cienkich jak i grubych. Dla włókien wytworzonych z BSC 80/20 wartość średniej przewyższa wartość mediany, co sugeruje, że rozkład ma dodatnią skośność. Jej dodatnia wartość wskazuje, że próbka zawiera przewagę włókien o większej średnicy przy nadal dość istotnym udziale włókien cieńszych. Dodatnia i wyższa niż w przypadku pierwszej próbki wartość kurtozy świadczy o obecności skrajnych wartości średnic włókien w badanej próbce. Struktury włókniste otrzymane z kopoliestru BSC 70/30 mają bardzo zbliżone wartości średniej oraz mediany, co wskazuje na symetryczny rozkład danych. Wartość odchylenia standardowego jest niska co sugeruje, że włókna mają dość jednorodną średnicę. Natomiast ujemna wartość skośności świadczy o przewadze cieńszych włókien w badanej próbce. Wartość kurtozy wskazuje na rozproszenie wartości ekstremalnych jednak w mniejszym stopniu niż w przypadku próbki wytworzonej z BSC 80/20. Ostatnia badana próbka wytworzona z BSC 60/40 charakteryzuje się wyraźną różnicą między wartością średnią, a wartością mediany, co skutkować będzie dodatnią skośnością, a tym samym potwierdzać dominację włókien o większej średnicy w badanej próbce. Średnia wartość odchylenia standardowego wskazuje na umiarkowane rozproszenie średnic badanych włókien. Najwyższa wśród wszystkich badanych próbek wartość kurtozy świadczy o największej ilości wartości ekstremalnych, które są znacznie oddalone od średniej grubości badanych włókien.

Podsumowanie

Wytworzenie włókien z kopoliestru chityny (BSC) metodą elektroprzędzenia z wykorzystaniem roztworów o stężeniu 3% możliwe było przy stosowaniu

stosunkowo niskich wartości napięcia wynoszących 15 kV. Stosowanie wyższych wartości napięcia skutkowało zbyt intensywnym procesem wyciągania strugi roztworu co uniemożliwiało formowanie włókien w polu elektrostatycznym, skutkując wytworzeniem nieregularnych struktur i folii.

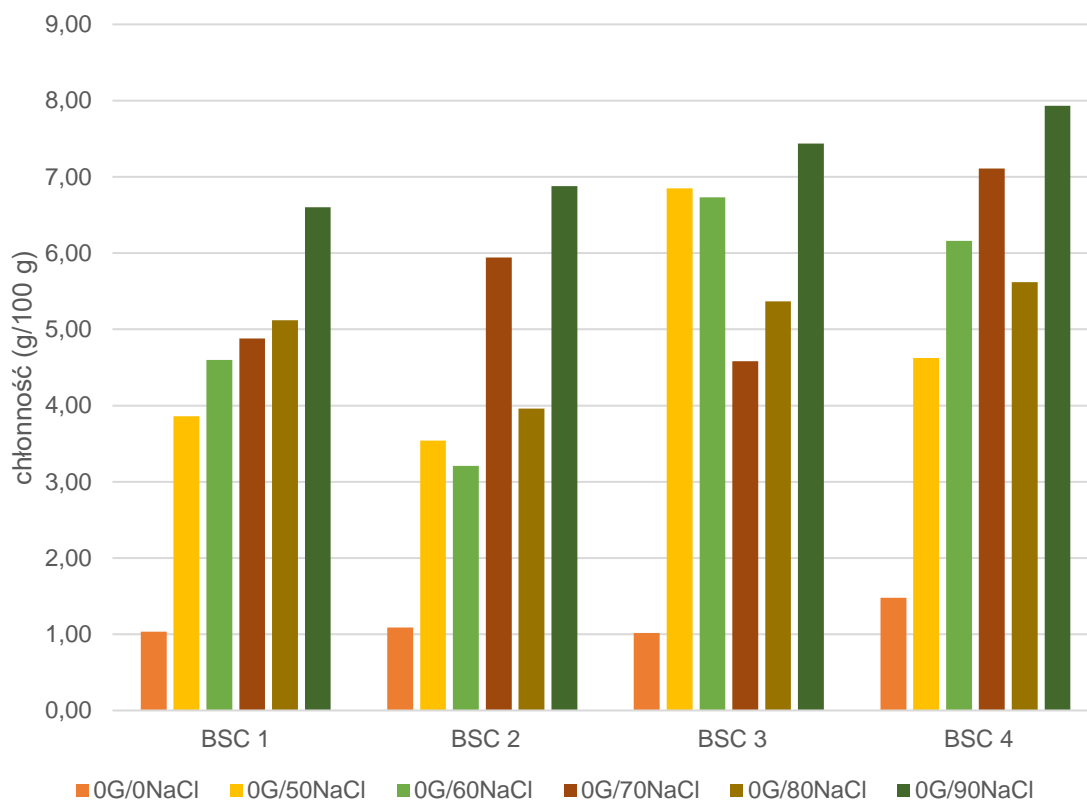
Formowane w optymalnych warunkach procesu elektroprzędzenia włókna, niezależnie od produktu syntezy, z których je wytworzono, charakteryzują się średnicą od 0,5 μm do 1,025 μm , co jest charakterystyczne dla tej metody. Pokłady włókien o tak niewielkiej średnicy charakteryzują się wysoce rozwiniętą powierzchnią właściwą w stosunku do ich objętości. Materiały wytworzone metodą elektroprzędzenia mają również wysoką porowatość, co korzystnie wpływa na ich zdolność do adsorpcji i dyfuzji. Dzięki temu możliwa jest przepuszczalność cieczy oraz gazów. Dzięki takim właściwościom mikrowłókna z butyrylo-bursztyno chityny mogłyby znaleźć zastosowanie w inżynierii tkankowej do wytwarzania rusztowań wspierających wzrost komórek. Taki rozmiar włókien sprawia, że mata z nich wykonana będzie przypominać naturalne struktury tkanek, dzięki czemu pozytywnie wpłynie na procesy regeneracyjne. Dodatkowo pokłady mikrowłókien mogłyby znaleźć zastosowanie jako opatrunki w leczeniu ran przewlekłym dzięki pozytywnemu wpływowi na wzrost tkanek oraz jako systemy transdermalnego dostarczania leków.

4.8. Ocena właściwości wytworzonych materiałów porowatych

- **Analiza zdolności sorpcyjnych**

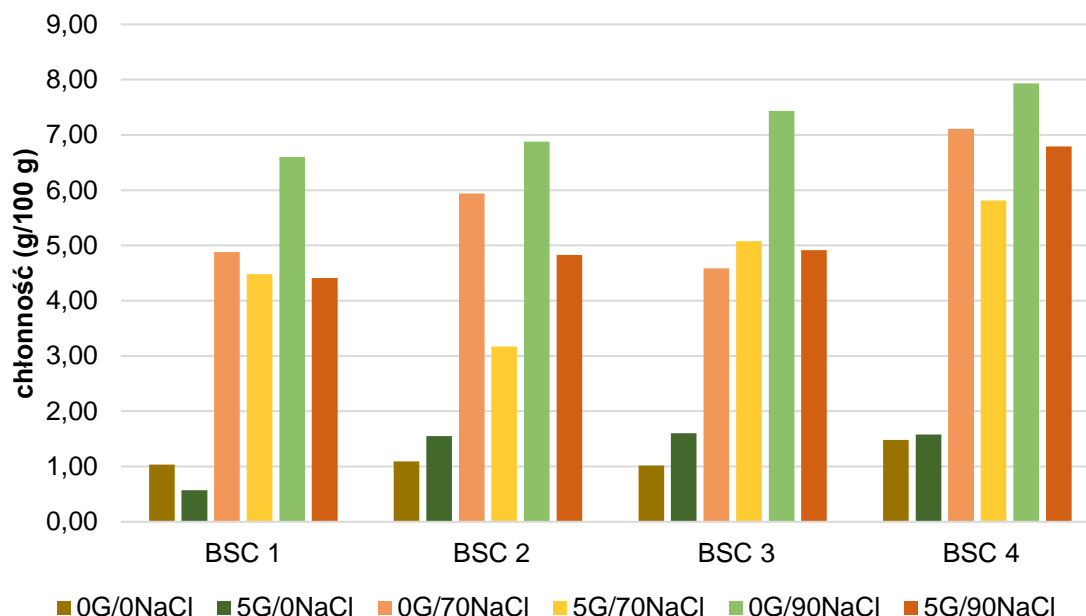
Jedynym z istotnych parametrów określanych dla materiałów mogących mieć zastosowanie jako opatrunki jest chłonność przy swobodnym nasiąkaniu. Badanie prowadzi się z użyciem cieczy A, odpowiadającej składowi jonowemu wysięków z rany.

Badaniu poddano materiały bez i z dodatkiem glikolu polipropylenowego, ponieważ glikol polipropylenowy stosowany jest jako plastyfikator przy produkcji z użyciem materiałów polimerowych [189], ponadto jest szeroko stosowany w przemyśle farmaceutycznym oraz kosmetycznym [190].



Rys. 45 Chłonność porowatych struktur w zależności od ilości zastosowanego porogenu

Analizując właściwości sorpcyjne badanych materiałów zauważyć można, że wraz ze wzrostem stężenia porogenu wzrasta chłonność próbek wytworzonych z kopolimerów butyrylo-bursztyno chityny (Rys. 45). Wynika to z wyższej porowatości próbek, a tym samym ich bardziej rozwiniętej powierzchni wewnętrznej, co pozytywnie wpływa na zdolności sorpcyjne. Odnosić należy również wpływ składu kopolimerów na zdolności sorpcyjne materiałów- wraz ze wzrostem zawartości bezwodnika bursztynowego zwiększa się zdolność badanych próbek do chłonięcia cieczy. Wynika to z bardziej hydrofilowego charakteru grup pochodzących od bezwodnika kwasu bursztynowego.



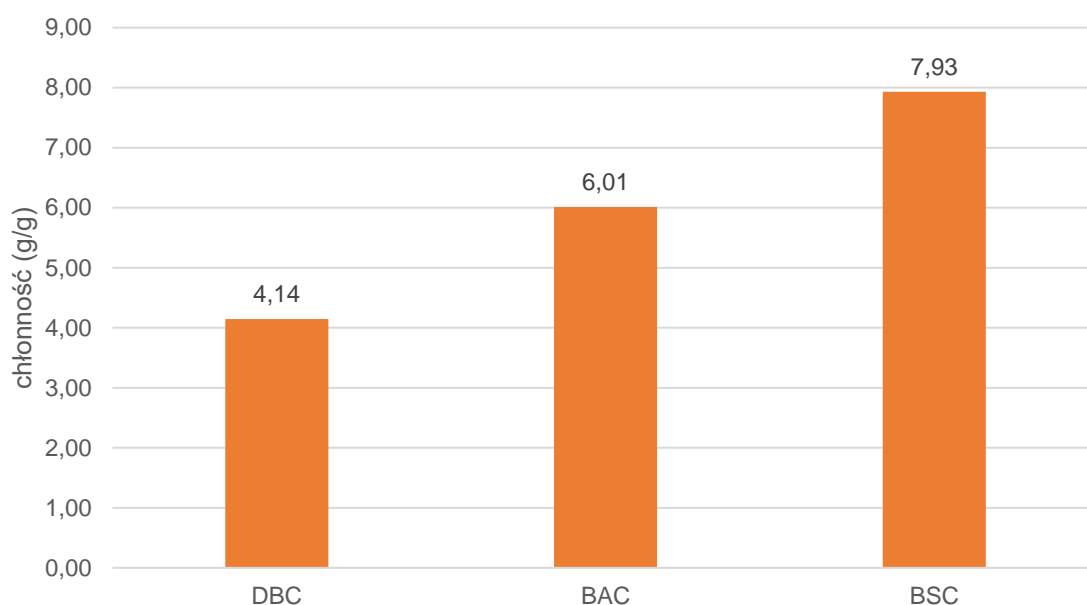
Rys. 46 Wpływ dodatku glikolu polipropylenowego na chłonność próbek

Niestety zastosowany jako dodatek glikol propylenowy negatywnie wpływa na zdolności sorpcyjne wytworzonych próbek (Rys. 46). Efekt ten jest szczególnie widoczny w przypadku próbek wytworzonych bez udziału porogenu. Próbki wytworzone z większą zawartością porogenu nie są aż tak podatne na właściwości glikolu co świadczy o większym wpływie struktury porowatej na właściwości sorpcyjne.

Analizując właściwości sorpcyjne badanych materiałów zauważyć można, że wraz ze wzrostem stężenia porogenu wzrasta chłonność próbek wytworzonych z kopolimerów butyrylo-bursztyno chityny. Wynika to z wyższej porowatości próbek, a tym samym ich bardziej rozwiniętej powierzchni wewnętrznej, co pozytywnie wpływa na zdolności sorpcyjne. Odnotować należy również wpływ składu kopolimerów na zdolności sorpcyjne materiałów- wraz ze wzrostem zawartości bezwodnika bursztynowego zwiększa się zdolność badanych próbek do chłonięcia cieczy. Koreluje to z wynikami pomiaru kąta zwilżania- hydrofilowość powierzchni folii wzrasta wraz ze zwiększającym się udziałem bezwodnika bursztynowego w polimerze. Wynika to z bardziej hydrofilowego charakteru grup pochodzących od bezwodnika kwasu bursztynowego. Niestety zastosowany jako dodatek glikol propylenowy negatywnie wpływa na zdolności sorpcyjne wytworzonych próbek. Efekt ten jest szczególnie widoczny w przypadku próbek

wytworzonych bez udziału porogenu. Próbki wytworzone z większą zawartością porogenu nie są aż tak podatne na właściwości glikolu co świadczy o większym wpływie struktury porowatej na właściwości sorpcyjne.

W celach porównawczych zbadano również chłonność komercyjnie dostępnych opatrunków z pochodnych chityny- dibutytrylo chityny i butyryloacetylo chityny (Rys. 47).



Rys. 47 Porównanie chłonności struktur porowatych z różnych pochodnych chityny

W porównaniu do komercyjnie dostępnych opatrunków na bazie dibutyrylo chityny oraz butyrylo-bursztyno chityny, materiał wytworzony na bazie butyrylo-bursztyno chityny charakteryzuje się najwyższymi zdolnościami sorpcyjnymi. Wynika to z posiadania w strukturze grup pochodzących z bezwodnika bursztynowego, które posiadają hydrofilowy charakter. Dzięki temu materiały opatrunkowe na bazie BSC miałyby bardziej uniwersalne zastosowanie oraz dzięki większym zdolnościom sorpcyjnym ograniczyłby częstotliwość zmiany opatrunku, co jest niezwykle korzystne z punktu widzenia procesu gojenia ran.

Podsumowanie

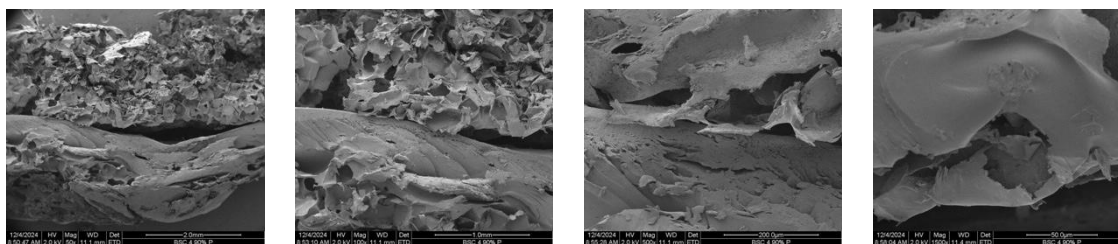
Mając na uwadze potencjalne zastosowanie materiałów wytworzonych z butyrylo-bursztyno chityny w medycynie warto rozważyć indywidualnie próbki wytworzone na bazie poszczególnych produktów syntezy. W przypadku materiałów wytworzonych z BSC 90/10, które charakteryzują się najniższą chłonnością i są

najbardziej hydrofobowe spośród wszystkich wytworzonych materiałów, niemożliwe byłoby zastosowanie go jako materiału opatrunkowego. W oparciu o badania [191] tego typu materiały mogą one znaleźć zastosowanie w produkcji implantów o przedłużonej biodegradacji oraz pełnić formę bariery ochronnej. Zawierający większą ilość grup pochodzących od bezwodnika bursztynowego BSC 80/20 charakteryzuje się umiarkowaną chłonnością i nieco większą hydrofilowością niż materiał pierwszej próbki. Co sprawia, że mógłby być wykorzystany jako materiał opatrunkowy do ran bez wysięku lub jako nośnik komórek w inżynierii tkankowej. Próbki wytworzone na bazie BSC 70/30 posiadają jeszcze wyższe zdolności sorpcyjne oraz bardziej hydrofilowy charakter, dzięki czemu mogłyby być stosowane jako opatrunki na rany o niezbyt dużym wysięku. Dzięki wyższej chłonności mogłyby również znaleźć zastosowanie jako nośnik leków oraz jako podłoże do regeneracji tkanek. Charakteryzujące się najwyższymi z badanych zdolnościami sorpcyjnymi materiały wytworzone z BSC 60/40 również znalazłyby zastosowanie jako opatrunki. Ich wysoka porowatość sprawia, że byłyby one odpowiednie jako materiały stosowane w inżynierii tkankowej.

- **Ocena struktury wytworzonych materiałów porowatych na podstawie zdjęć ze skaningowego mikroskopu elektronowego**

Poza oceną chłonności wytworzonych z kopoliestru butyrylo-bursztyno chityny materiałów porowatych poddano je również analizie z użyciem skaningowego mikroskopu elektronowego. Badania miały na celu ocenę wpływu ilości porogenu oraz dodatku glikolu polipropylenowego na strukturę wytworzonych materiałów.

Ogromny wpływ na strukturę wytworzonych materiałów ma proces wytwarzania próbki. Rysunek 48 ilustruje próbkę wytworzoną z BSC 60/40 i zawierającą 90% porogenu, którą poddano suszeniu w podwyższonej temperaturze. Otrzymana próbka jest niejednorodna i składa się z dwóch skrajnie różnych faz- niezawierającej porów i porowatej. Z tego powodu zmieniona została technika wytwarzania próbek



Rys. 48 Materiał porowaty poddany procesowi suszenia pod promiennikiem

Próbki wytworzone bez użycia porogenu (Tabela 20) niezależnie od rodzaju produktu syntezy, z którego je wytworzono charakteryzują się w większości ciągłością materiału i nie zawierają porów. W niektórych próbkach zauważyć można pewne ubytki, które prawdopodobnie spowodowane są zapowietrzeniami roztworów użytych do ich wytworzenia. Brak jest również istotnych różnic między próbkami zawierającymi glikol polipropylenowy i tymi, które go nie zawierają.

W próbkach wytworzonych z 70% udziałem porogenu widoczna jest znaczna ilość porów (Tabela 21). Przy mniejszych powiększeniach zauważyć można wiele porów o stosunkowo dużej średnicy. Obrazy wykonane przy większym powiększeniu potwierdzają istnienie także dużej ilości niewielkich porów. Widoczny jest również wpływ glikolu polipropylenowego (przy powiększeniu 100) na badane próbki, ponieważ te wykonane z jego użyciem są cieńsze niż te niezawierające jego dodatku.

Podobnie jak w przypadku próbek wytworzonych z użyciem 70% porogenu te otrzymane z użyciem większej jego ilości charakteryzują się obecnością wielu porów w większości o kolistym kształcie (Tabela 22). Pory te charakteryzują się różnymi wielkościami.

Tabela 20 Próbki wytworzone bez użycia porogenu

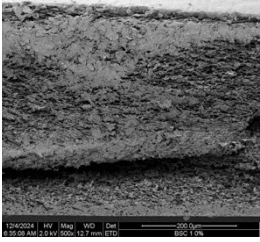
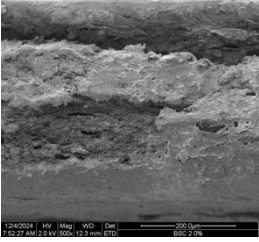
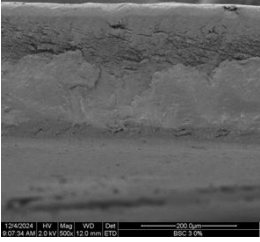
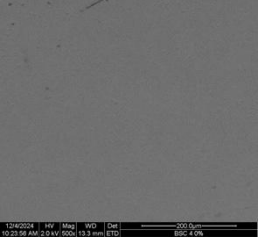
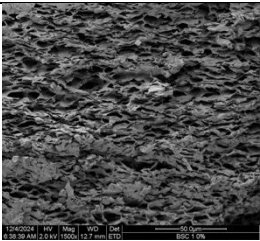
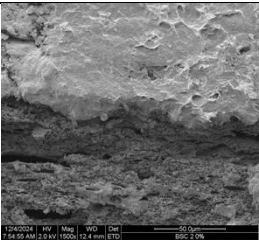
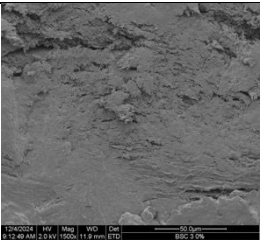
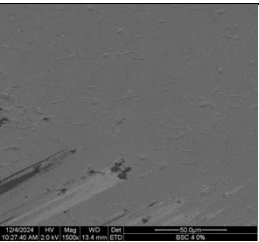
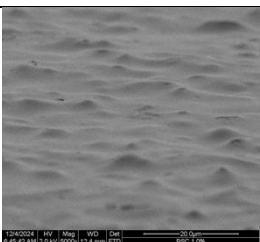
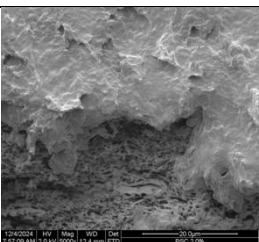
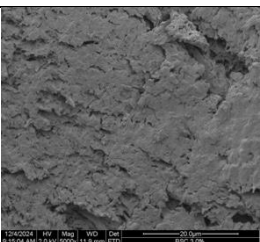
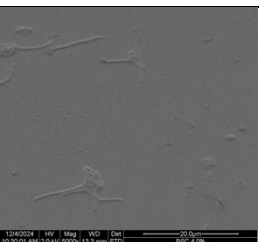

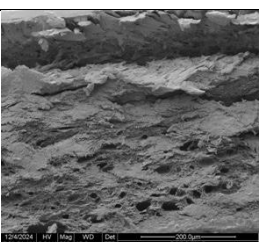
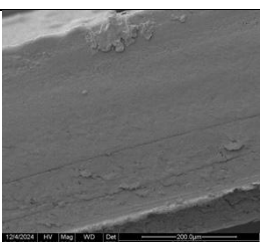
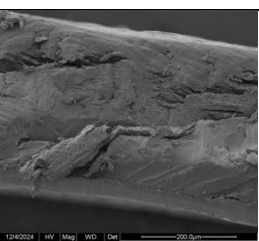
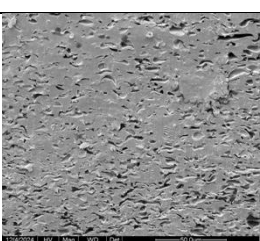
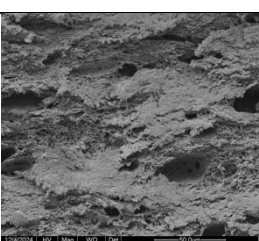
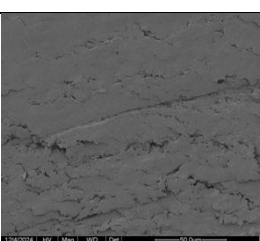

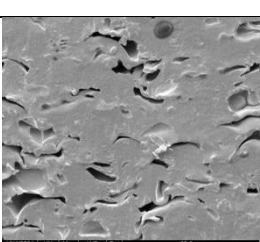
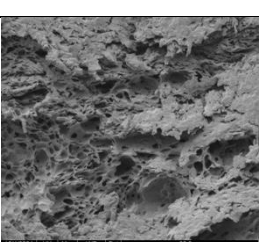
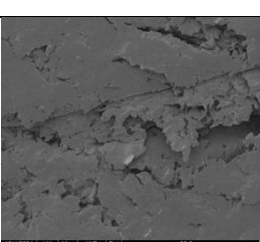
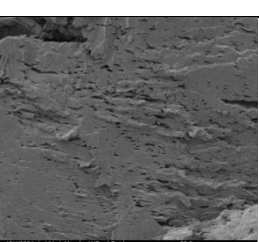
NaCl/Glikol (%/%)	Krotność	BSC 90/10	BSC 80/20	BSC 70/30	BSC 60/40
0/0	500				
	1500				
	5000				
0/5	500				
	1500				
	5000				

Tabela 21 Próbki utworzone z użyciem 70% porogenu w stosunku do masy próbki

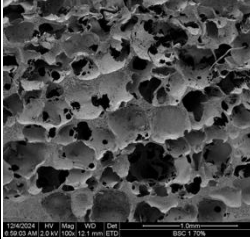
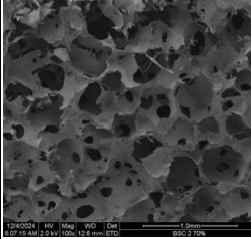
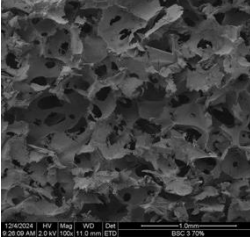
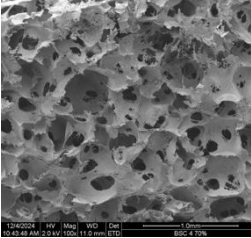
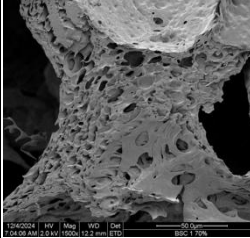
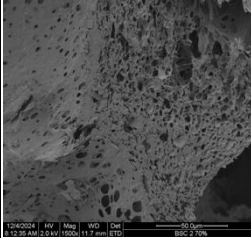
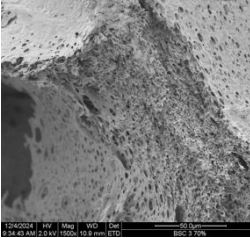
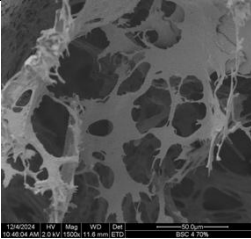
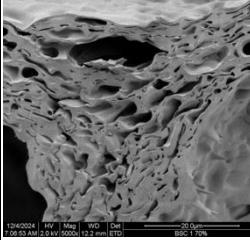
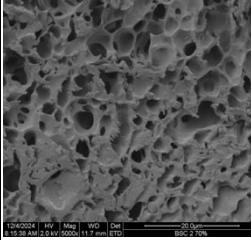
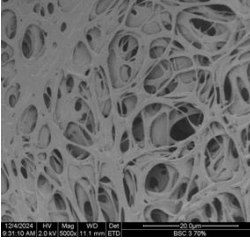
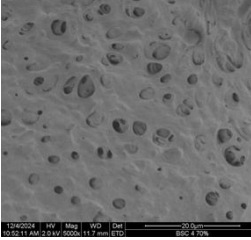
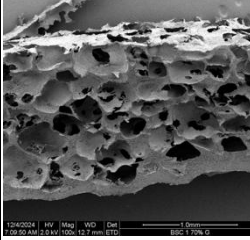
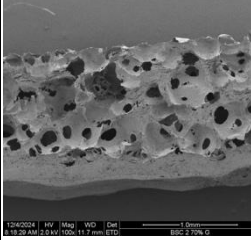
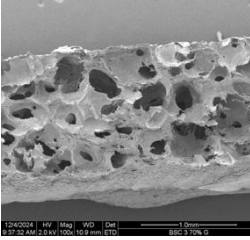
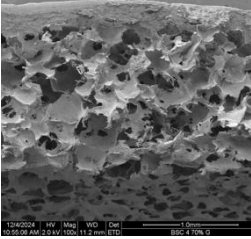
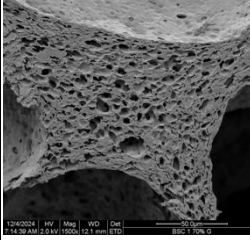
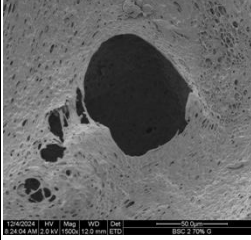
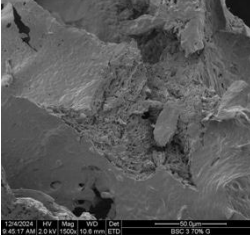
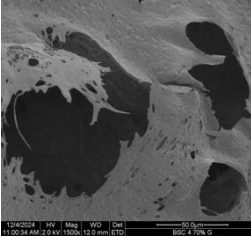
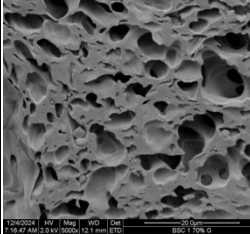
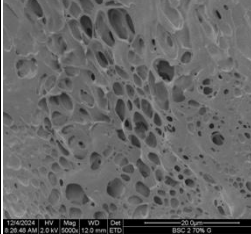
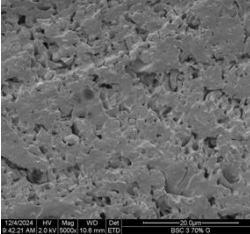
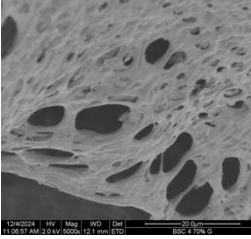
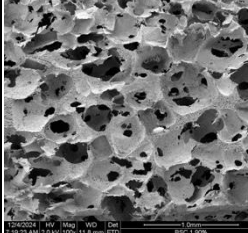
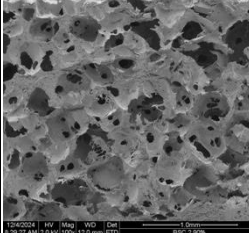
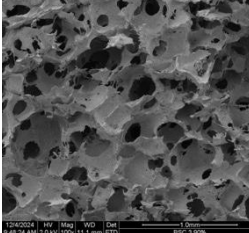
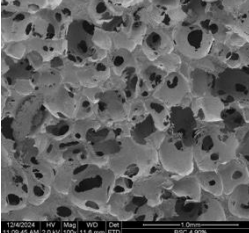
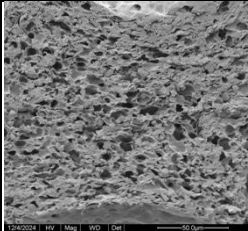
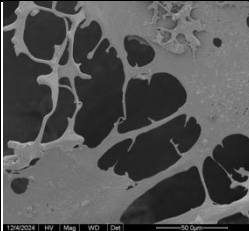
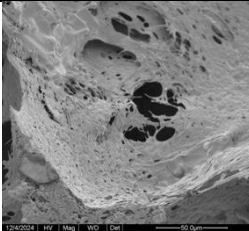
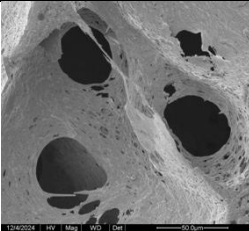
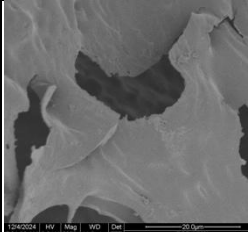
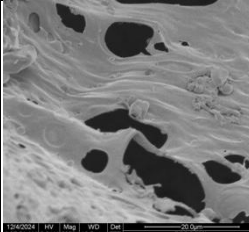
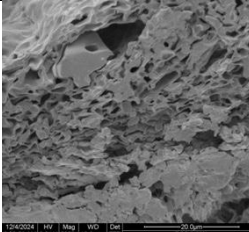
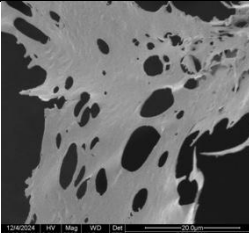
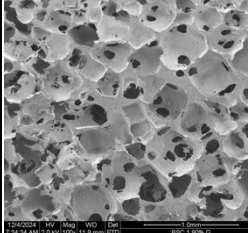
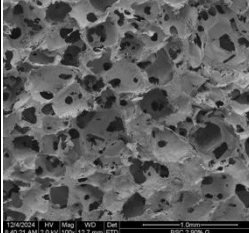
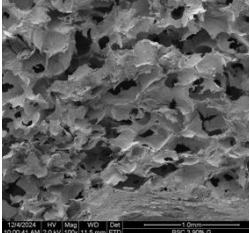
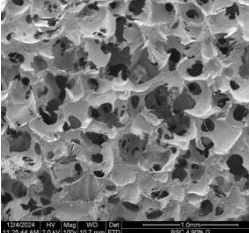
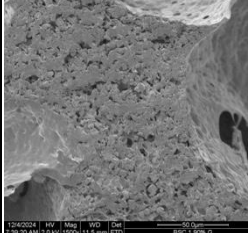
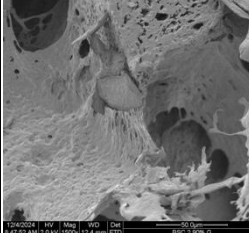
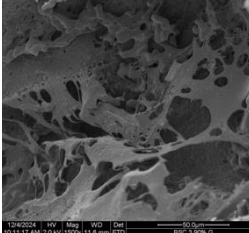
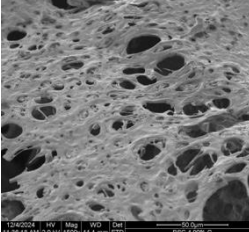
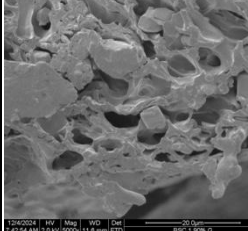
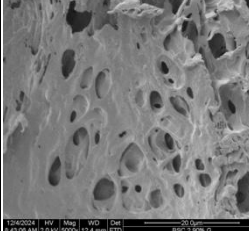
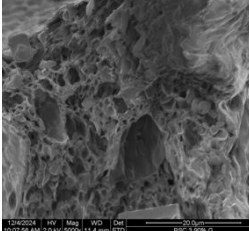
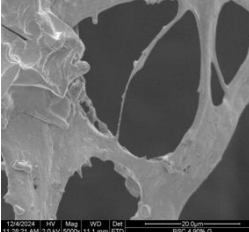
NaCl/Glikol (%/%)	Krotność	Synteza 1	Synteza 2	Synteza 3	Synteza 4
70/0	100				
	1500				
	5000				
70/5	100				
	1500				
	5000				

Tabela 22 Próbkki wytworzone z użyciem 90% porogenu w stosunku do masy próbki

NaCl/Glikol (%/%)	Krotność	Synteza 1	Synteza 2	Synteza 3	Synteza 4
90/0	100				
	1500				
	5000				
90/5	100				
	1500				
	5000				

Wykonano również pomiary średnicy porów dla których wyznaczono parametry statystyczne (Tabela 23- 24).

W przypadku wszystkich wytworzonych próbek w skutek dodania glikolu polipropylenowego doszło do znacznego wzrostu średniej wielkości porów w porównaniu do próbek go niezawierających. Jego dodatek wpłynął również na wzrost wartości mediany oraz odchylenia standardowego co świadczy o większej niejednorodności rozkładu średniej wielkości porów w badanych materiałach. Ponadto dodatek glikolu polipropylenowego wpływa również na wartość skośności i kurtozy co wskazuje zmianę charakterystyki rozkładu średnicy porów.

Tabela 23 Parametry statystyczne średnicy porów w wytworzonych materiałach porowatych przy 70% użytego porogenu

Parametry statystyczne wymiarów porów	BSC 90/10		BSC 80/20		BSC 70/30		BSC 60/40	
	Zawartość porogenu/glikolu polipropylenowego (%/%)							
	70/0	70/5	70/0	70/5	70/0	70/5	70/0	70/5
Średnia (μm)	2,37	161,02	1,99	96,34	2,78	125,96	129,44	147,76
Mediana (μm)	2,12	153,69	2,00	93,79	2,23	120,00	112,00	108,00
Odchylenie standardowe	1,16	78,51	0,54	26,03	1,55	48,84	70,45	81,74
Skośność	1,54	0,44	0,46	0,50	1,35	0,21	1,43	2,01
Kurtoza	3,40	-0,94	0,42	0,46	1,39	-1,37	1,85	4,49

W przypadku próbki wytworzonej z BSC 90/10 dodatek glikolu sprawił, że średnia wielkość porów wzrosła. Zmiana wartości skośności z dodatniej na ujemną świadczy o bardziej równomiernym rozkładzie wielkości porów w przypadku próbki zawierającej glikol. Dodatkowo wartość kurtozy uległa zwiększeniu co wskazuje na bardziej płaski rozkład danych w przypadku próbki z dodatkiem glikolu. W wyniku dodatku glikolu polipropylenowego w materiale wytworzonym z BSC 80/20 znacznemu zwiększeniu uległa średnia wielkość porów. Wzrosła również wartość skośności co świadczy o obecności większej ilości porów o większych średnicach. Wzrost kurtozy sugeruje większe zróżnicowanie rozkładu. Dodatek glikolu w przypadku próbek wytworzonych z BSC 70/30 wpłynął na zmniejszenie się średniej wielkości porów. Zmalała również wartość skośności co wskazuje na większą symetryczność rozkładu, a spadek kurtozy świadczy o bardziej jednorodnym rozkładzie średniej średnicy porów. Również w przypadku materiałów wytworzonych z BSC 60/40 w wyniku dodatku glikolu doszło do

zmniejszenia się średniej wielkości porów. Wartość skośności z dodatniej zmieniała się na praktycznie symetryczną, dodatkowo zmniejszenie kurtozy świadczy o bardziej jednorodnym rozkładzie.

Tabela 24 Parametry statystyczne średnicy porów w wytworzonych materiałach porowatych z produktów syntezy przy 90% użytego porogenu

Parametry statystyczne wymiarów porów	BSC 90/10		BSC 80/20		BSC 70/30		BSC 60/40	
	Zawartość porogenu/glikolu polipropylenowego (%/%)							
	90/0	90/5	90/0	90/5	90/0	90/5	90/0	90/5
Średnia (µm)	4,09	4,99	78,50	122,88	111,80	142,76	111,40	108,84
Mediana (µm)	3,99	5,04	76,61	116,90	107,00	135,00	103,00	102,00
Odchylenie standardowe	1,08	0,81	30,49	34,69	32,84	62,24	47,15	41,35
Skośność	0,60	-0,22	2,13	2,03	0,42	0,58	2,05	-0,01
Kurtoza	0,23	1,14	8,80	6,74	0,44	0,53	7,02	-0,89

Podsumowanie

Próbki wytworzone bez udziału porogenu charakteryzują się ciągłością materiału i brakiem porowatości, niezależnie od zastosowanego produktu syntezy. Widoczne są jedynie sporadycznie występujące ubytki, które związane są z zapowietrzeniem roztworów. Dodatek glikolu polipropylenowego w tych próbkach nie wprowadza istotnych różnic w ich strukturze. W przypadku próbek z udziałem porogenu obserwuje się znaczną porowatość struktur. Próbki zawierają pory o różnorodnych rozmiarach i kształtach, przy czym dodatek glikolu polipropylenowego istotnie wpływa na zwiększenie średniej wielkości porów. Próbki z glikolem wykazują większą zmienność i asymetrię rozkładu, co sugeruje bardziej złożoną charakterystykę porowatości.

5. Podsumowanie

W ramach realizacji niniejszej pracy przeprowadzono badania dotyczące syntezy nowej pochodnej chityny – butyrylo-bursztyno chityny z wykorzystaniem dwóch różnych katalizatorów - kwasu nadchlorowego i kwasu metanosulfonowego.

Synteza z wykorzystaniem kwasu nadchlorowego charakteryzowała się niską wydajnością, a w produktach znajdowały się znaczne ilości nieprzereagowanej chityny. Analiza widm FTIR ATR wykazała, że struktura otrzymanych kopolimerów nie różniła się znacząco od widma referencyjnej chityny. Wyniki te sugerują, że proces wymaga zmiany warunków reakcji, aby zwiększyć wydajność i skuteczność estryfikacji.

W przypadku pierwszego wariantu syntezy z kwasem metanosulfonowym wydajność również była ograniczona, jednak produkty syntez umożliwiły przeprowadzenie ich dalszej analizy. Widma FTIR ATR wykazały, że doszło do estryfikacji, co potwierdził zanik pasm hydroksyloowych w zakresie $3500\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ oraz obecność karbonylowych pików przy 1732 cm^{-1} . Niemniej jednak, stopnie podstawienia grupami butyrylowymi i bursztynowymi nie osiągnęły oczekiwanych wartości teoretycznych, co wskazywało na konieczność dalszej modyfikacji warunków reakcji.

W wyniku zoptymalizowania warunków reakcji z użyciem kwasu metanosulfonowego uzyskano znacznie wyższą wydajność procesu, co umożliwiło dalszą analizę kopolimerów. Widma FTIR ATR potwierdziły zmiany w strukturze chemicznej wytworzonych kopoliestrów, w tym częściowy zanik pasm hydroksyloowych i aminowych w zakresie $3600\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ oraz pojawienie się pasm związanych z obecnością grup alkilowych ($3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$) i karbonylowych ($1740\text{--}1730\text{ cm}^{-1}$). Wszystkie produkty syntezy zachowały w strukturze charakterystyczny pierścień glikozydowy chityny, co dowodzi, że proces estryfikacji nie wpłynął na integralność struktury podstawowej. Analiza ^1H NMR wykazała, że stopnie podstawienia grupami butyrylowymi i bursztynowymi były zgodne z wartościami teoretycznymi dla większości próbek. Badania wykazały, że hydrofilowość kopoliestrów wzrasta wraz z zawartością grup bezwodnika bursztynowego, co wynika z obecności grup polarnych (karboksyloowych i hydroksyloowych). Dzięki temu materiały te mają potencjalne

zastosowanie w medycynie, co potwierdza postawioną w pracy hipotezę badawczą.

Podsumowując, kwas metanosulfonowy okazał się skuteczniejszym katalizatorem niż kwas nadchlorowy, zwłaszcza po zoptymalizowaniu warunków reakcji. Wysoka wydajność procesu oraz potwierdzona skuteczność reakcji estyfikacji pozwalają na uzyskanie kopoliestrów o pożądanym właściwościach.

Analiza reologiczna potwierdziła nienewtonowski charakter roztworów polimerowych z BSC. Roztwory w DMSO cechowały się najwyższą lepkością, ale zostały odrzucone z uwagi na brak możliwości uzyskania roztworów o wysokim stężeniu. Etanol, dzięki niższej lepkości dynamicznej pozornej, zapewnia większą elastyczność w zwiększaniu stężenia roztworów i jest powszechnie stosowany do celów medycznych, co uzasadnia jego wybór do dalszych badań.

Otrzymane włókna z kopolimeru butyrylo-bursztyno chityny cechują się niskimi właściwościami mechanicznymi (wytrzymałość właściwa ≤ 5 cN/tex, wydłużenie przy zerwaniu ok. 2%), nieregularnym kształtem i defektami powierzchni, co ogranicza ich przetwórstwo, lecz pozwala na zastosowanie w produkcji włóknin metodą wetlaid. Elektroprądzenie z roztworów o stężeniu 3% przy 15 kV umożliwia formowanie mikrowłókien o średnicy 0,5–1,025 μm , charakteryzujących się wysoką porowatością i rozwiniętą powierzchnią właściwą, co sprzyja adsorpcji i dyfuzji, a także przepuszczalności cieczy i gazów. Natomiast materiały porowate wytworzone z kopoliestrów chityny metodą salt-leaching charakteryzują się znaczną porowatością, z porami o różnorodnych rozmiarach i kształtach. W większości badanych próbek dodatek glikolu polipropylenowego powoduje zwiększenie średniej wielkości porów oraz większe różnice w ich rozmiarach. Materiały na bazie butyrylo-bursztyno chityny wytwarzane tą metodą dają możliwość wytworzenia struktur o dopasowanych właściwościach pod względem chłonności, porowatości oraz charakteru zwilżania powierzchni. Dzięki temu mogą znaleźć zastosowanie w inżynierii tkankowej jako rusztowania wspierające regenerację komórek, opatrunki na rany przewlekłe oraz systemy dostarczania leków. Zdolności sorpcyjne i hydrofilowość próbek zależne są od składu kopolimeru co daje możliwość wytworzenia materiału o pożądanym właściwościach, co jest istotne z punktu widzenia inżynierii tkankowej.

Na podstawie analizy uzyskanych wyników badań można sformułować wnioski o charakterze ogólnym:

1. Proces syntezy butyrylo-bursztyno chityny z użyciem kwasu metanosulfonowy jako katalizatora okazał się bardziej wydajnym niż z użyciem kwasu nadchlorowego, szczególnie po optymalizacji warunków reakcji. Zapewnił wyższą wydajność procesu oraz skuteczniejszą estryfikacji. A sam proces estryfikacji nie spowodował degradacji pierścienia glikozydowego chityny.
2. Wzrost zawartości grup bezwodnika bursztynowego zwiększa hydrofilowość kopoliestrów, co czyni je odpowiednimi do zastosowań medycznych, takich jak rusztowania w inżynierii tkankowej, opatrunki na rany oraz systemy dostarczania leków. Zależność ta pozwoli również na otrzymywanie polimerów o preferowanych właściwościach.
3. Otrzymane włókna z kopolimeru BSC charakteryzowały się ograniczonymi właściwościami mechanicznymi, nieregularnym kształtem oraz obecnością wielu wgłębień na powierzchni, co ogranicza ich użycie w przetwórstwie klasycznym, lecz umożliwia potencjalne zastosowanie w technologii wetlaid.
4. Możliwe jest otrzymywanie mikrowłókien z butyrylo-bursztyno chityny metodą elektroprzędzenia przy stosunkowo niskim napięciu. W przypadku wyższych napięć dochodzi do zbyt intensywnego wyciągania strugi roztworu co uniemożliwia formowanie włókien, skutkując wytworzeniem filmów z nieregularnymi defektami.
5. Butyrylo-bursztyno chityna daje możliwość wytworzenia materiałów porowatych o zróżnicowanych właściwościach sorpcyjnych, w zależności od zawartości grup bezwodnika bursztynowego i masłowego.

Perspektywy rozwoju

Obecności grup butyrylowych oraz bursztynowych w strukturze kopoliestru otwiera możliwość na dalszą chemiczną modyfikację polimeru poprzez wprowadzenie dodatkowych grup bioaktywnych lub reaktywnych. Dałoby to możliwości projektowania materiałów o jeszcze bardziej spersonalizowanych właściwościach, dostosowanych do konkretnych zastosowań medycznych. Dzięki

modyfikacjom możliwe byłoby zwiększenie biogodności, możliwości sorpcyjnych oraz przyspieszenie procesu regeneracji tkanek.

Przyszłe badania mogłyby skupić się na opracowaniu procesów modyfikacji chemicznej w celu wytworzenia materiałów do zastosowań biomedycznych takich jak nośniki leków, opatrunki do ran trudno gojących czy rusztowania tkankowe. Dodatkowo optymalizacja technologii wytwarzania struktur o rozwiniętej powierzchni, takich jak elektroprzędzenie, formowanie materiałów porowatych, czy biodruk 3D, pozwoliłoby na wytwarzanie materiałów do hodowli komórkowych.

BIBLIOGRAFIA

- [1] J.N. Bemiller, Polysaccharides, *ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES* (2001).
- [2] O.I. Şahin, Seaweed Polysaccharides: Structure, Extraction and Applications, in: M. Inamuddin Ahamed, R. Imran Boddula, T. Altalhi (Eds.), *Polysaccharides: Properties and Applications*, John Wiley & Sons, 2021: pp. 61–74. <https://doi.org/10.1002/9781119711414.ch4>.
- [3] J.F. Robyt, Polysaccharides : Energy Storage, *ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES* (n.d.) 1–8.
- [4] W. Zhao, W. Liu, J. Li, X. Lin, Y. Wang, Preparation of animal polysaccharides nanofibers by electrospinning and their potential biomedical applications, *J Biomed Mater Res* 103A (2015).
- [5] C. Delattre, C. Laroche, P. Michaud, Production of bacterial and fungal polysaccharides, in: *Advances in Fermentation Technology Storage*, 2005: pp. 291–320.
- [6] C. Alvarez-Lorenzo, B. Blanco-Fernandez, A.M. Puga, A. Concheiro, Crosslinked ionic polysaccharides for stimuli-sensitive drug delivery ☆, *Adv Drug Deliv Rev* 65 (2013) 1148–1171. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.04.016>.
- [7] B. Posocco, E. Dreussi, J. De Santa, G. Toffoli, M. Abrami, B. Dapas, Polysaccharides for the Delivery of Antitumor Drugs, *Materials* (2015) 2569–2615. <https://doi.org/10.3390/ma8052569>.
- [8] M.D. Buschmann, A. Merzouki, M. Lavertu, M. Thibault, M. Jean, V. Darras, Chitosans for delivery of nucleic acids ☆, *Adv Drug Deliv Rev* 65 (2013) 1234–1270. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.07.005>.
- [9] R. Lapasin, *Rheology of Industrial Polysaccharides: Theory and Applications*, Springer, US, 2012. <https://books.google.pl/books?id=PeTiBwAAQBAJ>.
- [10] K. Ganguly, K. Chaturvedi, U.A. More, M.N. Nadagouda, T.M. Aminabhavi, Polysaccharide-based micro/nanohydrogels for delivering macromolecular therapeutics, *Journal of Controlled Release* (2014). <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.05.014>.

- [11] C. Hatchett, XVIII. Experiments and observations on shell and bone, *Philos Trans R Soc Lond* 89 (1799) 315–334. <https://doi.org/10.1098/rstl.1799.0019>.
- [12] B.T. Iber, N.A. Kasan, D. Torsabo, J.W. Omuwa, A review of various sources of chitin and chitosan in nature, *J Renew Mater* 10 (2022) 1097–1123. <https://doi.org/10.32604/JRM.2022.018142>.
- [13] A. Odier, Mémoire sur la composition chimique des parties cornées des insectes, in: *Mémoires de La Société d’Histoire Naturelle*, 1823: pp. 29–42.
- [14] H. Fabritius, C. Sachs, D. Raabe, S. Nikolov, M. Friák, J. Neugebauer, Chitin in the Exoskeletons of Arthropoda: From Ancient Design to Novel Materials Science, (2011) 35–60. https://doi.org/10.1007/978-90-481-9684-5_2.
- [15] F. Khoushab, M. Yamabhai, Chitin research revisited, *Mar Drugs* 8 (2010) 1988–2012. <https://doi.org/10.3390/md8071988>.
- [16] A.R. Bowen, J.L. Chen-Wu, M. Momany, R. Young, P.J. Szaniszlo, P.W. Robbins, Classification of fungal chitin synthases, *Proc Natl Acad Sci U S A* 89 (1992) 519–523. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.2.519>.
- [17] H.J. Blumenthal, S. Roseman, Quantitative estimation of chitin in fungi, (1957).
- [18] M. Kaya, O. Seyyar, T. Baran, T. Turkes, Bat guano as new and attractive chitin and chitosan source, *Front Zool* 11 (2014) 59. <https://doi.org/10.1186/preaccept-2130575587130627>.
- [19] X. He, B.A. Howard, Y. Liu, A.K. Neumann, L. Li, N. Menon, T. Roach, S.D. Kale, D.C. Samuels, H. Li, T. Kite, H. Kita, T.Y. Hu, M. Luo, C.N. Jones, U.J. Okaa, D.L. Squillace, B.S. Klein, C.B. Lawrence, LYSMD3: A mammalian pattern recognition receptor for chitin, *Cell Rep* 36 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109392>.
- [20] B.S. Henriques, E.S. Garcia, P. Azambuja, F.A. Genta, Determination of Chitin Content in Insects: An Alternate Method Based on Calcofluor Staining, *Front Physiol* 11 (2020). <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00117>.
- [21] M. Mahboub, M. Hassan, A. Bream, A. Mohamed, M. Abdel-Samad, Preparation, Characterization and Anticancer Activity of Chitosan Prepared from the American Cockroach, *Periplaneta americana*, *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology* 14 (2021) 163–171. <https://doi.org/10.21608/eajbsa.2021.185450>.

- [22] N.T. Dittmer, Y. Hiromasa, M.R. Kanost, Proteomic analysis of pharate pupal molting fluid from the tobacco hornworm, *Manduca sexta*, *Insect Biochem Mol Biol* 149 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2022.103844>.
- [23] C. Liu, W. Zhang, Q. Dong, H. Liu, Exoskeleton protein repertoires in decapod crustaceans revealed distinct biomineralization evolution with molluscs, *J Proteomics* 291 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2023.105046>.
- [24] N.S. Gupta, ed., *Chitin Formation and Diagenesis*, Springer Dordrecht, 2011. <http://www.springer.com/series/6623>.
- [25] M. Peng, J.C.R. Cardoso, D.M. Power, Evolution of chitin-synthase in molluscs and their response to ocean acidification, *Mol Phylogenet Evol* 201 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2024.108192>.
- [26] D. Karthick Rajan, K. Mohan, J. Rajarajeswaran, D. Divya, R. Kumar, S. Kandasamy, S. Zhang, A. Ramu Ganesan, β -Chitin and chitosan from waste shells of edible mollusks as a functional ingredient, *Food Front* 5 (2024) 46–72. <https://doi.org/10.1002/fft2.326>.
- [27] L. Bastiaens, L. Soetemans, E. D'Hondt, K. Elst, Sources of chitin and chitosan and their isolation, *Chitin and Chitosan: Properties and Applications* (2019) 1–34. <https://doi.org/10.1002/9781119450467.ch1>.
- [28] A. Percot, C. Viton, A. Domard, Optimization of Chitin Extraction from Shrimp Shells Aline, *Biomacromolecules* 4 (2003) 12–18.
- [29] N. Guo, J. Sun, Z. Zhang, X. Mao, Recovery of Chitin and Protein from Shrimp Head Waste by Endogenous Enzyme Autolysis and Fermentation, *Oceanic and Coastal Sea Research* 18 (2019) 719–726.
- [30] K. Mohan, A. Ramu, T. Muralisankar, Trends in Food Science & Technology Recent insights into the extraction , characterization , and bioactivities of chitin and chitosan from insects, *Trends Food Sci Technol* 105 (2020) 17–42. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.08.016>.
- [31] F.A. Al Sagheer, M.A. Al-sughayer, S. Muslim, M.Z. Elsabee, Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf, *Carbohydr Polym* 77 (2009) 410–419. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.01.032>.
- [32] H. Srinivasan, K. Velayutham, R. Ravichandran, *International Journal of Biological Macromolecules* Chitin and chitosan preparation from shrimp shells

Penaeus monodon and its human ovarian cancer cell line , PA-1, *Int J Biol Macromol* 107 (2018) 662–667. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.035>.

[33] E.B. Ibitoye, I.H. Lokman, M.N.M. Hezme, Y.M. Goh, A.B.Z. Zuki, A.A. Jimoh, Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan isolated from house cricket Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan isolated from house cricket, *Biomedical Materials* 13 (2018).

[34] J.I. Simionato, L. Dolis, G. Villalobos, M.K. Bulla, A.G. Coró, J.C. Garcia, *Acta Scientiarum* Application of chitin and chitosan extracted from silkworm chrysalides in the treatment of textile effluents contaminated with remazol dyes, *Acta Scientiarum* (2014) 693–698. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v36i4.24428>.

[35] G. Hall, Z. Zakaria, G. Shama, Purification of Chitin from scampi waste using Lactic Acid Fermentation in a horizontal rotating bioreactor, *Asian Chitin Journal* 1 (2005).

[36] M. Rinaudo, Chitin and chitosan: Properties and applications, *Progress in Polymer Science (Oxford)* 31 (2006) 603–632. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>.

[37] Y. Xu, C. Gallert, J. Winter, Chitin purification from shrimp wastes by microbial deproteination and decalcification, *Appl Microbiol Biotechnol* 79 (2008) 687–697. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1471-9>.

[38] R.M. Abdel-Rahman, R. Hrdina, A.M. Abdel-Mohsen, M.M.G. Fouda, A.Y. Soliman, F.K. Mohamed, K. Mohsin, T.D. Pinto, Chitin and chitosan from Brazilian Atlantic Coast: Isolation, characterization and antibacterial activity, *Int J Biol Macromol* 80 (2015) 107–120. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.06.027>.

[39] S. Khattak, F. Wahid, L.P. Liu, S.R. Jia, L.Q. Chu, Y.Y. Xie, Z.X. Li, C. Zhong, Applications of cellulose and chitin/chitosan derivatives and composites as antibacterial materials: current state and perspectives, *Appl Microbiol Biotechnol* 103 (2019) 1989–2006. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-09602-0>.

[40] F. Roberts, George, A., Chitin Chemistry, THE MACMILLAN PRESS LTD, London, 1992. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-020367-6.50009-x>.

[41] R.F. Frederiksen, D.K. Paspaliari, T. Larsen, B.G. Storgaard, M.H. Larsen, H. Ingmer, M.M. Palcic, J.J. Leisner, Bacterial chitinases and chitin-binding proteins as virulence factors, *Microbiology (United Kingdom)* 159 (2013) 833–847. <https://doi.org/10.1099/mic.0.051839-0>.

- [42] S. Fränkel, A. Kelly, Beiträge zur Constitution des Chitins, *Monatsh Chem* 23 (1901) 123–132. <https://doi.org/10.1007/BF01525858>.
- [43] H.W. Gonell, Röntgenographische Studien an Chitin, *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* 152 (1926) 18–30. <https://doi.org/10.1515/bchm2.1926.152.1-3.18>.
- [44] K.H. Meyer, G.W. Pankow, Sur la constitution et la structure de la chitine, *Helv Chim Acta* 18 (1935) 589–598. <https://doi.org/10.1002/hlca.19350180177>.
- [45] A. Einbu, Characterisation of Chitin and a Study of its Acid-Catalysed Hydrolysis, 2007.
- [46] M. Zuber, K.M. Zia, M. Barikani, Chitin and Chitosan Based Blends, Composites and Nanocomposites, in: *Advances in Natural Polymers- COMposites and Nanocomposites*, Springer International Publishing, 2013: pp. 55–120. https://doi.org/10.1007/978-3-642-20940-6_11.
- [47] W. Lotmar, L.E.R. Picken, A new crystallographic modification of chitin and its distribution, *Experientia* 6 (1950) 58–59. <https://doi.org/10.1007/BF02174818>.
- [48] L.E.R. Picken, W. Lotmar, Oriented Protein in Chitinous Structures, *Nature Publishing Group* (1950) 2.
- [49] K.M. Rudall, The Chitin/Protein Complexes of Insect Cuticles, *Adv In Insect Phys* 1 (1963) 257–313. [https://doi.org/10.1016/S0065-2806\(08\)60177-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2806(08)60177-0).
- [50] J.R. Schulz, I. Jan, G. Sangha, E. Azizi, The high speed radular prey strike of a fish-hunting cone snail, *Current Biology* 29 (2019) R788–R789. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.07.034>.
- [51] B.M. Olivera, D.R. Hillyard, M. Marsh, D. Yoshikami, Combinatorial peptide libraries in drug design: lessons from venomous cone snails, *Trends Biotechnol* 13 (1995) 422–426. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(00\)88996-9](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(00)88996-9).
- [52] E.D.T. Atkins, J. Dlugosz, S. Foord, Electron diffraction and electron microscopy of crystalline α -chitin from the grasping spines of the marine worm *Sagitta*, *Int J Biol Macromol* 1 (1979) 29–32. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(79\)90006-0](https://doi.org/10.1016/0141-8130(79)90006-0).
- [53] Y. Saito, T. Okano, H. Chanzy, J. Sugiyama, Structural Study of alpha chitin from the Grasping Spines of the arrow worm, *J Struct Biol* 114 (1995) 218–228.
- [54] Q. Bone, K.P. Ryan, A.L. Pulsford, The structure and composition of the teeth and grasping spines of chaetognaths, *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 63 (1983) 929–939. <https://doi.org/10.1017/S0025315400071332>.

- [55] M.J. Chrétiennot-Dinet, M.M. Giraud-Guille, D. Vaultot, J.L. Putaux, Y. Saito, H. Chanzy, The chitinous nature of filaments ejected by *Phaeocystis* (Prymnesiophyceae), *J Phycol* 33 (1997) 666–672. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1997.00666.x>.
- [56] S. Bartnicki-Garcia, J. Persson, H. Chanzy, An Electron Diffraction Study of the Effect of Calcofluor and Congo Red on the Biosynthesis of Chitin in Vitro, *Arch Biochem Biophys* 310 (1994) 6–15.
- [57] W. Chen, P. Cao, Y. Liu, A. Yu, D. Wang, L. Chen, R. Sundarraj, Z. Yuchi, Y. Gong, H. Merzendorfer, Q. Yang, Structural basis for directional chitin biosynthesis, *Nature* 610 (2022) 402–408. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05244-5>.
- [58] J. Sakamoto, J. Sugiyama, S. Kimura, T. Imai, T. Itoh, T. Watanabe, S. Kobayashi, Artificial chitin spherulites composed of single crystalline ribbons of α -chitin via enzymatic polymerization, *Macromolecules* 33 (2000) 4155–4160. <https://doi.org/10.1021/ma000230y>.
- [59] J.E. Persson, A. Domard, H. Chanzy, Single crystals of α -chitin, *Int J Biol Macromol* 14 (1992) 221–224. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(05\)80031-5](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(05)80031-5).
- [60] W. Helbert, J. Sugiyama, High-resolution electron microscopy on cellulose II and α -chitin single crystals, *Cellulose* 5 (1998) 113–122. <https://doi.org/10.1023/A:1009272814665>.
- [61] Y.W. Cho, J. Jang, C.R. Park, S.W. Ko, Preparation and solubility in acid and water of partially deacetylated chitins, *Biomacromolecules* 1 (2000) 609–614. <https://doi.org/10.1021/bm000036j>.
- [62] K. Kurita, Controlled functionalization of the polysaccharide chitin, *Progress in Polymer Science (Oxford)* 26 (2001) 1921–1971. [https://doi.org/10.1016/S0079-6700\(01\)00007-7](https://doi.org/10.1016/S0079-6700(01)00007-7).
- [63] R.L. Lavall, O.B.G. Assis, S.P. Campana-Filho, β -Chitin from the pens of *Loligo* sp.: Extraction and characterization, *Bioresour Technol* 98 (2007) 2465–2472. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.09.002>.
- [64] H.N. Cuong, N.C. Minh, N. Van Hoa, T.S. Trung, Preparation and characterization of high purity β -chitin from squid pens (*Loligo chinesis*), *Int J Biol Macromol* 93 (2016) 442–447. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.085>.

- [65] J. Blackwell, K.D. Parker, K.M. Rudall, Chitin in pogonophore tubes, *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 45 (1965) 659–661. <https://doi.org/10.1017/S0025315400016489>.
- [66] T. Guggolz, S. Henne, Y. Politi, R. Schütz, A. Mašić, C.H.G. Müller, K. Meißner, Histochemical evidence of β -chitin in parapodial glandular organs and tubes of Spiophanes (Annelida, Sedentaria: Spionidae), and first studies on selected Annelida, *J Morphol* 276 (2015) 1433–1447. <https://doi.org/10.1002/jmor.20432>.
- [67] Y. Saito, J.L. Putaux, T. Okano, F. Gaill, H. Chanzy, Structural aspects of the swelling of β chitin in HCl and its conversion into α chitin, *Macromolecules* 30 (1997) 3867–3873. <https://doi.org/10.1021/ma961787+>.
- [68] W. Herth, M. Mulisch, P. Zugenmaier, Comparison of chitin fibril structure and assembly in three unicellular organisms, in: R.A.A. Muzzarelli, C. Jeuniaux, W. Gooday, Graham (Eds.), *Chitin in Nature and Technology*, Plenum Press, 1986.
- [69] W. Herth, A. Kuppel, E. Schnepf, Chitinous fibrils in the lorica of the flagellate chrysophyte *Poteriochromonas stipitata* (Syn. *Ochromonas malhamensis*), *Journal of Cell Biology* 73 (1977) 311–321. <https://doi.org/10.1083/jcb.73.2.311>.
- [70] K. Kurita, Chitin and chitosan: Functional biopolymers from marine crustaceans, *Marine Biotechnology* 8 (2006) 203–226. <https://doi.org/10.1007/s10126-005-0097-5>.
- [71] J. McLachlan, A.G. McInnes, M. Falk, Studies on the Chitan (Chitin: Poly-N-Acetylglucosamine) Fibers of the Diatom *Thalassiosira fluviatilis* Hustedt: I Production and Isolation of Chitan Fibers, *Canadian Journal of Botany* 43 (1965) 707–713. <https://doi.org/10.1139/b65-079>.
- [72] N.E. Dweltz, J.R. Colvin, A.G. McInnes, Studies on chitan (β -(1 \rightarrow 4)-linked 2-acetamido-2-deoxy- D -glucan) fibers of the diatom *Thalassiosira fluviatilis* , Hustedt. III. The structure of chitan from x-ray diffraction and electron microscope observations, *Can J Chem* 46 (1968) 1513–1521. <https://doi.org/10.1139/v68-248>.
- [73] G.J.H. Lindsay, G.W. Gooday, Action of chitinase on spines of the diatom *Thalassiosira fluviatilis*, *Carbohydr Polym* 5 (1985) 131–140. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(85\)90030-X](https://doi.org/10.1016/0144-8617(85)90030-X).

- [74] I. Aranaz, M. Mengibar, R. Harris, I. Panos, B. Miralles, N. Acosta, G. Galed, A. Heras, Functional Characterization of Chitin and Chitosan, *Curr Chem Biol* 3 (2012) 203–230. <https://doi.org/10.2174/2212796810903020203>.
- [75] Y.W. Cho, J. Jang, C.R. Park, S.W. Ko, Preparation and solubility in acid and water of partially deacetylated chitins, *Biomacromolecules* 1 (2000) 609–614. <https://doi.org/10.1021/bm000036j>.
- [76] P.S. Murphy, G.R.D. Evans, Advances in Wound Healing: A Review of Current Wound Healing Products, *Plast Surg Int* 2012 (2012) 1–8. <https://doi.org/10.1155/2012/190436>.
- [77] K. Azuma, R. Izumi, T. Osaki, S. Ifuku, M. Morimoto, H. Saimoto, S. Minami, Y. Okamoto, Chitin, Chitosan, and Its Derivatives for Wound Healing: Old and New Materials, 2015. <https://doi.org/10.3390/jfb6010104>.
- [78] R.A.A. Muzzarelli, Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone, *Carbohydr Polym* 76 (2009) 167–182. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.11.002>.
- [79] C.K.S. Pillai, W. Paul, C.P. Sharma, Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation, *Progress in Polymer Science (Oxford)* 34 (2009) 641–678. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.04.001>.
- [80] A. Matica, V. Ostafe, Antibacterial properties of chitin and chitosans, *New Front. Chem* 26 (2017) 39–54.
- [81] M.S. Benhabiles, R. Salah, H. Lounici, N. Drouiche, M.F.A. Goosen, N. Mameri, Antibacterial activity of chitin, chitosan and its oligomers prepared from shrimp shell waste, *Food Hydrocoll* 29 (2012) 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.02.013>.
- [82] N.N. Inamdar, V. Mourya, Chitosan and Low Molecular Weight Chitosan: Biological and Biomedical Applications, in: A. Tiwari, A.N. Nordin (Eds.), *Advanced Biomaterials and Biodevices*, Scrivener Publishing LLC, 2014: pp. 183–242. <https://doi.org/10.1002/9781118774052.ch6>.
- [83] J. Brugnerotto, J. Lizardi, F.M. Goycoolea, W. Argüelles-Monal, J. Desbrières, M. Rinaudo, An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization, *Polymer (Guildf)* 42 (2001) 3569–3580. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(00\)00713-8](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00713-8).

- [84] M. Fan, Q. Hu, K. Shen, Preparation and structure of chitosan soluble in wide pH range, *Carbohydr Polym* 78 (2009) 66–71. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.03.031>.
- [85] C. Duan, X. Meng, J. Meng, M.I.H. Khan, L. Dai, A. Khan, X. An, J. Zhang, T. Huq, Y. Ni, Chitosan as A Preservative for Fruits and Vegetables: A Review on Chemistry and Antimicrobial Properties, *Journal of Bioresources and Bioproducts* 4 (2019) 11–21. <https://doi.org/10.21967/jbb.v4i1.189>.
- [86] M.M.A. Aslam, H.W. Kuo, W. Den, M. Sultan, K. Rasool, M. Bilal, Recent trends of carbon nanotubes and chitosan composites for hexavalent chromium removal from aqueous samples, *Separation Science and Technology (New York)* 15 (2022) 177–207. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90763-7.00006-8>.
- [87] J. Kodali, B. Arunraj, T. Sathvika, A.S.K. Kumar, R. Nagarathnam, Prospective application of diethylaminoethyl cellulose (DEAE-cellulose) with a high adsorption capacity toward the detoxification of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) from water, (2021) 22640–22651. <https://doi.org/10.1039/d1ra03037j>.
- [88] I. Sisu, V. Udrescu, C. Flangea, S. Tudor, N. Dinca, L. Rusnac, A.D. Zamfir, E. Sisu, Synthesis and structural characterization of amino-functionalized polysaccharides, *Central European Journal of Chemistry* 7 (2009) 66–73. <https://doi.org/10.2478/s11532-008-0090-8>.
- [89] I. Cumpstey, Chemical Modification of Polysaccharides, *ISRN Org Chem* 2013 (2013).
- [90] J.Y. Je, S.K. Kim, Antimicrobial action of novel chitin derivative, *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1760 (2006) 104–109. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2005.09.012>.
- [91] J. Je, P. Park, B. Kim, S. Kim, Antihypertensive Activity of Chitin Derivatives, *Biopolymers* 83 (2006) 250–254. <https://doi.org/10.1002/bip>.
- [92] J. Je, Y. Cho, S. Kim, Characterization of (Aminoethyl) chitin / DNA Nanoparticle for Gene Delivery, *Biomacromolecules* 7 (2006) 3448–3451.
- [93] G. He, Z. Wang, H. Zheng, Y. Yin, X. Xiong, R. Lin, Preparation , characterization and properties of aminoethyl chitin hydrogels, *Carbohydr Polym* 90 (2012) 1614–1619. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.07.040>.
- [94] K. Kurita, Y. Koyama, S. Inoue, ((Diethylamino) ethyl) chitins : Preparation and Properties of Novel Aminated Chitin Derivatives1, *Macromolecules* 23 (1990) 2865–2869.

- [95] C. Kim, S. Kim, K. Choi, Synthesis and Antibacterial Activity of Water-soluble Chitin Derivatives, *Polym Adv Technol* 8 (1997) 319–325.
- [96] S. Nishimura, N. Nishi, S. Tokura, Adhesion behaviour of murine lymphocytes on the surface of fibrous chitin and its derivatives, *Int. J. Biol. Macromol.* 7 (1985).
- [97] N. Soleimani, A.M. Mobarez, N. Khoramabadi, Evaluation of proliferation and survival of spleen immune cells treated by Deacetylchitin nanoparticles on breast cancer mouse model, *The Journal of Urmia University of Medical Sciences* 28 (2017).
- [98] F. Ding, X. Qian, Q. Zhang, H. Wu, Y. Liu, L. Xiao, H. Deng, Y. Du, X. Shi, Electrochemically induced reversible formation of carboxymethyl chitin hydrogel and tunable protein release, *New Journal of Chemistry* 39 (2015) 1253–1259. <https://doi.org/10.1039/C4NJ01704H>.
- [99] H. Liu, Q. Yang, L. Zhang, R. Zhuo, X. Jiang, Synthesis of carboxymethyl chitin in aqueous solution and its thermo- and pH-sensitive behaviors, *Carbohydr Polym* (2015). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.025>.
- [100] T.K. Sini, S. Santhosh, P.T. Mathew, Study of the influence of processing parameters on the production of carboxymethylchitin, *Polymer (Guildf)* 46 (2005) 3128–3131. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2005.02.035>.
- [101] S. Satitsri, C. Muanprasat, Chitin and Chitosan Derivatives as Biomaterial Resources for Biological and Biomedical Applications, *Molecules* 25 (2020). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25245961>.
- [102] J. Noguchi, S. Tokura, N. Nishi, Studies on the preparation of chitin fibres, in: R.A.A. Muzzarelli, E.R. Pariser (Eds.), *Proceedings of The First International Conference on Chitin/Chitosan*, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts, 1978.
- [103] J. Dutkiewicz, L. Szosland, M. Kucharska, L. Judkiewicz, R. Ciszewski, Structure-Bioactivity Relationship of Chitin Derivatives—Part I: The Effect of Solid Chitin Derivatives on Blood Coagulation, *J Bioact Compat Polym* 5 (1990) 293–304. <https://doi.org/10.1177/088391159000500305>.
- [104] G. Urbańczyk, B. Lipp-Symonowicz, A. Jeziorny, K. Dorau, A. Wrzosek, S. Kowalska, E. Sztajnert, Fine Structure and Selected Properties of Dry- and Wet-Spun Butyrylchitin Filaments, *Textile Research Journal* 66 (1996) 300–305.

- [105] D. Van Luyen, V. Rossbach, Mixed esters of chitin, *J Appl Polym Sci* 55 (1995) 679–685. <https://doi.org/10.1002/app.1995.070550504>.
- [106] K. Kaifu, N. Nishi, T. Komai, S. Seiichi, O. Somorin, Studies on chitin. V. formylation, propionylation, and butyrylation of chitin, *Polym J* 13 (1981) 241–245. <https://doi.org/10.1295/polymj.13.241>.
- [107] L. Szosland, Synthesis of highly substituted butyryl chitin in the presence of perchloric acid, *J Bioact Compat Polym* 11 (1996) 61–71. <https://doi.org/10.1177/088391159601100105>.
- [108] W. Zhang, Z. Jiang, J. Chi, H. Sun, H. Li, W. Liu, B. Han, A Novel Porous Butyryl Chitin – Animal Derived Hydroxyapatite Composite Scaffold for Cranial Bone Defect Repair, *Molecular Science* 24 (2023).
- [109] R.A.A. Muzzarelli, M. Guerrieri, G. Goteri, C. Muzzarelli, T. Armeni, R. Ghiselli, M. Cornelissen, The biocompatibility of dibutyryl chitin in the context of wound dressings, *Biomaterials* 26 (2005) 5844–5854. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.03.006>.
- [110] L. Szosland, G.C. East, The Dry Spinning of Dibutyrylchitin Fibers, *J Appl Polym Sci* 58 (1995) 2459–2466.
- [111] K. Skołucka-Szary, A. Ramięga, W. Piaskowska, B. Janicki, M. Grala, P. Rieske, E. Stoczyńska-Fidelus, S. Piaskowski, Chitin dipentanoate as the new technologically usable biomaterial, *Materials Science and Engineering C* 55 (2015) 50–60. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.05.051>.
- [112] P. Rameshthangam, D. Solairaj, G. Arunachalam, P. Ramasamy, Chitin and Chitinases: Biomedical And Environmental Applications of Chitin and its Derivatives, *Journal of Enzymes* 1 (2018). <https://doi.org/10.14302/issn.2690>.
- [113] D. Ozdemir, G. Schoukens, O. Goktepe, F. Goktepe, Preparation of Di-Butyryl-Chitin Scaffolds by Using Salt Leaching Method for Tissue Engineering and Their Characteristics, *J Appl Polym Sci* 19 (2008). <https://doi.org/10.1002/app>.
- [114] C. Muzzarelli, O. Francescangeli, G. Tosi, R.A.A. Muzzarelli, Susceptibility of dibutyryl chitin and regenerated chitin fibres to deacylation and depolymerization by lipases, *Carbohydr Polym* 56 (2004) 137–146. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.01.002>.
- [115] P. Kopczaeki, E. Rutkowska-Olma, M. Muszyński, L. Szuster, L. Szosland, G. Janowska, I. Krucińska, P.370755 Sposób otrzymywania dibutyrylochityny, 2004.

- [116] A. Chilarski, L. Szosland, I. Krucińska, P. Kiekens, A. Błasińska, G. Schoukens, R. Cisło, J. Szumilewicz, Novel dressing materials accelerating wound healing made from dibutyrylchitin, *Fibres and Textiles in Eastern Europe* 15 (2007) 77–81.
- [117] S. Pielka, D. Paluch, J. Staniszevska-Kuś, B. Żywicka, L. Solski, L. Szosland, A. Czarny, E. Zaczyńska, Wound Healing Acceleration by a Textile Dressing Containing Dibutyrylchitin and Chitin, *Fibres and Textiles in Eastern Europe* 2 (2003) 79–84.
- [118] <http://www.dibucell.pl/>, (n.d.).
- [119] G.V. De Lucca, H.S. Kezar, J.P. O'Brien, US4833238 High Strength Fibres from Chitin Derivatives, 1989.
- [120] G.V. De Lucca, H.S. Kezar, J.P. O'Brien, US5021207 High Strength Fibres from Chitin Derivatives, 1991.
- [121] Z. Draczyński, Synthesis and Solubility Properties of Chitin Acetate/Butyrate Copolymers, *J Appl Polym Sci* 122 (2011) 175–182. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/app.34031>.
- [122] Z. Draczyński, *Kopolierster butyrylo-acetylowy chityny jako nowy aktywny składnik nanokompozytów polimerowo-włóknistych*, Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, Łódź, 2013.
- [123] W. Sujka, Z. Draczynski, B. Kolesinska, I. Latanska, Z. Jastrzebski, Z. Rybak, B. Zywicka, Influence of Porous Dressings Based on Butyric-Acetic Chitin Co-Polymer on Biological, *Materials* 12 (2019). <https://doi.org/10.3390/ma12060970>.
- [124] Z. Draczyński, M. Boguń, Rabiej, T. Mikołajczyk, G. Szparaga, P. Król, New Generation Butyric-Acetate Copolymer of Chitin (BOC) Fibres with Ceramic HAp and TCP Nanoadditives for the Manufacture of Fibrous Composite Materials, *Fibers and Polymers* 14 (2013) 1107–1117. <https://doi.org/10.1007/s12221-013-1107-2>.
- [125] Z. Draczynski, M. Bogun, W. Sujka, B. Kolesinska, An industrial-scale synthesis of biodegradable soluble in organic solvents butyric–acetic chitin copolyesters, *Advances in Polymer Technology* 37 (2018) 3210–3221. <https://doi.org/10.1002/adv.22090>.
- [126] <https://tricomed.pl/products/medisorb-r-i-medisorb-r-ag/>, (n.d.).

- [127] J.F. Prudden, P. Migel, P. Hanson, L. Friedrich, L. Balassa, The discovery of a potent pure chemical wound-healing accelerator, *The American Journal of Surgery* 119 (1970) 560–564. [https://doi.org/10.1016/0002-9610\(70\)90175-3](https://doi.org/10.1016/0002-9610(70)90175-3).
- [128] L.L. Balassa, Use chitin for promoting wund healing, 3,631,754, 1972. <https://patentimages.storage.googleapis.com/46/d3/94/53a44712495685/US3632754.pdf>.
- [129] N. Berezina, Production and application of chitin, *Physical Sciences Reviews* 1 (2016) 1–8. <https://doi.org/10.1515/psr-2016-0048>.
- [130] M. Kucharska, A. Niekraszewicz, D. Ciechańska, T. Gąsiorowski, M. Struszczyk, aleksandra pluta, A. Rogaczewska, elzbieta wiczak, ilona ploszaj, anna gulbas-diaz, K. Fortuniak, sylwia tarkowska, TROMBOGUARD - FIRST AID WOUND DRESSING, *Progress in the Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives* 16 (2011) 121–130.
- [131] M. Kędzierska, K. Miłowska, The use of chitosan-based biomaterials for the treatment of hard-healing wounds, *Postepy Hig Med Dosw* 73 (2019) 768–781. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0013.6823>.
- [132] J. Denyer, E. Gibson, Use of fibre dressings in children with severe epidermolysis bullosa, *British Journal of Nursing* 24 (2015) S38–S43. <https://doi.org/10.12968/bjon.2015.24.Sup6.S38>.
- [133] E. Szkiler, Dibutyrylochityna w leczeniu ran niegojących się . Opis przypadków i doświadczenia własne, *Biblioteka Faktów* 2 (2019) 3–10.
- [134] L.Y. Chung, R.J. Schmidt, P.F. Hamlyn, B.F. Sagar, A.M. Andrew, T.D. Turner, Biocompatibility of potential wound management products: Fungal mycelia as a source of chitin/chitosan and their effect on the proliferation of human F1000 fibroblasts in culture, *J Biomed Mater Res* 28 (1994) 463–469. <https://doi.org/10.1002/jbm.820280409>.
- [135] L.H. Emara, A.A. El-Ashmawy, N.F. Taha, K.A. El-Shaffei, E.S.M. Mahdey, H.K. El-kholly, Nano-crystalline cellulose as a novel tablet excipient for improving solubility and dissolution of Meloxicam, *J Appl Pharm Sci* 6 (2016) 032–043. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.60205>.
- [136] J. Ali, N. Saigal, S. Baboota, A. Ahuja, Microcrystalline cellulose as a versatile excipient in drug research, *Journal of Young Pharmacists* 1 (2009) 6. <https://doi.org/10.4103/0975-1483.51868>.

- [137] W. Sun, C.C. Sun, A microcrystalline cellulose based drug-composite formulation strategy for developing low dose drug tablets, *Int J Pharm* 585 (2020) 119517. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119517>.
- [138] Y. Sawayanagi, N. Nambu, T. Nagai, Use of chitosan for sustained-release preparations of water-soluble drugs, *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 30 (1982) 4213–4215. <http://www.mendeley.com/research/geology-volcanic-history-eruptive-style-yakedake-volcano-group-central-japan/>.
- [139] Y. Kawashima, A. Kasai, T. Handa, H. Takenaka, S.Y. Lin, Preparation of a prolonged release tablet of aspirin with chitosan, *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 33 (1985) 2107–2113. <https://doi.org/10.1248/CPB.33.2107>.
- [140] C. Yomota, T. Miyazaki, S. Okada, Sustained-release effect of the direct compressed tablet based on chitosan and Na alginate, *Journal of the Pharmaceutical Society of Japan* 114 (1994) 257–263. https://doi.org/10.1248/YAKUSHI1947.114.4_257.
- [141] A. Mitrevej, N. Sinchaipanid, Y. Rungvejhavuttivittaya, V. Kositchaiyong, Multiunit controlled-release diclofenac sodium capsules using complex of chitosan with sodium alginate or pectin, *Pharm Dev Technol* 6 (2001) 385–392. <https://doi.org/10.1081/PDT-100002247>.
- [142] H. Achmad, Y.F. Ramadhany, Effectiveness of Chitosan Tooth Paste from White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to Reduce Number of *Streptococcus Mutans* in the Case of Early Childhood Caries, *Journal of International Dental and Medical Research* 10 (2017) 358–363.
- [143] N. Farhadian, M. Godiny, S. Moradi, A. Hemati, Chitosan / gelatin as a new nano-carrier system for calcium hydroxide delivery in endodontic applications : Development , characterization and process optimization, *Materials Science & Engineering C* 92 (2018) 540–546. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.07.002>.
- [144] A. Carpio-perochena, A. Kishen, R. Felitti, A.Y. Bhagirath, M.R. Medapati, C. Lai, R.S. Cunha, Antibacterial Properties of Chitosan Nanoparticles and Propolis Associated with Calcium Hydroxide against Single- and Multispecies Biofilms: An In Vitro and In Situ Study, *J Endod* (2017) 10–14. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.03.017>.
- [145] T.M.S. Arnaud, B. de Barros Neto, F.B. Diniz, Chitosan effect on dental enamel de-remineralization : An in vitro evaluation, *J Dent* 38 (2010) 848–852. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2010.06.004>.

- [146] J. Zhang, V. Boyes, F. Festy, R.J.M. Lynch, T.F. Watson, A. Banerjee, In-vitro subsurface remineralisation of artificial enamel white spot lesions pre-treated with chitosan, *Dental Materials* (2018). <https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.04.010>.
- [147] J. Zhang, R.J.M. Lynch, T.F. Watson, A. Banerjee, Chitosan-bioglass complexes promote subsurface remineralisation of incipient human carious enamel lesions, *J Dent* 84 (2019) 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2019.03.006>.
- [148] P.T.S. Kumar, C. Ramya, R. Jayakumar, S. V Nair, V. Lakshmanan, Drug delivery and tissue engineering applications of biocompatible pectin – chitin / nano CaCO₃ composite scaffolds, *Colloids Surf B Biointerfaces* 106 (2013) 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.01.048>.
- [149] A.R. Unnithan, A.R.K. Sasikala, C.H. Park, C.S. Kim, A Unique Scaffold for Bone Tissue Engineering: An Osteogenic Combination of Graphene oxide-Hyaluronic acid-Chitosan with Simvastatin, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* (2016). <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2016.10.029>.
- [150] Z. Ge, Z. Jin, T. Cao, Manufacture of degradable polymeric scaffolds for bone regeneration, *Biomed. Mater.* 022001 (3AD). <https://doi.org/10.1088/1748-6041/3/2/022001>.
- [151] A. Lahiji, A. Sohrabi, D.S. Hungerford, C.G. Frondoza, Chitosan supports the expression of extracellular matrix proteins in human osteoblasts and chondrocytes, *J Biomed Mater Res* 51 (2000) 11–16.
- [152] D. Suzuki, M. Takahashi, M. Abe, J. Sarukawa, H. Tamura, S. Tokura, Y. Kurahashi, A. Nagano, Comparison of various mixtures of b -chitin and chitosan as a scaffold for three-dimensional culture of rabbit chondrocytes, *J Mater Sci: Mater Med* 19 (2008) 1307–1315. <https://doi.org/10.1007/s10856-007-3245-9>.
- [153] L. Zhao, Y. Wu, S. Chen, T. Xing, Preparation and characterization of cross-linked carboxymethyl chitin porous membrane scaffold for biomedical applications, *Carbohydr Polym* 126 (2015) 150–155. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.02.050>.
- [154] R. Xu, L.C. Yong, Y.G. Lim, J.P. Obbard, Use of slow-release fertilizer and biopolymers for stimulating hydrocarbon biodegradation in oil-contaminated beach sediments, *Mar Pollut Bull* 51 (2005) 1101–1110. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2005.02.037>.

- [155] E. Lichtfouse, G. Crini, eds., Sustainable Agriculture Reviews 36 Chitin and Chitosan: Applications in Food, Agriculture, Pharmacy, Medicine and Wastewater Treatment, Springer, n.d.
- [156] S.E. Bailey, T.J. Olin, R.M. Bricka, D.D. Adrian, A REVIEW OF POTENTIALLY LOW-COST SORBENTS FOR HEAVY METALS, *Wat. Res.* 33 (1999).
- [157] R.G. Sánchez-Duarte, D.I. Sánchez-Machado, J. López-Cervantes, M.A. Correa-Murrieta, Adsorption of allura red dye by cross-linked chitosan from shrimp waste, *Water Science & Technology* (2012) 618–624. <https://doi.org/10.2166/wst.2012.900>.
- [158] R.G. Sharp, A Review of the Applications of Chitin and Its Derivatives in Agriculture to Modify Plant-Microbial Interactions and Improve Crop Yields, *Agronomy* 3 (2013) 757–793. <https://doi.org/10.3390/agronomy3040757>.
- [159] A. El Ghaouth, J. Arul, A. Asselin, N. Benhamou, Antifungal activity of chitosan on post-harvest pathogens: induction of morphological and cytological alterations in *Rhizopus stolonifer*, *Mycol Res* 96 (1992) 769–779. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80447-4](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80447-4).
- [160] D. Sivakumar, Y. Sultanbawa, N. Ranasingh, R. Wijesundera, Effect of the combined application of chitosan and carbonate salts on the incidence of anthracnose and on the quality of papaya during storage, *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 80 (2005). <https://doi.org/10.1080/14620316.2005.11511958>.
- [161] H.S. Hajizadeh, R. Dadashzadeh, S. Azizi, G.R. Mahdavinia, O. Kaya, Effect of Chitosan nanoparticles on quality indices, metabolites, and vase life of *Rosa hybrida* cv. Black magic, *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 7 (2023) 1–17. <https://doi.org/10.1186/s40538-023-00387-7>.
- [162] Z. Draczyński, Kopoliester Butyrylo-Acetylowy Chityny Jako Nowy Aktywny Składnik Nanokompozytów Polimerowo-Włóknistych, *Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, Zeszyty Naukowe* (2013).
- [163] F.S. Rocha, A.J. Gomes, C.N. Lunardi, S. Kaliaguine, G.S. Patience, Experimental methods in chemical engineering: Ultraviolet visible spectroscopy—UV-Vis, *Canadian Journal of Chemical Engineering* 96 (2018) 2512–2517. <https://doi.org/10.1002/cjce.23344>.

- [164] F. Bloch, W.W. Hansen, M. Packard, The Nuclear Experiment, *Physical Review* 70 (1946) 474–485.
- [165] T.D.W. Claridge, *High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry*, Elsevier, 2016. <https://doi.org/10.1016/C2015-0-04654-8>.
- [166] H. Freibolin, *Basic One- and Two-Dimensional NMR Spectroscopy*, 5th, Completely Revised and Updated Edition, 2010.
- [167] K. Wüthrich, *NMR of Proteins and Nucleic Acids*, Wiley, 1986.
- [168] H. Günther, *NMR Spectroscopy - Basic Principles, Concepts, and Applications in Chemistry*, Wiley VCH, Weinheim, Germany, 2013.
- [169] S.K. Bharti, R. Roy, Quantitative ¹H NMR spectroscopy, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 35 (2012) 5–26. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.02.007>.
- [170] T. Mezger, For users of rotational and oscillatory rheometers, Vincentz Network, Hannover, Germany, 2020. <https://doi.org/doi:10.1515/9783748603702>.
- [171] C.W. Macosko, *Rheology: Principles, Measurements, and Applications*, Wiley, 1996.
- [172] ISO, PN-EN ISO 5079:2021-03 “Textiles - Fibers - Determination of breaking strength and elongation for single fibers,” (2021).
- [173] PN ISO 1973:2021 “Textile fibres — Determination of linear density — Gravimetric method and vibroscope method,” 2021.
- [174] PN-EN 13726-1:2005 “Metody badania bezpośrednich opatrunków ran - Część 1: Aspekty dotyczące chłonności,” 2005.
- [175] ISO 22196:2011 Measurement of antibacterial activity on plastics and other non-porous surfaces, n.d.
- [176] S. Farmer, General Mechanism of Anhydride Reactions, (n.d.). [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Organic_Chemistry\)/Anhydrides/Reactivity_of_Anhydrides/General_Mechanism_of_Anhydride_Reactions](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Supplemental_Modules_(Organic_Chemistry)/Anhydrides/Reactivity_of_Anhydrides/General_Mechanism_of_Anhydride_Reactions) (accessed December 4, 2024).
- [177] T. Soderberg, 11.2: Carboxylic Acid Derivatives, (n.d.). [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Book%3A_Organic_Chemistry_with_a_Biological_Emphasis_v2.0_\(Soderberg\)/11%3A_Nucleophilic_Acyl_Substitution_Reactions/11.02%3A_Carboxylic_Acid_Derivatives](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Book%3A_Organic_Chemistry_with_a_Biological_Emphasis_v2.0_(Soderberg)/11%3A_Nucleophilic_Acyl_Substitution_Reactions/11.02%3A_Carboxylic_Acid_Derivatives) (accessed December 4, 2024).

- [178] D. Stawski, S. Rabiej, L. Herczyńska, Z. Draczyński, Thermogravimetric analysis of chitins of different origin, *J Therm Anal Calorim* 93 (2008) 489–494. <https://doi.org/10.1007/s10973-007-8691-6>.
- [179] D. Stawski, S. Rabiej, L. Herczyńska, Z. Draczyński, Thermogravimetric Analysis of Chitins of Different Origin, *J Therm Anal Calorim* 93 (2008) 489–494.
- [180] M. Dziubiński, T. Kiljański, J. Sęk, *Podstawy teoretyczne i metody pomiarowe reologii*, Monografie Politechniki Łódzkiej, 2014.
- [181] J. Sherwood, F. Albericio, B.G. de la Torre, N,N-Dimethyl Formamide European Restriction Demands Solvent Substitution in Research and Development, *ChemSusChem* 17 (2024). <https://doi.org/10.1002/cssc.202301639>.
- [182] S.-J. Hong, X.-N. Zhang, Z. Sun, T. Zeng, The potential health risks of N,N-dimethylformamide: An updated review, *Journal of Applied Toxicology* 44 (2024) 1637–1646. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jat.4590>.
- [183] S.L. Baum, A.J. Suruda, Toxic Hepatitis from Dimethylacetamide, *Int J Occup Environ Health* (2013).
- [184] B. Kollerup Madsen, M. Hilscher, D. Zetner, J. Rosenberg, Adverse reactions of dimethyl sulfoxide in humans: a systematic review, *F1000Res* 7 (2018). <https://doi.org/10.12688/f1000research.16642.2>.
- [185] B. Le Daré, T. Gicquel, *Therapeutic Applications of Ethanol: A Review*, 2019. www.cspsCanada.org.
- [186] T. Mikołajczyk, Modification of the Manufacturing Process of Polyacrylonitrile Fibres, *Scientific Bulletin of Technical University of Lodz* 781 (n.d.).
- [187] H.A. Sturges, The Choice of a Class Interval, *J Am Stat Assoc* 21 (1926) 65–66. <https://doi.org/10.1080/01621459.1926.10502161>.
- [188] H.E. Daniels, Exact saddlepoint approximations, *Biometrika* 67 (1980) 59–63. <https://doi.org/10.1093/biomet/67.1.59>.
- [189] M. Lavorgna, F. Piscitelli, P. Mangiacapra, G.G. Buonocore, Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films, *Carbohydr Polym* 82 (2010) 291–298. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.04.054>.

- [190] K. Patel, A. Palmer, R. Nixon, Allergic contact dermatitis from propylene glycol: A case series from Australia, *Contact Dermatitis* 89 (2023) 79–84. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/cod.14325>.
- [191] B. Dryhval, Y. Husak, O. Sulaieva, V. Deineka, M. Pernakov, M. Lyndin, A. Romaniuk, W. Simka, M. Pogorielov, In Vivo Safety of New Coating for Biodegradable Magnesium Implants, *Materials* 16 (2023). <https://doi.org/10.3390/ma16175807>.

SPIS RYSUNKÓW

Rys. 1 Fragmenty cząsteczek polisacharydów przedstawiające różne rodzaje rozgałęzień [1].....	13
Rys. 2 Źródła chityny	17
Rys. 3 Schemat pozyskiwania chityny ze skorupiaków.....	22
Rys. 4 Schemat pozyskiwania chityny z grzybów	22
Rys. 5 Schemat pozyskiwania chityny z insektów.....	23
Rys. 6 Struktura cząsteczki chityny w porównaniu do zbliżonych polisacharydów	24
Rys. 7 Formy krystaliczne chityny.....	25
Rys. 8 Reakcja syntezy chitozanu [86]	28
Rys. 9 Reakcja syntezy aminochityny.....	29
Rys. 10 Reakcja syntezy karboksymetylochityn [99].....	30
Rys. 11 Struktura acetylochityny [103].....	31
Rys. 12 Reakcja syntezy butyrylochityny [108]	32
Rys. 13 Struktura dibutyrylochityny [113].....	33
Rys. 14 Struktura butyryloacetylochityny [123]	35
Rys. 15 Schemat syntezy butyrylo-bursztyno chityny	44
Rys. 16 Reakcja syntezy butyrylo-bursztyno chityny	44
Rys. 17 Schemat urządzenia do elektroprzędzenia	46
Rys. 18 Schemat badania właściwości sorpcyjnych	53
Rys. 19 Schemat procesu syntezy z użyciem kwasu nadchlorowego.....	58
Rys. 20 Widmo FTIR butyrylo-bursztyno chityny syntezowanej z użyciem kwasu nadchlorowego.....	59
Rys. 21 Schemat procesu syntezy z użyciem kwasu metanosulfonowego.....	60
Rys. 22 Widma FTIR ATR butyrylo-bursztyno chityny syntezowanej z użyciem kwasu metanosulfonowego- metoda I.....	62
Rys. 23 Widma FTIR ATR butyrylo-bursztyno chityny syntezowanej z użyciem kwasu metanosulfonowego- metoda I.....	62
Rys. 24 Widmo ^1H NMR produktu syntezy 1a.....	63
Rys. 25 Widmo ^1H NMR produktu syntezy 2a.....	64
Rys. 26 Widma wytworzonych polimerów w odniesieniu do chityny z krewetek . 68	

Rys. 27	Obszar występowania nowych wiązań w wytworzonych polimerach w odniesieniu do chityny z krewetek.....	70
Rys. 28	Widmo ^1H NMR dla BSC 90/10.....	73
Rys. 29	Widma ^1H NMR dla BSC 80/20.....	73
Rys. 30	Widmo ^1H NMR dla BSC 70/30.....	74
Rys. 31	Rys. Widma ^1H NMR dla BSC 60/40.....	74
Rys. 32	Krzywe termogravimetryczne dla BSC 90/10 i 80/20	76
Rys. 33	Krzywe termogravimetryczne dla BSC 70/30 i BSC 60/40	77
Rys. 34	Obrazy SEM włókien z BSC 90/10	92
Rys. 35	Obrazy SEM włókien z BSC 80/20.....	93
Rys. 36	Obrazy SEM włókien z BSC 70/30.....	94
Rys. 37	Obrazy SEM włókien z BSC 60/40.....	95
Rys. 38	Materiał wytworzony z produktu syntezy BSC 90/10 przy napięciu 25 kV	97
Rys. 39	Materiał wytworzony z produktu syntezy BSC 90/10 przy napięciu 35 kV	97
Rys. 40	Materiał wytworzony z produktu syntezy BSC 90/10 przy napięciu 45 kV	97
Rys. 41	Obrazy SEM włókien wytworzonych metodą elektroprzędzenia z BSC 90/10	99
Rys. 42	Obrazy SEM włókien wytworzonych metodą elektroprzędzenia z BSC 80/20	100
Rys. 43	Obrazy SEM włókien wytworzonych metodą elektroprzędzenia z BSC 70/30	101
Rys. 44	Obrazy SEM włókien wytworzonych metodą elektroprzędzenia z BSC 60/40	102
Rys. 45	Chłonność porowatych struktur w zależności od ilości zastosowanego porogenu	107
Rys. 46	Wpływ dodatku glikolu polipropylenowego na chłonność próbek	108
Rys. 47	Porównanie chłonności struktur porowatych z różnych pochodnych chityny	109
Rys. 48	Materiał porowaty poddany procesowi suszeniu pod promiennikiem... ..	111

SPIS TABEL

Tabela 1 Klasyfikacja polisacharydów [1]	15
Tabela 2 Zależność składu chityny od źródła jej pozyskiwania [27].....	19
Tabela 3 Minimalne stężenie hamujące chityny i jej pochodnych	27
Tabela 4 Stosunek molowy bezwodnika kwasu masłowego i bezwodnika kwasu bursztynowego w zależności od wariantu syntezy	57
Tabela 5 Stosunek molowy bezwodnika kwasu masłowego i bezwodnika kwasu bursztynowego w zależności od wariantu syntezy	60
Tabela 6 Sygnały protonów w widmie ^1H NMR produktu syntezy 1a	63
Tabela 7 Sygnały protonów w widmie ^1H NMR produktu syntezy 2a.....	64
Tabela 8 Stopnie podstawienia	65
Tabela 9 Stosunek molowy bezwodnika kwasu masłowego i bezwodnika kwasu bursztynowego w zależności od wariantu syntezy	67
Tabela 10 Sygnały protonowe	70
Tabela 11 Stopień podstawienia grupami butyrylowymi i bursztynowymi	71
Tabela 12 Temperatury utraty masy dla badanych próbek	78
Tabela 13 Średnia wartość kąta zwilżania	80
Tabela 14 Aktywność antybakteryjna próbek.....	82
Tabela 15 Wartości parametrów k i n dla różnych rozpuszczalników butyrylo-bursztyno chityny dla BSC 90/10	84
Tabela 16 Parametry reologiczne 7% roztworów BSC w DMSO i EtOH.....	85
Tabela 17 Parametry k i n dla roztworów butyrylo-bursztyno chityny w alkoholu etylowym w zależności od temperatury.....	87
Tabela 18 Zestawienie właściwości mechanicznych wytworzonych włókien	89
Tabela 19 Parametry statystyczne średnicy włókien wytworzonych z produktów syntezy 1b, 2b, 3b oraz 4b.....	104
Tabela 20 Próbki wytworzone bez użycia porogenu	112
Tabela 21 Próbki wytworzone z użyciem 70% porogenu w stosunku do masy próbki.....	113
Tabela 22 Próbki wytworzone z użyciem 90% porogenu w stosunku do masy próbki.....	114
Tabela 23 Parametry statystyczne średnicy porów w wytworzonych materiałach porowatych przy 70% użytego porogenu	115

Tabela 24 Parametry statystyczne średnicy porów w wytworzonych materiałach porowatych z produktów syntezy przy 90% użytego porogenu116