

**Uniwersytet Humanistyczno – Przyrodniczy
im. Jana Długosza w Częstochowie
Wydział Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych**



mgr inż. Kamila Lewicka

**Otrzymywanie biodegradowalnych polimerów
i mieszanin polimerowych oraz ocena ich przydatności dla zastosowań
w systemach kontrolowanego uwalniania w agrochemii**

Synthesis of biodegradable polymers and polymer blends and evaluation
their suitability for use in controlled release systems in agrochemicals

*Rozprawa doktorska przygotowana w Katedrze
Biochemii, Biotechnologii i Ekotoksykologii,
Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego
im. Jana Długosza w Częstochowie pod kierunkiem
dr hab. Piotra Dobrzyńskiego prof. UJD oraz
dr Piotra Rychtera prof. UJD*

Częstochowa 2020



Praca finansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki w wyniku realizacji projektu badawczego PRELUDIUM 13 o nr 2017/25/N/ST5/01794 w latach 2017-2020

Podziękowanie

Pragnę serdecznie podziękować Wszystkim, którzy przyczynili się do powstania tej pracy oraz wyrazić wdzięczność za okazaną pomoc, a w szczególności:

*– mojemu promotorowi **dr hab. Piotrowi Dobrzyńskiemu prof. UJD**, za opiekę naukową, życzliwość, cenne uwagi oraz poświęcony czas*

*- mojemu promotorowi pomocniczemu **dr Piotrowi Rychterowi prof. UJD** za cenne uwagi oraz poświęcony czas*

– koleżankom i kolegom z Wydziału Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych Uniwersytetu Humanistyczno – Przyrodniczego im. Jana Długosza w Częstochowie oraz z Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych PAN w Zabrze za pomoc, miłą i życzliwą atmosferę,

– mojej Mamie oraz Narzeczonemu za wsparcie, wiarę we mnie, troskę i pomoc

STRESZCZENIE	7
SUMMARY	9
WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW I SYMBOLI	11
WPROWADZENIE	15
I. CZĘŚĆ TEORETYCZNA	20
1.1. Problemy wynikające z zanieczyszczenia środowiska agrochemikaliami	21
1.1.1. Metazachlor - aktywność chwastobójcza oraz wpływ na środowisko	31
1.1.2. Pendimetalina - aktywność chwastobójcza oraz wpływ na środowisko	32
1.2. Biodegradowalne polimery i mieszaniny polimerowe, metoda otrzymywania, własności	34
1.2.1. Poli(L-laktyd) i kopolimery laktydu	34
1.2.1.1. Poli(laktyd- <i>ko</i> -glikolid)	48
1.2.1.2. Poli(L-laktyd- <i>ko</i> -politlenek etylenu)	50
1.2.1.3. Poli(L-laktyd- <i>ko</i> -kaprolakton)	51
1.2.2. Kopolimery szczepione na polisacharydach	52
1.2.3. Biodegradowalne mieszaniny polimerowe zawierające polisacharydy	54
1.3. Degradacja polimerów	57
1.3.1. Mechanizm degradacji i czynniki przyspieszające ten proces	57
1.3.2. Przebieg degradacji poli(L-laktydu) i kopolimerów L-laktydu	60
1.3.2.1. Przebieg degradacji poli(L-laktydu).....	60
1.3.2.2. Przebieg degradacji kopolimeru poli(L-laktyd- <i>ko</i> -politlenek etylenu).....	64
1.3.2.3. Przebieg degradacji kopolimeru poli(laktyd- <i>ko</i> -glikolid).....	65
1.3.3. Przebieg degradacji kopolimerów szczepionych na polisacharydach	66
1.3.4. Degradacja mieszanin polimerowych	67
1.4. Kierunki zastosowań polimerów biodegradowalnych w rolnictwie	71
1.4.1. Folie oraz włókniny ściółkujące	71
1.4.2. Polimery superchłonne (hydrożele)	75
1.4.3. Systemy kontrolowanego uwalniania pestycydów	77
II. CEL I ZAKRES PRACY	84
2.1. Cel i tezy pracy	85
2.2. Zakres pracy	86
III. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA	88
3.1. Stosowane materiały	89
3.1.1. Monomery, oligosacharydy	89
3.1.2. Inicjatory/ Katalizatory	89
3.1.3. Herbicydy	89
3.1.4. Rozpuszczalniki	89
3.1.5. Pozostałe materiały.....	90

3.2. Stosowane techniki instrumentalne oraz metody analityczne	91
3.2.1. Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR)	91
3.2.2. Chromatografia żelowa (GPC)	91
3.2.3. Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC).....	91
3.2.4. Spektrofotometria absorpcyjna w podczerwieni (FTIR)	92
3.2.5. Spektroskopia UV-VIS	92
3.2.6. Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM)	92
3.2.7. Mikroskopia optyczna	92
3.2.8. Analiza kąta zwilżania wodą	92
3.2.9. Dyfrakcja rentgenowska szerokokątowa (WAXD)	92
3.2.10. Degradacja w wodzie, glebie i osadzie czynnym	93
3.2.10.1. Degradacja w wodzie	93
3.2.10.2. Degradacja w glebie	93
3.2.10.3. Degradacja w osadzie czynnym	94
3.2.11. Pomiar chłonności wody i ubytku masy próbki	95
3.2.12. Uwalnianie herbicydów <i>in vitro</i> w wodzie i glebie	95
3.2.13. Ocena aktywności chwastobójczej w glebie	96
3.2.14. Ocena toksyczności produktów degradacji nośników polimerowych przy użyciu metod oznaczania biologicznego	97
3.2.15. Analiza wielkości mikrosfer	98
3.2.16. Oznaczanie zawartości herbicydów w syntetyzowanych mikrosferach i w medium.....	98
3.2.17. Ocena morfologii próbek degradowanej folii, mikrosfer.....	98
IV. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ	100
4.1. Otrzymywanie materiałów polimerowych	101
4.1.1. Synteza kopolimeru L-laktyd- <i>ko</i> -glikolid.....	101
4.1.2. Synteza terpolimeru poli(L-laktyd- <i>ko</i> -glikolid)- <i>blok</i> - poli(tlenek etylenu)	101
4.1.3. Synteza kopolimerów szczepionych	102
4.1.4. Formowanie mieszanin polimerowych	103
4.1.5. Formowanie mikrosfer	104
4.2. Właściwości i przebieg syntezy kopolimeru L-laktyd-<i>ko</i>-glikolid i terpolimerów poli(L-laktyd-<i>ko</i>-glikolid)-<i>blok</i>- poli(tlenek etylenu)	105
4.2.1. Degradacja terpolimerów	110
4.2.2. Uwalnianie herbicydów z terpolimerów.....	121
4.2.2.1. Uwalnienie metazachloru	122
4.2.2.2. Uwalnienie pendimetaliny	126
4.3. Szczepienie dekstryny i maltodekstryny z ϵ-kaprolaktonem	131

4.3.1.	Właściwości mieszanin PLGA-PEG-PLGA/dekstryna- <i>graft</i> -PCL i PLGA-PEG-PLGA/maltodekstryna- <i>graft</i> -PCL	138
4.3.2.	Degradacja mieszanin polimerowych	144
4.3.3.	Uwalnienie herbicydów z matryc wykonanych z mieszanin polimerowych	153
4.3.3.1.	Uwalnienie metazachloru	153
4.3.3.2.	Uwalnienie pendimetaliny	157
4.4.	Mikrosfery formowane z mieszanin PLGA-PEG-PLGA/dekstryna-<i>graft</i>-PCL i PLGA-PEG-PLGA/maltodekstryna-<i>graft</i>-PCL.....	163
4.4.1.	Degradacja mikrosfer	165
4.4.2.	Uwalnianie herbicydów z wytworzonych mikrosfer	170
4.4.3.	Oznaczanie aktywności chwastobójczej mikrosfer zawierających herbicydy	171
4.4.4.	Ocena toksyczności produktów degradacji nośników polimerowych w glebie.....	178
V.	PODSUMOWANIE I WNIOSKI	182
VI.	LITERATURA CYTOWANA	188
VII.	SPIS RYSUNKÓW, SCHEMATÓW I TABEL.....	213
VIII.	DOROBEK NAUKOWY	220

STRESZCZENIE

Rozwój produkcji rolnej i gospodarki żywnościowej nieodłącznie związany jest ze stosowaniem środków ochrony roślin. Zaostrzające się przepisy dotyczące zapewnienia wysokiego poziomu ochrony zdrowia ludzi i zwierząt oraz środowiska wymusza potrzebę poszukiwania nowych rozwiązań, które mają na celu zminimalizowanie negatywnego wpływu nadmiernie wprowadzanych do środowiska, toksycznych chemikaliów, szczególnie pestycydów.

W związku z tym celem niniejszej rozprawy doktorskiej było opracowanie składu oraz warunków syntezy biodegradowalnych kopolimerów przydatnych w formowaniu matryc i mikrocząstek będących nośnikami środków ochrony roślin w procesach ich kontrolowanego doglebowego uwalniania. Zasadniczo uzyskano typ biodegradowalnego nośnika polimerowego na bazie terpolimerów blokowych laktydu, glikolidu i poli(tlenku etylenu) otrzymanych na drodze polimeryzacji z otwarciem pierścienia (ROP). Terpolimery te następnie wprowadzono jako składnik kompatybilnych mieszanin polimerowych utworzonych z pochodnymi odpowiednio modyfikowanych w reakcji szczywienia z ϵ -kapolaktonem oligosacharydów takich jak dekstryny i maltodekstryny.

W literaturowej części rozprawy przedstawiono problemy wynikające z zanieczyszczenia środowiska środkami ochrony roślin, ze szczególnym uwzględnieniem powszechnie stosowanych w rolnictwie dwóch herbicydów doglebowych metazachloru i pendimetaliny. Scharakteryzowano biodegradowalne polimery i mieszaniny polimerowe w tym poli(laktyd) i jego kopolimery, kopolimery szczywione na polisacharydach oraz biodegradowalne mieszaniny polimerowe zawierające polisacharydy. Szczegółowo przeanalizowano mechanizm i czynniki wpływające na degradację polimerów oraz mieszanin polimerowych, a także omówiono kierunki zastosowań polimerów biodegradowalnych w rolnictwie.

Część doświadczalna zawiera cel i koncepcję rozprawy doktorskiej, zestawienie wszystkich materiałów zastosowanych w pracy badawczej, technik instrumentalnych oraz metod analitycznych stosowanych w trakcie charakterystyki otrzymanych polimerów. Kolejno w pracy opisano przebieg syntezy poszczególnych materiałów polimerowych oraz dokonano charakterystyki otrzymanych materiałów. Przedstawiono także wyniki badań procesu degradacji wybranych materiałów polimerowych w glebie, wodzie oraz w osadzie czynnym oraz scharakteryzowano profile uwalniania wybranych modelowych herbicydów doglebowych metazachloru i pendimetaliny. Z wybranych

materiałów otrzymano także mikrosfery które zostały scharakteryzowane i poddane badaniom degradacji i wyznaczenia profilu uwalniania herbicydów oraz poddane wstępnej ocenie aktywności chwastobójczej na wyselekcjonowanych gatunkach powszechnie znanych jako uciążliwe dla upraw, a ponadto dokonano oceny toksyczności produktów degradacji nośników polimerowych przy użyciu metod oznaczania biologicznego.

Ponieważ skład otrzymanych matryc polimerowych opracowano w taki sposób, aby umożliwić wraz z jednoczesną degradacją nośnika jak najbardziej efektywne uwalnianie składnika aktywnego w ilości pozwalającej na skuteczne zahamowanie wzrostu niepożądanego roślino udowodniono, że proponowany system kontrolowanego uwalniania dla rolnictwa i ogrodnictwa pozwala na przedłużenie okresu stabilności stężonych czynników aktywnych, a także przyczynia się do redukcji intensywnych zabiegów pestycydowych. Ponadto zaproponowane systemy powinny znacząco zmniejszyć negatywny wpływ pestycydów na ludzi, faunę, florę ze względu na zmniejszenie ilości stosowanych dawek agrochemikaliów do środowiska.

SUMMARY

The development of agricultural production and food economy is inherently related to the use of plant protection products. The tightening regulations on ensuring a high level of protection of human and animal health and the environment force the need to look for new solutions aimed at minimizing the negative impact of toxic chemicals, especially pesticides, which are excessively introduced into the environment.

Therefore, the aim of this PhD thesis was to develop the composition and conditions for the synthesis of biodegradable copolymers useful in forming matrices and microparticles carrying plant protection products in the processes of their controlled soil release. Basically, a type of biodegradable polymer support was obtained, based on lactide, glycolide and polyethylene oxide block terpolymers obtained by ring-opening polymerization (ROP). These terpolymers were then incorporated as a component of compatible polymer mixtures formed with derivatives of appropriately modified ϵ -caprolactone grafting oligosaccharides such as dextrans and maltodextrins.

The literature part of the dissertation presents problems resulting from environmental pollution with plant protection products, with particular emphasis on the two soil herbicides, metazachlor and pendimethalin, commonly used in agriculture. Biodegradable polymers and polymer blends, including poly (lactide) and its copolymers, polysaccharide grafted copolymers and biodegradable polymer mixtures containing polysaccharides, were characterized. The mechanism and factors influencing the degradation of polymers and polymer blends were analyzed in detail, and the directions of application of biodegradable polymers were discussed in agriculture.

The experimental part includes the purpose and concept of the PhD thesis dissertation, a list of all materials used in the research, instrumental techniques and analytical methods used during the characterization of the obtained polymers. The course of the synthesis of individual polymer materials was described in turn and the materials obtained were characterized. The results of the research on the degradation of selected polymer materials in soil, water and activated sludge were also presented, and the release profiles of selected model soil herbicides metazachlor and pendimethalin were characterized. The selected materials were also used to obtain microspheres that were characterized and subjected to degradation tests and determination of the herbicide release profile, and subjected to preliminary evaluation of herbicidal activity on selected

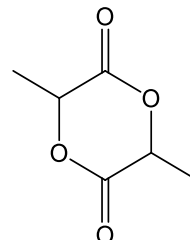
species commonly known as nuisance to crops, and the toxicity of degradation products of polymer carriers was assessed using biological assay methods.

As the composition of the obtained polymer matrices was developed in such a way as to enable, along with the degradation of the carrier, the most effective release of the active ingredient in an amount that would effectively inhibit the growth of the undesirable plant, it was proved that the proposed controlled release system for agriculture and horticulture allows you to extend the period of stability of concentrated active agents, and also contributes to the reduction of intensive pesticide treatments. Moreover, the proposed systems should significantly reduce the negative impact of pesticides on humans, fauna and flora due to the reduction of the amount of agrochemicals applied to the environment.

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW I SYMBOLI

Monomery i polimery:

LA – L-laktyd, (3s)-cis-3,6-dimetylo-1,4-dioxan-2,5-dion

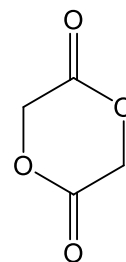


LL – laktydyl, $-\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CO}-$

L – laktyl $-\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CO}-$

PLA – poli-L-laktyd

GA – glikolid, 1,4-dioxan-2,5-dion



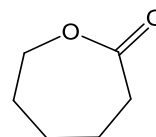
GG – glikolidyl $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CO}-$

G – glikolil $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CO}-$

PEG – poli(tlenek etylenu), $\text{H}-\text{O}-[-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-]_n-\text{H}$

mPEG – etrer metylowy poli(tlenku etylenu), $\text{H}_3\text{C}-\text{O}-[-\text{CH}_2-\text{CH}_2-]_n-\text{OH}$

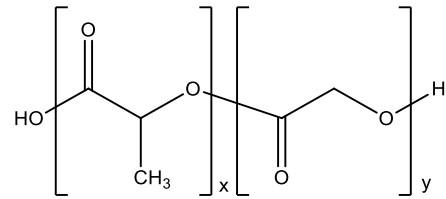
ϵ -CL – ϵ -kapolakton, 2-oksepanon



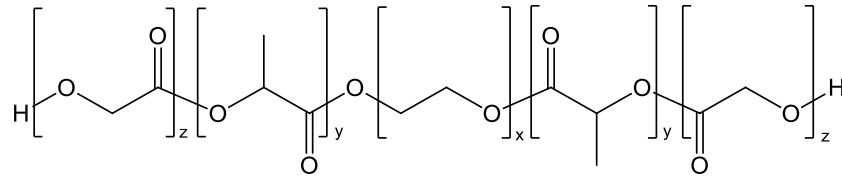
Cap – kaproil, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-$

PCL – poli- ϵ -kapolaton

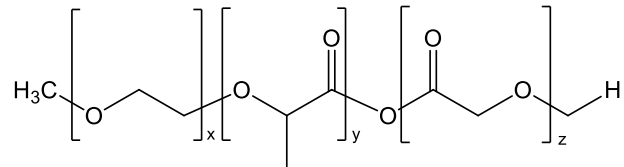
PLGA – kopolimer poli(L-laktyd-*ko*-glikolid)



PLGA-PEG-PLGA – terpolimer poli(L-laktyd-*ko*-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu)

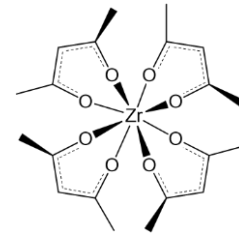


PEG-PLGA – terpolimer poli(L-laktyd-*ko*-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu)



Inicjatory:

Zr(acac)₄ – acetyloacetonian cyrkonu (IV), tetra(2,4-pentanodionat-O,O') cyrkonu (IV)



Techniki pomiarowe:

FTIR – spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera

NMR – magnetyczny rezonans jądrowy

¹H NMR – protonowy rezonans jądrowy

¹³C NMR – węglowy rezonans jądrowy

DSC – różnicowa kalorymetria skaningowa

GPC – chromatografia żelowa

SEM – skaningowa mikroskopia elektronowa

WAXD – szerokokątowa dyfraktometria rentgenowska

Pozostałe skróty:

T_g – temperatura zeszklenia

T_m – temperatura topnienia

ΔH_m – ciepło topnienia

T_c – temperatura krystalizacji

M_n – liczbowo średnia masa molowa

M_w – wagowo średnia masa molowa

(Đ) – stopień dyspersji mas cząsteczkowych

ROP – polimeryzacja z otwarciem pierścienia

Met – metazachlor

Pen – pendimetalina

Symbole nadane syntezowanym polimerom:

LA/GL/PEG – terpolimer poli(L-laktyd-*ko*-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu)

LA/GL/10%PEG4600 – terpolimer poli(L-laktyd-*ko*-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu) z 10% wag. zawartością PEG4600

LA/GL/20%PEG4600 – terpolimer poli(L-laktyd-*ko*-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu) z 20% wag. zawartością PEG4600

LA/GL/10%PEG10000 – terpolimer poli(L-laktyd-*ko*-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu) z 10% wag. zawartością PEG10 000

LA/GL/20%PEG10000 – terpolimer poli(L-laktyd-*ko*-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu) z 20% wag. zawartością PEG10 000

LA/GL/10%mPEG5000 – terpolimer poli(L-laktyd-*ko*-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu) z 10% wag. zawartością mPEG5000

LA/GL/20%mPEG5000 – terpolimer poli(L-laktyd-*ko*-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu) z 20% wag. zawartością mPEG5000

1D – (LA/GA/20% PEG4600) + (D-g-PCL; $R_{dex} = 70$ wt.%) – poli(L-laktyd-ko-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu)-*blend*-dekstryna-*graft*-PCL – w proporcji 70/30

2D – (LA/GA/20% PEG4600) + (D-g-PCL; $R_{dex} = 70$ wt.%) – poli(L-laktyd-ko-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu)-*blend*-dekstryna-*graft*-PCL – w proporcji 50/50

10D – (LA/GA/20% PEG4600) + (D-g-PCL; $R_{dex} = 31$ wt.%) – poli(L-laktyd-ko-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu)-*blend*-dekstryna-*graft*-PCL – w proporcji 70/30

11D – (LA/GA/20% PEG4600) + (D-g-PCL; $R_{dex} = 31$ wt.%) – poli(L-laktyd-ko-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu)-*blend*-dekstryna-*graft*-PCL – w proporcji 50/50

OD1 – (LA/GA/20% PEG4600) + D.NIEMODYFIKOWANA – poli(L-laktyd-ko-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu)-*blend*-dekstryna – w proporcji 70/30

OD2 – (LA/GA/20% PEG4600) + D. NIEMODYFIKOWANA – poli(L-laktyd-ko-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu)-*blend*-dekstryna – w proporcji 50/50

1M – (LA/GA/20% PEG4600) + (M-g-PCL; $R_{dex} = 38$ wt.%) – poli(L-laktyd-ko-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu)-*blend*-maltodekstryna-*graft*-PCL – w proporcji 70/30

2M – (LA/GA/20% PEG4600) + (M-g-PCL; $R_{dex} = 38$ wt.%) – poli(L-laktyd-ko-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu)-*blend*-maltodekstryna-*graft*-PCL – w proporcji 50/50

11M – (LA/GA/20% PEG4600) + (M-g-PCL; $R_{dex} = 20$ wt.%) – poli(L-laktyd-ko-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu)-*blend*-maltodekstryna-*graft*-PCL – w proporcji 50/50

OM1 – (LA/GA/20% PEG4600) + M. NIEMODYFIKOWANA – poli(L-laktyd-ko-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu)-*blend*-maltodekstryna – w proporcji 70/30

OM2 – (LA/GA/20% PEG4600) + M. NIEMODYFIKOWANA – poli(L-laktyd-ko-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu)-*blend*-maltodekstryna – w proporcji 50/50

PLGA-PEG-PLGA/dekstryna-*graft*-PCL –terpolimer poli(L-laktyd-ko-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu)-*blend*-dekstryna-*graft*-PCL – mieszanina polimerowa terpolimeru poli(L-laktyd-ko-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu) 20% wag. zawartość PEG4600 z dekstryną szczepioną z ϵ -kapolaktonem – dalej dla uproszczenia oznaczany **TER/dekstryna**

PLGA-PEG-PLGA/maltodekstryna-*graft*-PCL – terpolimer poli(L-laktyd-ko-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu)-*blend*-maltodekstryna-*graft*-PCL – mieszanina polimerowa (terpolimer poli(L-laktyd-ko-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu) z 20% wag. zawartością PEG4600) z maltodekstryną szczepioną z ϵ -kapolaktonem – dalej dla uproszczenia oznaczany **TER/maltodekstryna**

Wprowadzenie

Globalnym problemem zintensyfikowanej produkcji roślinnej jest stale wzrastający poziom zanieczyszczenia środowiska naturalnego, spowodowany nadmiernym stosowaniem agrochemikaliów. Niewłaściwe stosowanie pestycydów polegające na ich aplikowaniu w nadmiernej ilości oraz przez zbyt długi okres czasu niż jest to faktycznie wymagane prowadzi do występowania poważnych konsekwencji zarówno środowiskowych, zdrowotnych, jak i ekonomicznych. Klasyczne formułacje pestycydów takie jak zawiesiny, emulsje lub proszki i granulki dyspergowalne w wodzie przyczyniają się do nieuzasadnionego gromadzenia się toksycznych substancji m.in. w glebie, wodach gruntowych, wodach powierzchniowych, a nawet w powietrzu. Dlatego też istnieje uzasadniona potrzeba opracowania nowych metod dzięki którym możliwe będzie obniżenie ilości stosowanych chemikaliów przy jednoczesnym utrzymaniu pożądanego efektu działania środka czynnego przez optymalny okres czasu.

Preparaty o kontrolowanym uwalnianiu, w przeciwieństwie do konwencjonalnego systemu uwalniania charakteryzującego się uwalnianiem wysokiej dawki w początkowym etapie procesu, która szybko spada poniżej skutecznego poziomu, pozwalają utrzymywać optymalny poziom aktywności przez dłuższy i kontrolowany czas. Dzięki zastosowaniu systemów kontrolowanego uwalniania w rolnictwie można znacznie przedłużyć i rozłożyć równomiernie w czasie aktywność substancji chwastobójczych, a tym samym zmniejszyć ich toksyczność i ograniczyć zanieczyszczenie środowiska. Uwalnienie m.in. herbicydu stosowanego doglebowo, włączonego do biodegradowalnego nośnika polimerowego, zachodzi stopniowo na drodze dyfuzji lub w wyniku fizycznego rozpadu nośnika w sprzyjających warunkach środowiskowych i w miejscu docelowego działania, gdzie jest pobierany przez roślinę (**Rys.1.**), eliminując potrzeby szerokiego rozpowszechnienia dużej ilości pestycydu jednorazowo, zmniejszając w ten sposób niepożądane skutki uboczne strat agrochemicznych przez parowanie i degradację lub wymywanie przez deszcz do gleby lub cieków wodnych.

Ponieważ klasyczne formy użytkowe pestycydów w systemach kontrolowanego uwalniania zawierają duże ilości opornych na działanie mikroorganizmów materiałów polimerowych, które po uwolnieniu formy użytkowej również zanieczyszczają środowisko, zastosowanie biodegradowalnych polimerów jako nośników agrochemikaliów może stanowić jeden z możliwych sposobów rozwiązania tego problemu.

Dodatek nawet niewielkiej ilości bloku PEG w łańcuchu terpolimeru nieznacznie zwiększa hydrofilowość łańcucha polimerowego, zwiększając tym samym jego podatność na hydrolizę oraz silnie wpływając na degradację enzymatyczną w środowisku glebowym.

Konieczność otrzymania matrycy opartej na łatwo dostępnych i relatywnie tanich polimerach naturalnych, wykazujących dużą podatność na degradację wywołaną enzymami – w ciągu około 4 miesięcy (średni okres wegetacji zbieranych roślin) spowodowała, że zdecydowano się na zastosowanie oligosacharydów. Wybranymi polimerami naturalnymi nie mogły być jednak oligosacharydy niemodyfikowane, ze względu na ich relatywnie dobrą rozpuszczalność w wodzie, jak i zbyt szybki proces degradacji w glebie, dlatego też przeprowadzono reakcję szczepienia dekstryny lub maltodekstryny z ϵ -kaprolaktonem.

Wszechstronność zastosowań materiałów polimerowych, które będą charakteryzowały się pożądanymi właściwościami spowodowała, że zamiast podejmować trud syntetyzowania zupełnie nowego polimeru o właściwościach jednego polimeru i niektórych właściwości innego, stosuje się zabieg polegający na próbie połączenia dwóch polimerów na zasadzie wytworzenia możliwie jak najbardziej homogenicznej ich mieszaniny. Dlatego też otrzymane kopolimery szczepione mieszano wraz z terpolimerami poli(L-laktyd-*ko*-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu) (PLGA-PEG-PLGA), co dało możliwość kontrolowania szybkości degradacji tych materiałów. Enzymatyczna degradacja zmodyfikowanej dekstryny w połączeniu z ługowaniem produktów degradacji do ośrodka powoduje znaczną erozję matrycy polimerowej, prowadząc w ten sposób do przyspieszenia dyfuzji wody w głąb polimeru umożliwiając łatwiejsze wymywanie herbicydów poza matrycę.

Chociaż systemy agrochemikaliów o kontrolowanym uwalnianiu stały się obecnie wyzwaniem dla nowoczesnego i bezpiecznego dla środowiska rolnictwa, przeprowadzono bardzo niewiele badań nad formułą polimer/herbicyd o przedłużonej aktywności. Szczególnie nie ma prawie żadnych badań nad mikrokapsułkowaniem i uwalnianiem herbicydów stosowanych w glebie, w tym metazachloru i pendimetaliny. Zaprojektowanie mikrosfer, które uwalniają herbicydy, zapewniając skuteczną ochronę roślin uprawnych przed powszechnie występującymi w uprawach chwastami, jest dużym wkładem w rozwój zrównoważonego rolnictwa. Poprzez zmianę proporcji dwóch składników mieszaniny polimerowej tj. terpolimeru PLGA-PEG-PLGA oraz szczepionych dekstryn lub maltodekstryn z ϵ -kaprolaktonem możliwe było

zaprojektowanie mikrosfer, które poprzez stopniową utratę masy i erozję powierzchni, podczas degradacji, umożliwiły przedłużone uwalnianie substancji czynnej przez kilka miesięcy. Kontrolowana szybkość degradacji otrzymanych mikrosfer, związana ze stopniowym uwalnianiem obu badanych herbicydów stosowanych w glebie (metazachloru i pendimetaliny), zapewniała skuteczną ochronę roślin uprawnych przed badanymi chwastami przez okres 2 – 3 miesięcy po wprowadzeniu do gleby, co jest wymagane z agrochemicznego punktu widzenia. Ponadto przeprowadzona ocena ekotoksykologiczna gatunku bakterii *Aliivibrio fischeri* dowiodła, że proponowane mikrosfery były mniej toksyczne niż klasyczny, niepowlekany dotychczas stosowany preparat chwastobójczy.

I. Część teoretyczna

1.1. Problemy wynikające z zanieczyszczenia środowiska agrochemikaliami

Rolnictwo wyznaczając główne kierunki i funkcje użytkowania ziemi należy do jednego z istotnych sektorów zarówno polskiej, jak i światowej gospodarki. Obecna potrzeba zwiększenia produkcji żywności w celu zaspokojenia potrzeb żywieniowych szybko rosnącej populacji ludzkiej utrzymuje presję na intensywne stosowanie zabiegów agrotechnicznych oraz agrochemikaliów. Poprzez takie zabiegi jak nawożenie oraz stosowanie środków ochrony roślin można w znacznym stopniu zwiększyć wydajność upraw, zmniejszyć straty związane z wyeliminowaniem chorób roślin, a także ograniczyć populację owadów żywiących się roślinami uprawnymi.

Pestycydy (łac. *pestis* – szkodnik, zaraza i *cedeo* – niszczyć, *ceadere* – zabijać) należą do naturalnych lub syntetycznych substancji stosowanych, przez człowieka do zwalczania szkodników takich jak owady, chwasty, grzyby, gryzonie lub bakterie. Używane są przede wszystkim w celu ograniczenia wzrostu chwastów oraz zwalczania niepożądanych w uprawach roślin; zwalczania czynników oraz patogenów odpowiedzialnych za choroby roślin oraz gnicie produktów roślinnych; zwalczania lub wabienia organizmów zwierzęcych, które przyczyniają się do zniszczenia całych roślin lub ich części, a także stymulowania i regulowania wzrostu roślin lub ich części, ograniczając przy tym stosowanie m.in. nawozów [1-3].

Zgodnie z teoretycznym założeniem działanie pestycydów powinno obejmować wysoką toksyczność dla szkodników, natomiast niską dla innych organizmów, w tym przede wszystkim dla ludzi oraz środowiska. Idealny pestycyd powinien być biologicznie i środowiskowo nieszkodliwy, nie kumulować się, a także mieć cechy krótkiej trwałości w ekosystemie. W praktyce niestety jest zupełnie inaczej, a dodatkowo sprawę utrudnia fakt, że każda substancja w zależności od rodzaju danego zagrożenia dla uprawy działa w inny sposób [4, 5].

Największe ilości pestycydów wykorzystywane są w ochronie roślin i nazywane są wtedy środkami ochrony roślin. Warto również mieć na względzie, że nie wszystkie pestycydy są środkami ochrony roślin i odwrotnie, stąd też mylnym jest używanie tych pojęć, jako synonimów. Zazwyczaj mówiąc o pestycydach, ma się na myśli substancje biologicznie aktywne preparatów, a nie same preparaty, natomiast środki ochrony roślin oprócz substancji czynnych zawierają także m.in. rozpuszczalniki, nośniki oraz adiuwanty [6-8].

Drogi przenikania pestycydów do organizmów szkodników są różne, dlatego też, pestycydy można podzielić na:

- kontaktowe – zetknięcie pestycydu z ciałem szkodnika oraz przeniknięcie do układu nerwowego,
- wewnętrzne – działanie poprzez przewód pokarmowy lub układ oddechowy,
- systemiczne (układowe) – przeniknięcie pestycydu do systemu przewodzącego roślin; owady pobierając pokarm roślinny, ulegają zatruciu
- głębokie – pestycydy przenikają w głąb tkanek.

Różnorodność zastosowania oraz budowy chemicznej znacznie utrudnia jednoznaczną klasyfikację pestycydów. Na podstawie sposobu ich działania oraz przeznaczenia można wyróżnić kilka podstawowych grup:

- 1) zoocydy są preparatami, w których substancja biologicznie czynna działa przeciw szkodnikom zwierzęcym. Zalicza się do nich insektycydy – owadobójcze, larwicydy – larwobójcze, akarycydy – roztoczobójcze, aficydy – mszycobójcze, nematocydy – nicieniobójcze, rodentydy – gryzoniobójcze, moluskocydy – ślimakobójcze, owicydy – zwalczające jaja owadów i roztoczy, repelenty – preparaty odstrasżające oraz atraktanty – preparaty zwabiające
- 2) herbicydy, czyli substancje chwastobójcze odpowiadają za zwalczanie niepożądanych roślin
- 3) fungicydy jako preparaty grzybobójcze i grzybostatyczne oraz
- 4) bakteriocydy zwalczające bakterie oraz wirusy [6, 9].

W Polsce, ze względu na uwarunkowania środowiskowe i klimatyczne największą grupą stosowanych środków ochrony roślin są **herbicydy**.

W zależności od działania wyróżnia się herbicydy totalne (niszczące całą populację roślin), wybiórcze (eliminujące określone gatunki roślin) oraz regulatory wzrostu, czyli środki hamujące lub stymulujące wzrost roślin. Dodatkowo wśród regulatorów wzrostu można wyróżnić: defloranty – służą do usuwania zbyt dużej ilości kwiatów; defolianty – do usuwania liści oraz desykanty – preparaty do wysuszania liści.

Na podstawie dróg przenikania do tkanek rośliny wyróżnia się:

- herbicydy dolistne – niszczą zielone części roślin w wyniku bezpośredniego kontaktu (parzące) lub przenikają przez liście i przemieszczają się w roślinie;

- herbicydy dogłębowe – przenikają do chwastów przez korzenie lub działają niszcząco w okresie kiełkowania oraz herbicydy działające kompleksowo, czyli łączące sposoby przenikania zarówno herbicydów dolistnych, jak i dogłębowych.

Zastosowanie herbicydów stanowi jeden z najbardziej efektywnych sposobów zwalczania chwastów na polach uprawnych. Przy odpowiednim ich stosowaniu można uzyskać bardzo wysoki blisko 90% stopień skuteczności usunięcia chwastów wrażliwych, natomiast pozostałe zazwyczaj są mało żywotne i niegroźne dla produkcji roślinnej. Skuteczność każdego herbicydu determinowana jest czasem kontaktu z chwastami, podczas którego dochodzi do pobrania odpowiedniej ilości substancji aktywnych oraz wydajnym transportem do określonego miejsca działania, w którym następuje zakłócenie podstawowych procesów życiowych rośliny [10, 11].

Herbicydy o zastosowaniu dogłębowym zarówno przed, jak i po siewie roślin pobierane są przez korzenie lub młode pędy siewek, a sam proces ich pobierania, polega na wnikaniu substancji aktywnej do komórek i tkanek rośliny. Zdecydowana większość herbicydów pobierana jest poprzez włósniki oraz komórki korka, w sposób pasywny wraz z wodą oraz rozpuszczonymi w niej składnikami odżywczymi. Poprzez zjawisko dyfuzji wnikają do tzw. swobodnych przestrzeni (ang. *diffusion free space*), a przez apoplasty są przemieszczane w roślinie. Skutecznie przez korzenie pobierane są dinitroaniliny, triazyny, związki imidazolowe, pochodne mocznika oraz związki sulfonylomocznikowe. Część herbicydów takich jak np. alachlor, dialat, trialat, trifluralina, pobieranych jest przez pędy podziemne roślin i transportowana ku górze wiązkami ksylenu.

W przypadku aplikacji herbicydów nalistnych głównym miejscem ich wnikania są liście, a także w mniejszym stopniu części roślin wystawione na bezpośredni kontakt tj. liścienie, pędy oraz pączki. Przykładem herbicydów pobieranych przez części nadziemne roślin jest m.in. glifosat oraz substancje o charakterze słabych kwasów.

W docelowym miejscu działania herbicydu zachodzi właściwy mechanizm aktywności chwastobójczej specyficzny dla każdego herbicydu lub danej grupy. Zakłócenie biochemicznych i biofizycznych reakcji zachodzących w roślinach mających wpływ na przemianę materii skutkuje wizualnymi symptomami uszkodzeń takimi jak: nekroza, chloroza, zahamowanie wschodów roślin, zahamowanie wzrostu i wiele innych [9, 12].

W aspekcie zanieczyszczenia środowiska, w wypadku herbicydów stosowanych dogłębowo, początkowo cała dawka herbicydu pozostaje na powierzchni gleby, następnie

poprzez zabiegi inkorporacji mechanicznej lub nawadniania zostaje wprowadzona do gleby, aby ostatecznie zostać wymyta przez opady atmosferyczne lub na drodze dyfuzji przedostać się do jej głębszych warstw. Podobnie herbicydy nalistne, gdy nie są zaabsorbowane przez rośliny trafiają na powierzchnię gleby oraz analogicznie do jej głębszych warstw [13, 14].

Każdy herbicyd, w kontakcie z glebą, ulega różnorodnym procesom fizycznym oraz przemianom chemicznym, które wpływają na jego dostępność dla chwastów, oddziaływanie na środowisko, a także na poziom jego pozostałości w glebie. Wśród najważniejszych procesów fizycznych, jakim ulegają herbicydy w glebie jest adsorpcja na powierzchni cząstek glebowych, przemieszczanie się wraz z wodą w głębsze warstwy gleby, a także ulatnianie do atmosfery [15].

Adsorpcja herbicydów polega na odwracalnym, częściowym lub całkowitym zatrzymaniu wybranych substancji chemicznych na powierzchni cząstek gleby, co pośrednio wpływa na ograniczenie ich dostępności dla roślin uprawnych. W zależności od pojemności sorpcyjnej gleby, temperatury, pH oraz wilgotności, zaadsorbowany herbicyd może ulec desorpcji do środowiska glebowego, a zjawisko to jest silniejsze w przypadku mniejszej pojemności sorpcyjnej, gdy gleba jest cieplejsza, ma wyższe pH i większą wilgotność. Przemieszczanie się herbicydów wraz z wodą gruntową, ulatnianie do atmosfery lub przenoszenie przez wiatr skutkuje ograniczeniem dostępności herbicydu w miejscu jego pobierania, przeniesieniem herbicydu na uprawy sąsiednie, a także skażeniem terenów i wód oddalonych w znacznej odległości. Ilość herbicydu przemieszczającego się wraz z wodą uzależniona jest od jego rozpuszczalności w wodzie, przepuszczalności gleby, składu granulometrycznego gleby, współczynnika sorpcji glebowej, ilości opadów oraz wody stosowanej do nawadniania, a także czasu zalegania herbicydu w glebie uzależnionego od jego chemicznego i mikrobiologicznego rozkładu. Wraz ze wzrostem tempa przemieszczania się herbicydów w głębsze warstwy, proces rozkładu ulega znacznemu spowolnieniu, co ma związek ze spadkiem ilości i aktywności mikroorganizmów. Można przyjąć, że mobilność herbicydów w glebie jest stosunkowo niska i w ciągu roku nie przekracza 0,2 – 0,6 m w pionie i 1 – 2 m w poziomie.

Do najczęściej spotykanych przemian chemicznych, jakim ulegają herbicydy w glebie należą fotoliza (rozkład fotochemiczny), hydroliza oraz reakcje redoks. Rozkład fotochemiczny zachodzi pod wpływem promieniowania ultrafioletowego (UV). Przypuszcza się, że promieniowanie o długości bliskiej 400 nm może wpływać na naruszenie integralności wiązań chemicznych cząsteczki herbicydu skutkujących utratą

aktywności oraz ułatwieniem rozkładu cząsteczki na drodze chemicznej lub biologicznej. Wiele herbicydów w środowisku glebowym ulega hydrolizie chemicznej, która ma szczególne znaczenie w procesie zanikania pochodnych kwasów fenoksykarboksylowych, herbicydów sulfonylo-mocznikowych i mocznikowych. Reakcje redukcji najczęściej zachodzą znacznie częściej w glebie niż w organizmach żywych. Najczęściej reakcje redukcji występują na terenach podmokłych i środowisku wodnym, gdzie panują warunki beztlenowe [14, 16, 17].

Obok fizycznych i chemicznych procesów, mających wpływ na rozkład herbicydów w glebie bardzo ważny jest również udział czynników biologicznych. Mikroorganizmy glebowe tj. bakterie, grzyby, pierwotniaki, sinice, glony spełniają bardzo ważne funkcje w procesach glebotwórczych oraz w degradacji zanieczyszczeń, w tym środków ochrony roślin [18-20].

Wśród mikroorganizmów mających największą aktywność w degradacji herbicydów można wyróżnić: bakterie z rodzaju *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, grzyby z rodzaju *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma* oraz promieniowce z rodzaju *Streptomyces* i *Nocardia*. Procesy enzymatyczne mogą zachodzić w środowisku glebowym, jako procesy zewnętrzne, a także w mikroorganizmach glebowych, jako procesy wewnętrzne. Zazwyczaj, aby przeprowadzić całkowitą mineralizację herbicydów do wody, dwutlenku węgla i innych prostych związków nieorganicznych konieczne jest współdziałanie kilku gatunków mikroorganizmów. Od kilku do kilkunastu dni po zastosowaniu herbicydu jego rozkład jest stosunkowo wolny, co jest związane z okresem namnażania się mikroorganizmów i ich adaptacji do enzymatycznego rozkładu herbicydu. Po okresie adaptacji, w zależności od rodzaju herbicydu, jego dostępności dla mikroorganizmów następuje już szybciej przebiegający dalszy jego rozkład [21].

Istotne znaczenie w procesie zanikania herbicydów w glebie mają również czynniki klimatyczne i glebowe. Światło pośrednio poprzez stymulowanie wzrostu i morfologii chwastów decyduje o pobieraniu i przemieszczaniu się herbicydów w roślinie. Podobnie o aktywności herbicydów decyduje także temperatura powietrza. Wraz z jej wzrostem zwykle zwiększa się tempo pobierania i transportu wybranych herbicydów przez liście lub korzenie do miejsca ich docelowego działania. Optymalna temperatura powietrza dla uzyskania odpowiedniej aktywności chwastobójczej mieści się w granicach od 10 do 25°C tj. w takiej w której tempo procesów fizjologicznych roślin jest na wysokim poziomie [9].

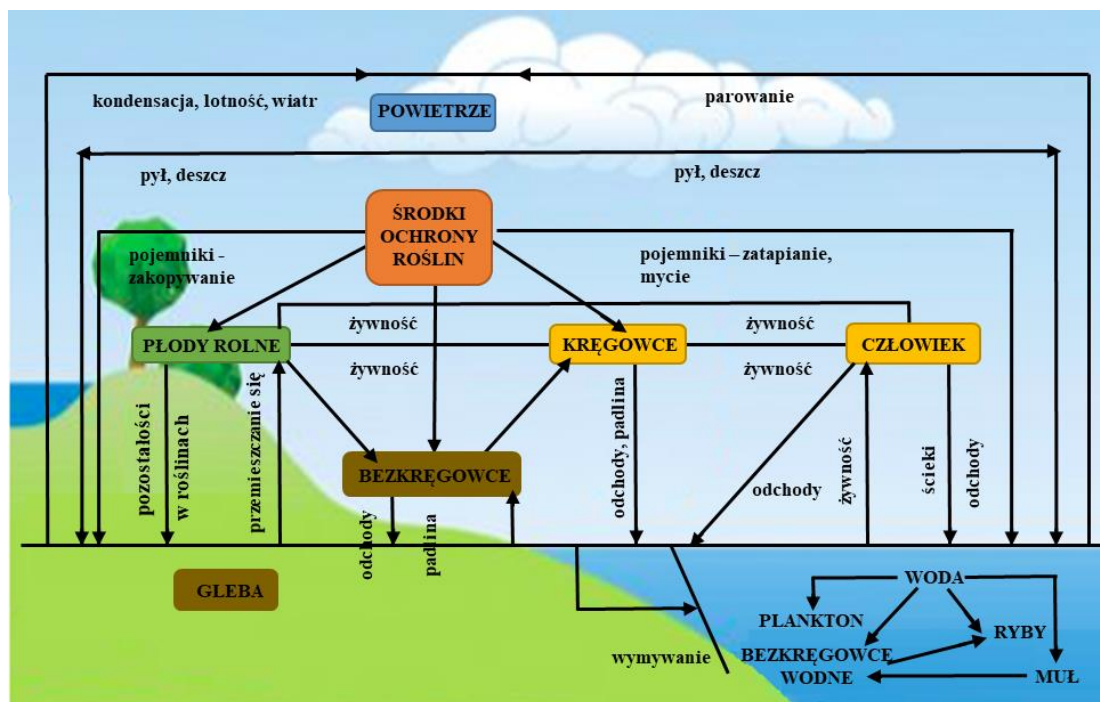
W przypadku herbicydów dolistnych znaczenie wpływu temperatury powietrza jest jeszcze większe. Niska wilgotność poprzez wyparowywanie kropeł substancji użytkowej przed kontaktem z chwastem lub na jego powierzchni prowadzące do krystalizacji herbicydu, powoduje powstawanie dużych strat aplikacyjnych. W odmiennych warunkach tj. wysokiej wilgotności wzmaganu ulega aktywność aparatów szparkowych umożliwiając tym samym łatwiejsze przedostawanie się rozpuszczonych składników aktywnych herbicydów i wody do tkanek rośliny, zwiększając efekt chwastobójczy [14, 17, 22].

Opady atmosferyczne mogą silnie oddziaływać na powodzenie stosowania herbicydów dolistnych. Wiele doniesień literaturowych wskazuje, że małe opady, szczególnie w formie mżawki, nie mają większego wpływu na działanie herbicydów, jednak obfite deszcze bezpośrednio po aplikacji zmywają herbicyd z powierzchni rośliny uniemożliwiając jego działanie. W przeważającej ilości herbicydy działają skuteczniej w glebach wilgotnych, co ma związek ze zwiększeniem ilości wody związanej przez koloidy glebowe, powodując desorpcje herbicydu i wzmocnienie jego aktywności. Susza przyczynia się do osłabienia pobierania herbicydów przez chwasty, opóźnienia ich rozkładu niebiologicznego oraz rozkładu z udziałem mikroorganizmów [14].

Ponadto na szybkość degradacji środków ochrony roślin w glebie wpływają także: zawartość materii organicznej, pH gleby, czas stosowania herbicydów oraz przede wszystkim ich dawka [23]. Orientacyjny czas zalegania substancji aktywnych herbicydów w glebie określany jest jako okres połowicznej przemiany i wyraża okres czasu, po którym początkowa ich zawartość zmniejszy się o połowę.

Obieg środków ochrony roślin w środowisku

Ponieważ podczas aplikacji środków ochrony roślin aż 30-50% pierwotnej ilości zostaje utracona, te straty stanowią poważny problem z emisją zanieczyszczeń do środowiska, powodującą zanieczyszczenie i ubożenie gleb, zatrucie powierzchniowych cieków wodnych oraz wód gruntowych, zanieczyszczenie powietrza, a także wprowadzeniem toksycznych substancji i ich metabolitów do łańcucha żywieniowego ludzi. Środki ochrony roślin przemieszczają się między poszczególnymi elementami środowiska, przechodząc jednocześnie różne przemiany. Nieefektywne ich stosowanie na bardzo dużą skalę, w ciągu ostatnich kilku dziesięcioleci stało się bardzo znaczącym problemem środowiskowym (**Rys. 1.1.1.**).



Rys. 1.1.1. Obieg środków ochrony roślin w środowisku (na podstawie: [17])

Na emisję pestycydów do środowiska istotne znaczenie ma charakterystyka procesu rozpylania tj. lotność i lepkość preparatu; warunki pogodowe podczas aplikacji tj. prędkość i kierunek wiatru, temperatura, wilgotność względna oraz stabilność powietrza, a także sprzęt i technika aplikacji oraz umiejętności i ostrożność operatora [24]. Sama ich obecność w środowisku zależy od wielu czynników takich jak ich rozpuszczalność w wodzie, forma użytkowa preparatu, zdolność rozpadu pod wpływem światła słonecznego oraz pory roku, co jest związane bezpośrednio z okresem stosowania [25, 26].

Do roślin pestycydy przenikają w wyniku bezpośredniego oprysku lub poprzez system korzeniowy. Warto zwrócić uwagę na fakt, że aby działanie stosowanych środków było efektywne, ich stężenie w roślinach musi być wystarczająco duże, w praktyce stosuje się znacznie większe ilości preparatu niż wynikałoby to z ich toksyczności. Istotne znaczenie ma fakt, że aż około 50% środków stosowanych do oprysków opada na powierzchnię gleby, dlatego też przemieszczanie pestycydów z roślin do gleby warunkowane jest ich mobilnością oraz trwałością ściśle zależną od struktury chemicznej związku.

Istotną rolę w adsorpcji pestycydów w glebie odgrywają takie czynniki jak pH gleby, jej temperatura, nawodnienie, warunki atmosferyczne, zawartość materii organicznej oraz rodzaj uprawy. Pomimo intensywnie zachodzących w glebie procesów

takich jak pobieranie przez rośliny, degradacja chemiczna, fotochemiczna, biodegradacja oraz wymywanie, powodujące spadek stężenia pestycydów w glebie, mogą one pozostawać w niej w mierzalnych stężeniach nawet przez wiele lat [27].

Pestycydy mogą dostać się do wód powierzchniowych i podziemnych z rozproszonych i/lub punktowych źródeł zanieczyszczeń. Rozproszone zanieczyszczenie jest odpowiedzialne za powszechne wykrywanie niskich stężeń, podczas gdy źródła punktowe powodują wykrywanie ich wysokich stężeń. Herbicydy mogą dotrzeć i zanieczyścić części wód powierzchniowych na wiele sposobów. Największe ich stężenia odnotowuje się w okresie wykonywania zabiegów agrochemicznych oraz spływu wód roztopowych. Te o wysokiej rozpuszczalności w wodzie są bardziej podatne na przemieszczanie przez spływ podczas opadów deszczu lub nawadniania [28-34].

Niepożądany wpływ pestycydów na organizmy wodne związany jest z zakłóceniem równowagi biologicznej przez toksyczne działanie na biocenozę, pogorszeniu się właściwości organoleptycznych wód oraz zakłóceniu procesu ich samooczyszczania się. Ich toksyczność w stosunku do organizmów wodnych zazwyczaj jest bardzo duża oraz zależna od temperatury, zasolenia tj. siły jonowej wody, zawartości zawiesin, a także od samego herbicydu. Co również bardzo istotne wiele herbicydów ma zdolność do bioakumulacji w organizmach wodnych [17, 35].

Wpływ stosowania pestycydów oraz ich negatywne oddziaływanie na organizm człowieka stał się obecnie istotnym zagadnieniem poruszonym przez wielu naukowców. Ponieważ wiele chorób wywoływane jest w wyniku narażenia na różne czynniki, wciąż bardzo poważnym wyzwaniem jest udowodnienie, iż dana choroba jest wynikiem styczności z konkretnym pestycydem. Istnieje wiele sposobów narażenia na kontakt z środkami ochrony roślin, m.in. przez oddychanie skażonym powietrzem na terenach rolniczych, wdychanie herbicydów obecnych w cząstkach kurzu, czy bezpośrednio spożywanie wody oraz pokarmów nimi skażonych. Najczęstszymi źródłami zanieczyszczeń żywności jest bezpośrednio spryskanie warzyw i owoców, zatrzymanie przez tkanki tłuszczowe produktów mięsnych, a także zastosowanie środków ochrony roślin w celu zapobiegania strat żywności podczas magazynowania i transportowania żywności. Zanieczyszczenie herbicydami artykułów pochodzenia roślinnego jest bardzo niebezpieczne, ponieważ związki te przenikają do wszystkich części roślin [36, 37].

Pomimo tego, że nowoczesne środki ochrony roślin są projektowane tak, aby selektywnie i ukierunkowanie działać na szkodniki i zagrożenia ograniczając ich wpływ

na inne organizmy, a wymagania toksykologiczne stawiane przy rejestracji chemicznych środków ochrony roślin są bardzo rygorystyczne, to wciąż istnieje realne narażenie ludzi na pozostałości tego typu substancji w spożywanych produktach, co może nieść ze sobą potencjalne zagrożenie dla ich zdrowia, a nawet życia [36-38].

Przepisy prawne zabezpieczające przed negatywnymi skutkami pozostałości pestycydów w środowisku

Ze względu na toksyczność pestycydów ustalono szereg zaleceń oraz sformułowano przepisy zabezpieczające przed negatywnymi skutkami ich pozostałości w żywności. Według Organizacji Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa oraz Światowej Organizacja Zdrowia (FAO/WHO (ang. *Food and Agriculture Organization/World Health Organization*)) pozostałość pestycydu jest to suma związków chemicznych (zarówno niezmienionej substancji aktywnej, jak i produktów ubocznych o działaniu toksycznym), które są obecne w danym produkcie spożywczym w wyniku stosowania pestycydu. Bardzo istotne jest również określenie czasu karencji, czyli czasu, który musi upłynąć od ostatniego zabiegu agrotechnicznego do zbioru płodów rolnych, lub uboju zwierząt. Ponieważ niemalże w każdym przypadku, mamy do czynienia z pozostałościami pestycydów istotne jest również pojęcie dawki tolerancji. Dawka tolerancji jest maksymalną dopuszczalną pozostałością pestycydów określoną po czasie karencji dla poszczególnych produktów spożywczych i surowców wyrażona w mg/kg produktu. Tolerancja obliczana jest w oparciu o dopuszczalne dzienne spożycie oraz średnie spożycie produktu przez człowieka [39, 40].

Pozostałości pestycydów w żywności nie mogą przekraczać ustalonych wartości tzw. najwyższych dopuszczalnych poziomów (NDP) pozostałości pestycydów. Wartości NDP ustala się w oparciu o badania polowe prowadzone zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Rolniczej. Najwyższe dopuszczalne poziomy pozostałości pestycydów muszą być stale monitorowane, a w przypadku ich przekroczenia przeprowadzana jest ocena ryzyka [41].

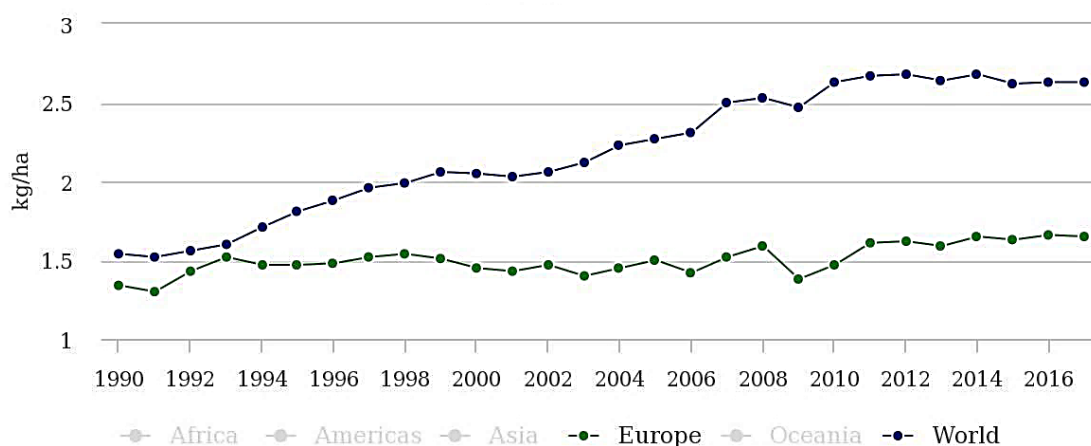
Zgodnie z ustawą z dnia 12 kwietnia 2013 roku o środkach ochrony roślin z dniem 1 stycznia 2014 roku stosowanie integrowanej ochrony roślin jest obowiązkiem wszystkich profesjonalnych użytkowników środków ochrony roślin [42].

Podstawnym dokumentem w zakresie rejestracji środków ochrony roślin w krajach Unii Europejskiej jest Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1107/2009 z dnia 21 października 2009r. z późn. zm. Na jego podstawie na obszarze

Unii Europejskiej można stosować tylko te środki ochrony roślin, które zawierają substancje czynne, które uzyskały pozytywną ocenę Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności – EFSA (ang. *European Food Safety Authority*) [43, 44].

Dodatkowym dokumentem określającym stosowanie pestycydów jest Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady nr 2009/128/WE z dnia 21 października 2009r. regulująca zasady wprowadzania do obrotu i stosowania środków ochrony roślin [45].

Ponieważ wymogi legislacyjne niemalże na całym świecie nakazują ścisłą kontrolę ilości i jakości stosowanych pestycydów, stale monitoruje się ich poziomy stężenia w różnych ekosystemach. Szczegółowe statystyki dotyczące średniego zużycia pestycydów na powierzchnię użytków rolnych prowadzone są przez FAO. Dane dotyczące światowego zużycia pestycydów oraz zużycia w Europie w latach 1990 – 2017 zestawiono na poniższym wykresie (**Rys.1.1.2.**), na którego podstawie obserwowany jest stale rosnący trend wykorzystania pestycydów [46].



Rys. 1.1.2. Poziomy zużycia pestycydów na świecie oraz w Europie w latach 1990 – 2017 [45].

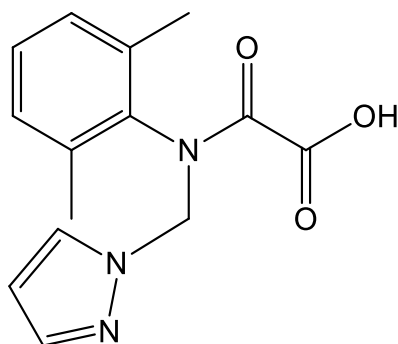
W Polsce zgodnie z aktualnymi danymi Rejestru Środków Ochrony Roślin dopuszczonych do obrotu zezwoleniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w Polsce, zgodnie z aktualizacją z 1.07.2020 roku, jest 2402 pestycydów. Największy odsetek wśród sprzedaży pestycydów stanowiły środki chwastobójcze potem grzybobójcze, oraz owadobójcze [47].

Do dalszych badań wybrano dwa powszechnie stosowane w praktyce rolniczej herbicydy doglebowe tj. metazachlor i pendimetalinę, zwalczające chwasty uporczywe szczególnie w uprawach rzepaku i warzyw gruntowych.

1.1.1. Metazachlor – aktywność chwastobójcza oraz wpływ na środowisko

Metazachlor (2-chloro-N-(pirazol-1-ilometrylo)acet2',6'-ksylidyd – **Rys.1.1.1.1.**) należy do inhibitorów biosyntezy lipidów i klasyfikowany jest do grupy chloroacetoanilidów. Jest środkiem chwastobójczym o stosowaniu zarówno doglebowym jak i nalistnym. Aktywność metazachloru polega na hamowaniu przedłużania się długołańcuchowych kwasów tłuszczowych, takich jak kwas palmitynowy oraz kwas oleinowy. Główna część tych kwasów tłuszczowych jest zlokalizowana w błonach plazmatycznych, a ich brak prowadzi do zakłócenia integralności komórek, zaburzenia podziałów komórek, a w konsekwencji śmierci roślin.

Metazachlor charakteryzuje się wyjątkowo wysoką fotostabilnością, znaczną stabilnością w glebie oraz skutecznością hamowania wzrostu chwastów przez 8 tygodni od aplikacji. Pobierany jest przez korzenie kiełkujących chwastów, niszcząc je przed wschodem. Może również działać po wschodach chwastów do fazy pierwszej pary liści. Stosowany jest w celu zwalczania jednorocznych chwastów jedno- i dwuliściennych w uprawach takich jak rzepak jary, rzepak ozimy, kalafior oraz kapusta głowiasta. Chwastami wrażliwymi są żóltlica drobnokwiatowa, tasznik pospolity, komosa biała, chwastnica jednostronna, gwiazdnica pospolita, jasnota purpurowa, jasnota różowa oraz rumian polny.



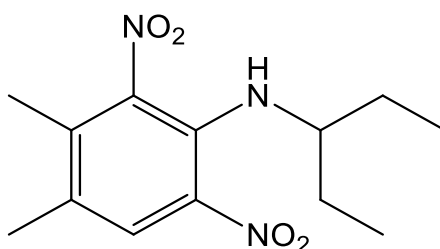
Rys. 1.1.1.1. Wzór strukturalny metazachloru

Najwyższą skuteczność działania metazachloru osiąga się przy dobrej wilgotności gleby w warunkach kiełkowania i wzrostu chwastów. Wysoka zawartość próchnicy zmniejsza aktywność chwastobójczą metazachloru w glebie. Ze względu na znaczną stabilność tej substancji w glebie (okres półtrwania metazachloru DT₅₀ od 26 do 114 dni w zależności od czynników środowiskowych) istnieje realne niebezpieczeństwo jej akumulacji. Obfite opady atmosferyczne po zastosowaniu herbicydu w glebie zwiększają możliwość pobierania substancji czynnej z młodych roślin rzepaku, które z jednej strony

mogą hamować ich rozwój, a z drugiej strony mogą się kumulować w uprawach, a następnie pogarszać jakość plonu. W takich przypadkach może nastąpić wymywanie, a substancja czynna może przedostać się do wód gruntowych, powodując znaczne zanieczyszczenie. Dlatego ważne jest monitorowanie produkcji gleby, wody i roślin pod kątem obecności pozostałości tego pestycydu [48-50].

1.1.2. Pendimetalina – aktywność chwastobójcza oraz wpływ na środowisko

Pendimetalina (N-(1-etylopropylo)-2,6-dinitro-3,4-ksyliden – **Rys.1.1.2.1.**) jest herbicydem dinitroanilinowym, powszechnie stosowanym do kontroli przedwzrostowej chwastów. Powoduje zakłócenie sekwencji mitotycznej, hamując wytwarzanie białka mikrotubuli, tubuliny oraz hamuje podział komórek, wydłużanie komórek, wzrost korzeni i pędów. Może być stosowana doglebowo. W przypadku zastosowania doglebowego, poprzez zaburzenie wzrostu korzeni, nie dopuszcza do wschodów gatunków roślin wrażliwych. Najsilniej zwalczane są chwasty w okresie kiełkowania i wschodów.



Rys. 1.1.2.1. Wzór strukturalny pendimetaliny

Rośliny jednoliścienne zwalczane są do fazy pierwszego lub do początku drugiego liścia, natomiast dwuliścienne do fazy dwóch liści właściwych. Skuteczność pendimetaliny w glebie pozostaje przez kilka tygodni, a tym samym chwasty kiełkujące później są również zwalczane.

Stosowana jest np. w plantacjach cebuli, jęczmienia ozimego, pszenicy ozimej, pszenżyta, słonecznika zwyczajnego, ziemniaków, żyta oraz plantacji nasiennych traw. Chwastami wrażliwymi są m.in. komosa biała, fiołek polny, chwastnica jednostronna, mleczwica zwyczajna, przytulia czepna, przetacznik perski, rumian polny, tasznik pospolity.

Badania polowe wykazały, że pendimetalina jest trwałym herbicydem, którego okres półtrwania (DT₅₀) wynosi średnio od 10 do 98 dni, w zależności od właściwości fizykochemicznych gleby, warunków klimatycznych oraz praktyk agronomicznych.

Wykazano, że spadek temperatury oraz susza wydłużają okres zalegania pendimetaliny w glebie.

W ostatnich latach pendimetalina była przedmiotem wielu badań ze względu na obawy, co do możliwości powodowania negatywnych efektów mutagennych oraz hormonalnych u ludzi [51, 52].

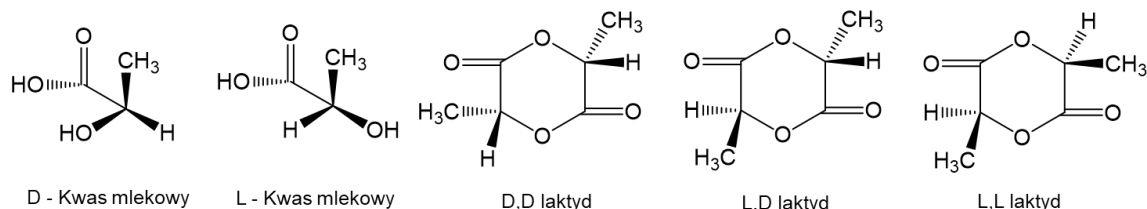
1.2. Biodegradowalne polimery i mieszaniny polimerowe, metoda otrzymywania, własności

Polimery biodegradowalne otrzymywane są na drodze biotechnologicznej syntezy naturalnych związków wielkocząsteczkowych, poprzez modyfikowanie lub bezpośrednią eksplorację polimerów naturalnych posiadających zdolność do biodegradacji, jak również na drodze polimeryzacji monomerów otrzymywanych z produktów przemysłu petrochemicznego lub uzyskanych na drodze biotechnologicznej. Pod wpływem promieniowania słonecznego, wody, tlenu oraz działania mikroorganizmów polimery biodegradowalne szybko ulegają rozkładowi, do dwutlenku węgla, wody oraz substancji organicznej. Nie pozostawiają szkodliwych pozostałości, ulegają w glebie końcowej mineralizacji. W wielu wypadkach polimery te można przetwarzać z zastosowaniem standardowych metod przetwórstwa, takich jak: wytłaczanie, formowanie rozdmuchowe i wtryskowe lub termoformowanie. Przez ten szeroki zakres właściwości polimery biodegradowalne tego typu mogą konkurować z niebiodegradowalnymi tworzywami termoplastycznymi na różnych płaszczyznach zastosowania (tekstyli, opakowania, biomedycyna itp.). W szczególności biodegradowalne alifatyczne poliestry homopolimerów i kopolimerów typu poli(hidroksykwasu) otrzymywane z kwasu mlekowego lub laktydów, kwasu glikolowego lub glikolidu, kwasu hydroksykapronowego lub ϵ -kaprolaktonu czy kwasu bursztynowego i dialkoholi alifatycznych stanowią obecnie najbardziej obiecujące materiały w zastosowaniach konsumenckich oraz biomedycznych [53].

1.2.1. Poli(L-laktyd) i kopolimery laktydu

Polilaktyd (PLA) jest biokompatybilnym, alifatycznym poliestrem, uważanym za jeden z najpopularniejszych polimerów biodegradowalnych z szerokimi perspektywami rozwoju. PLA otrzymywany jest na drodze polimeryzacji stopniowej hydroksykwasu – kwasu mlekowego uzyskiwanego w fermentacji bakteryjnej lub ze źródła petrochemicznego. Kwas mlekowy jest naturalnie występującą substancją o standardowej nazwie chemicznej kwas 2-hydroksypropionowy. Jest to najprostszy kwas hydroksylowy z asymetrycznym atomem węgla prezentujący aktywne izomery L (+) i D (-). Zarówno izomery L, jak i D są wytwarzane w układach bakteryjnych, przy czym izomer L jest znacznie bardziej powszechny. Polilaktyd otrzymywany jest obecnie jednak w polimeryzacji łańcuchowej, zgodnie z mechanizmem polimeryzacji otwarcia pierścienia (ROP) cyklicznej pochodnej kwasu mlekowego – laktydu.

PLA jest jednym z niewielu polimerów, w których struktura stereochemiczna może być łatwo modyfikowana przez polimeryzację kontrolowanej mieszaniny izomerów L- i D-. Ponieważ istnieją dwie formy stereoizomeryczne kwasu mlekowego D i L, cykliczne diestry tych kwasów można spotkać w trzech różnych strukturach stereoizomerycznych tj. D,D-laktyd; L,L-laktyd oraz D,L-laktyd (**Rys.1.2.1.1.**).



Rys. 1.2.1.1. Konfiguracje stereochemiczne cząsteczek kwasu mlekowego i laktydu

Właściwości poliestru otrzymywanego w trakcie polikondensacji kwasów mlekowych, czy polimeryzacji ROP wspomnianych laktydów, można modyfikować poprzez skład mieszaniny reakcyjnej – zawartości poszczególnych izomerów kwasu mlekowego, czy rodzajów laktydu (stosunek L/D), dobór rodzaju inicjatora polimeryzacji (**Rys.1.2.1.2.**) jak i w trakcie kopolimeryzacji poprzez względną zawartość poszczególnych innych cyklicznych monomerów (glikolid, laktony) oraz laktydów.

Właściwości PLA, podobnie jak innych polimerów, zależą od jego właściwości molekularnych, a także od obecności uporządkowanych struktur semikrystalicznych (wartości takie jak stopień krystaliczności, rozmiar sferolitu, rodzaj struktury krystalicznej).

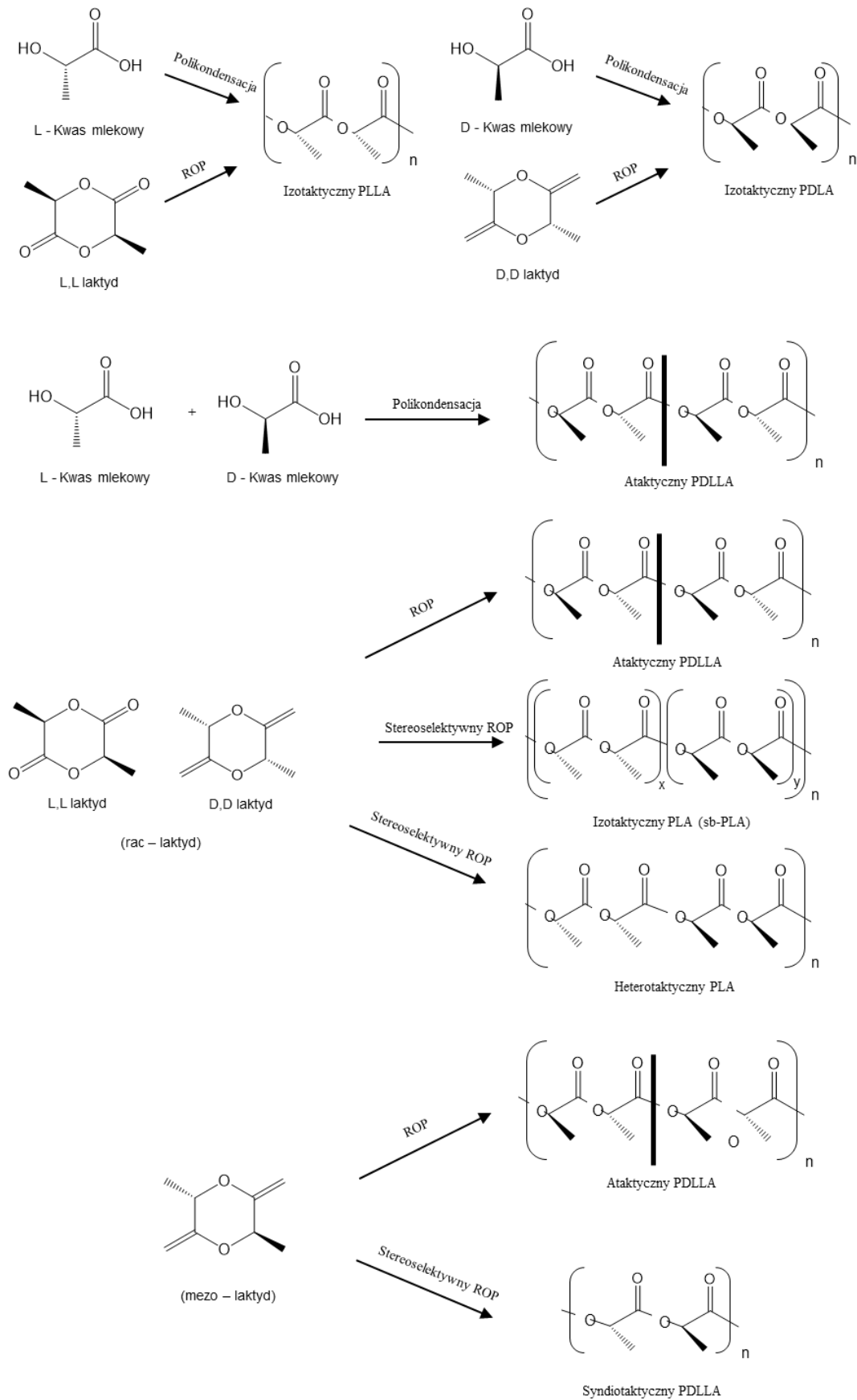
Właściwości fizyczne polilaktydu są związane z enancjomeryczną czystością stereo-kopolimerów kwasu mlekowego. Homo-PLA jest makrocząsteczką liniową o strukturze molekularnej określonej przez jej skład stereochemiczny. PLA może być wytwarzany w postaci całkowicie amorficznej lub semikrystalicznej. Poli (L-laktyd) (PLLA) i poli (D-laktyd) (PDLA) są wybitnie semikrystaliczne, natomiast poli (DL-laktyd) (PDLLA) jest amorficzny. Za zmniejszenie zarówno szybkości, jak i stopnia krystalizacji PLLA odpowiedzialne są niedoskonałości makrocząsteczkowe. W praktyce większość PLA składa się z kopolimerów L-D, L-laktydowych, ponieważ media reakcyjne często zawierają pewne zanieczyszczenia mezo-laktydowe. Oba te polimery różnią się właściwościami mechanicznymi oraz czasami degradacji. Ponadto właściwości PLA można dostosować poprzez dodatek plastyfikatorów, wypełniaczy, czy innych biopolimerów [54-57].

Właściwości mechaniczne PLA mogą się znacznie różnić, od miękkich i elastycznych materiałów po materiały sztywne i o wysokiej wytrzymałości, w zależności od różnych parametrów, takich jak krystaliczność, struktura polimeru i masa cząsteczkowa, skład materiału tj. dodatek plastyfikatorów, mieszanki, kompozyty oraz sposób przetwarzania. Własności mechaniczne, szybkość degradacji, oraz inne własności fizyko-chemiczne można również w relatywnie prosty sposób zmodyfikować, poprzez syntezę odpowiednich kopolimerów w reakcji ROP laktydów z glikolidem, laktonami czy cyklicznymi węglanami [58]. Właściwości mechaniczne zestawiono w **Tab. 1.2.1.1.** Wartości są wyrażone jako zakresy, ponieważ silnie zależą od charakterystyki badanego materiału (masa cząsteczkowa, krystaliczność, przetwarzanie itp.), a także od procedury testowej [59].

Tab. 1.2.1.1. Właściwości mechaniczne PLA [8].

Właściwość	PLA	PLLA	PDLA
Gęstość [g/cm ³]	1,21-1,25	1,24-1,30	1,25-1,27
Wytrzymałość na rozciąganie [MPa]	21-60	15,5-150	27,6-50
Moduł sprężystości [GPa]	0,35-0,5	2,7-4,14	1-3,45
Maksymalne obciążenie [%]	2,5-6	3,0-10,0	2,0-10,0
Temperatura zeszklenia T _g [°C]	45-60	55-65	50-60
Temperatura topnienia T _m [°C]	150-162	170-200	Amorficzny

Dobrym rozpuszczalnikiem dla PLA i większości odpowiednich kopolimerów jest chloroform. Inne rozpuszczalniki to chlorowane lub fluorowane związki organiczne oraz aceton, pirydyna, tetrahydrofuran, ksylen, octan etylu, dioksan, dioksolan i furan. Spośród nierozpuszczalników najczęściej stosowanymi związkami podczas procesów wytrącania są woda, alkohole oraz alkanany: heksan i heptan [60].



Rys. 1.2.1.2. Różnorodne mikrostruktury laktydów i otrzymywanego na drodze ROP polilaktydu [61]

Właściwości termiczne PLA są zwykle określane za pomocą skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC), analizy termogravimetrycznej (TGA) i dynamicznej analizy mechanicznej. Krystalizacja, stopień krystaliczności oraz właściwości termiczne PLA zależą m.in. od masy cząsteczkowej polimeru, warunków polimeryzacji, składu stereochemicznego jednostek powtarzalnych, historii termicznej oraz czystości. Homochiralny PLLA jest stereoregularnym, izotaktycznym polimerem, charakteryzującym się temperaturą zeszklenia $T_g = 55-65^\circ\text{C}$ oraz temperaturą topnienia $T_m = 170-200^\circ\text{C}$. Ataktyczny PLA składający się z heterochiralnych łańcuchów D,L-PLA o bezładnym rozkładzie jednostek L i D, charakteryzuje się $T_g = 59^\circ\text{C}$, a ponadto nie wykazuje on temperatury topnienia. Mieszanina homochiralnych, izotaktycznych łańcuchów D-PLA i L-PLA jest zdolna do wytworzenia w odpowiednich warunkach stereokompleksów D-PLA/L-PLA o $T_m \leq 200^\circ\text{C}$. Jednak PDLA jest amorficznym polimerem o T_g w granicach $50^\circ\text{C}-60^\circ\text{C}$. Natomiast stereokompleksowa mieszanina PLLA i PDLA ma $T_m = 220^\circ\text{C}-230^\circ\text{C}$, wyższą niż temperatura PLLA i PDLA [61-65].

PLA jako termoplastyczny, wysokowytrzymały polimer o wysokim module sprężystości, który można wytwarzać z zasobów odnawialnych znajduje szerokie zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu m.in w branży opakowań przemysłowych, na rynku urządzeń biokompatybilnych/bioresorbowalnych, a także w systemach uwalniania leków. Można go łatwo przetwarzać na standardowym sprzęcie z tworzywa sztucznego, aby uzyskać wypraski, folię lub włókna, a ponadto w prosty sposób można dostosować szereg jego właściwości mechanicznych, termicznych, czy sposób i tempo degradacji. Przykładem dostosowania właściwości materiału jest tworzenie stereokompleksów, które można uzyskać przez zmieszanie PLLA z PDLA lub przyjęcie kopolimerów blokowych PLLA/PDLA. Silne oddziaływania między blokami PDLA i PLLA, które wynikają z powstawania stereokompleksowej krystalizacji, poprawiają właściwości mechaniczne i stabilność termiczną, spowalniają szybkość degradacji i zwiększają właściwości barierowe PLA, umożliwiając dłuższe uwalnianie składnika aktywnego [66-70].

Innym popularnym sposobem dostrajania właściwości materiału jest kopolimeryzacja z innymi składnikami np. glikolidem będącym cyklicznym diestrem kwasu glikolowego, która prowadzi do dobrze znanego statystycznego rozkładu komonomerów w łańcuchu kopolimeru laktydu i glikolidu (PLGA). Kopolimeryzację przeprowadza się również z kaprolaktonem, co pozwala na otrzymanie kopolimeru laktydu i kaprolaktonu (PLCL). Inną strategią poprawy hydrofilowości materiału jest synteza PLA i kopolimerów blokowych glikolu polietylenowego (PEG). Ponadto PLA

z powodzeniem można mieszać z biodegradowalnymi lub nieulegającymi biodegradacji polimerami (takimi jak polietylen, polipropylen, chitozan, polistyren, politereftalan etylenu i poliwęglany) wpływając na tempo degradacji mieszaniny [71-73].

Metody syntezy poli(kwasu mlekowego)

Polikondensacja kwasu mlekowego

Po raz pierwszy poli(kwas mlekowy) został zsyntezowany na drodze polikondensacji kwasu mlekowego w 1845 r. przez Théophile-Jules Pelouze [74-75]. Kilkadziesiąt lat później tj. w 1932 roku Wallace Hume Carothers i in. opracowali metodę polimeryzacji laktydu do poli(kwasu mlekowego), która została ulepszona i opatentowana przez Du Pont w 1954 roku. Opracowanie przez DuPont techniki oczyszczanie doprowadziło do masowej produkcji laktydów opracowanej przez Cargill DuPont (obecnie znanej jako NatureWorks) we wczesnych fazach, a także niektórych powiązanych technologiach laktydów [76].

Polimeryzacja tego typu jest najtańszą drogą, syntezy poli(kwasu mlekowego), jednak nie pozwala na uzyskanie dużych mas cząsteczkowych wymuszając stosowanie środków sprzęgających lub promujących estryfikację (**Rys. 1.2.1.3.**). Środki sprzęgające reagując z hydroksylowymi lub karboksylowymi grupami końcowymi PLA wpływają na zwiększenie długości łańcuchów PLA. Reakcje z udziałem niewielkich ilości tych środków takich jak: bezwodniki, epoksydy i izocyjaniany są stosunkowo tanie i można je przeprowadzić w stopie bez potrzeby oddzielania poszczególnych etapów procesu, jednak końcowy polimer może zawierać nieprzereagowane środki przedłużające łańcuch, oligomery i resztkowe zanieczyszczenia. Zaletą adiuwantów przyspieszających estryfikację jest to, że końcowy produkt jest wysoce oczyszczony i wolny od resztkowych katalizatorów i/lub oligomerów. Wady to wyższe koszty związane z wieloetapowością i konieczność dodatkowego oczyszczenia resztkowych produktów ubocznych, które należy zneutralizować lub usunąć [77].

Azeotropowa polimeryzacja kondensacyjna

Kolejną metodą polimeryzacji PLA jest azeotropowa polimeryzacja kondensacyjna stosowana do uzyskania długich łańcuchów bez użycia przedłużaczy łańcucha i środków pomocniczych. Kwas mlekowy i katalizator są azeotropowo odwodnione w wysokowrzącym, aprotonowym rozpuszczalniku pod zmniejszonym ciśnieniem, w wyniku czego uzyskuje się PLA o wysokiej masie cząsteczkowej (średnia

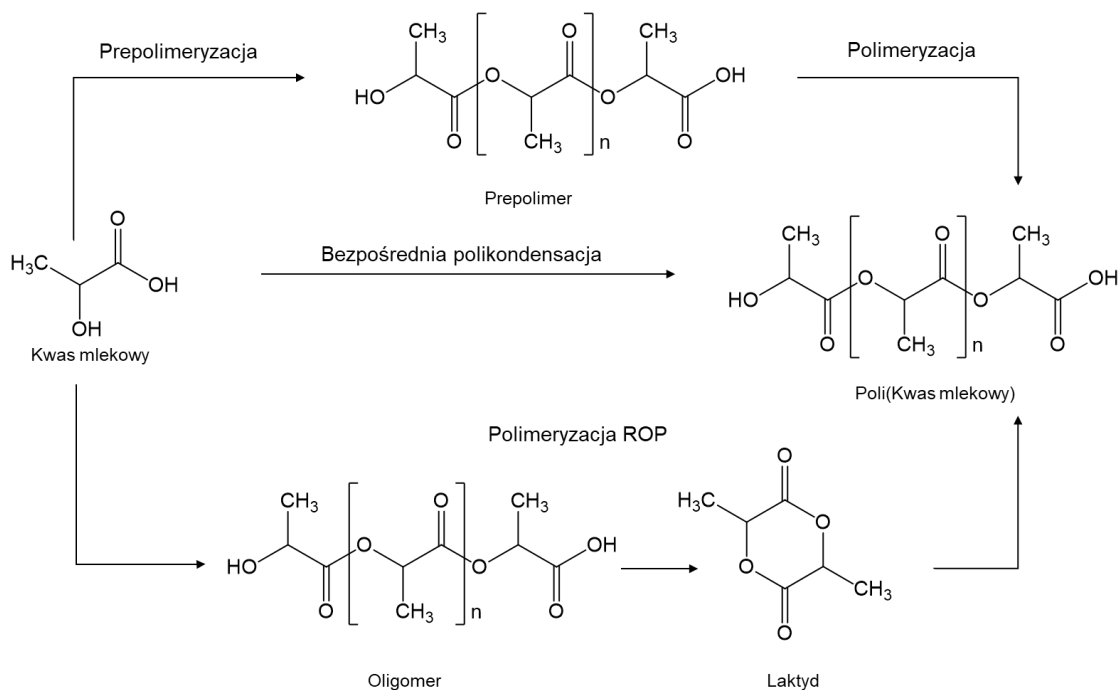
wagowa masa cząsteczkowa $M_w \sim 300$ kg/mol. W związku z zastosowaniem wysokiego stężenia katalizatora potrzebnego do osiągnięcia odpowiedniej szybkości reakcji, pozostają znaczne jego pozostałości, co może skutkować trudnościami podczas procesów przetwarzania takich jak degradacja i hydroliza. Dlatego konieczne jest podjęcie działań mających na celu zdezaktywowanie katalizatora poprzez wytrącanie w roztworach mocnych kwasów (kwas siarkowy) lub poprzez dodanie kwasu fosforowego [78].

Achmad i in. donieśli o ulepszonej metodzie bezpośredniej polikondensacji wytwarzającej PLA o masie cząsteczkowej do ~ 90 kg/mol nawet bez katalizatora, inicjatora lub rozpuszczalnika [79]. Jednak koszt energii zużywanej na długie ogrzewanie (>100 godzin w temperaturze 200°C) byłby znacznie wyższy niż koszt katalizatora. Z lepszym efektem ogrzewania, synteza wspomagana mikrofalami została opisana jako bardziej wydajna metoda bezpośredniej polikondensacji, w wyniku której uzyskano PLA ($M_w = 16$ kg/mol) w ciągu 30 minut [80].

W badaniach wskazano również na wzmocnione działanie katalityczne katalizatora binarnego, takiego jak $\text{SnCl}_2/p\text{-TsOH}$. Niemniej jednak potencjalnie wyższa wydajność ($> 54\%$) i wyższa masa cząsteczkowa wymagają dalszych badań. W podejściu polimeryzacji azetropowej oprócz rozpuszczalników azeotropowych zamontowano również ekstraktor Soxhleta z sitem molekularnym (3\AA) wewnątrz, aby usunąć śladową wodę z rozpuszczalnika pod chłodnicą zwrotną i otrzymano polimer o masie ponad 30 kg/mol [81].

Polimeryzacja z otwarciem pierścienia (ROP)

Obecnie podstawową metodą prowadzącą do otrzymania PLA o dużych masach cząsteczkowych jest polimeryzacja z otwarciem pierścienia (ROP) cyklicznego dimeru kwasu mlekowego – laktydu, w masie i w rozpuszczalniku w obecności katalizatora (inicjatora). W wyniku zastosowania tej metody możliwe jest otrzymywanie polimerów o wysokich masach molowych, założonym ciężarze cząsteczkowym (M_n) z relatywnie wąskim rozrzutem mas cząsteczkowych \bar{D} ($\sim 1.5\text{-}1.8$), średniej długości łańcuchów (średnia liczbowa masa cząsteczkowa M_n) uzależnionej od stosunku stężenia monomeru do inicjatora oraz żądanych grupach końcowych. Głównym motorem napędowym ROP są naprężenia pierścienia w monomerze. W zależności od rodzaju zastosowanego inicjatora polimeryzacja ta może przebiegać zgodnie z mechanizmem kationowym, anionowym, koordynacyjno-insercyjnym oraz enzymatycznym [82].



Rys. 1.2.1.3. Drogi syntezy poli (kwasu mlekowego) (PLA) z kwasu mlekowego [82].

Polimeryzacja przez otwarcie pierścienia o mechanizmie kationowym

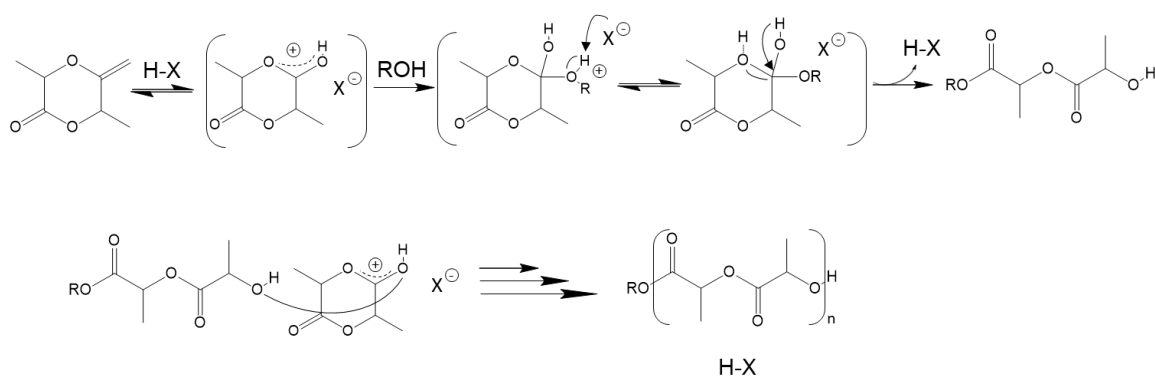
Polimeryzacja przez otwarcie pierścienia o mechanizmie kationowym indukowana jest katalizą silnych kwasów organicznych (HCl, HBr, RCOOH, RSO₃H), kwasów Lewisa (AlCl₃, BF₃, FeCl₂, ZnCl₂), związków alkilujących (CF₃SO₃CH₃, Et₃O⁺BF₄⁻, (CH₃)₂I+SbF₆⁻) oraz związków acylujących (CH₃C(O)⁺OCl⁴⁻).

W etapie inicjacji pierścień monomeru aktywowany przez protonowanie jest otwierany w wyniku ataku karbonylowego inicjatora alkoholowego z wytworzeniem alkoholu laktylowego i z odzyskiem kwasowego protonu. Podczas kolejnego oddziaływania alkoholu laktylowego na protonowane monomery następuje propagacja łańcucha polimerowego, a końcowa grupa hydroksylowa reaguje z protonowanym monomerem.

Ponieważ kwasowy katalizator jest wolny od polimeru propagującego, łatwo go usunąć, jednak w tego typu ROP propagacja łańcucha jest zakłócana reakcjami zakończenia łańcucha lub reakcjami przenoszenia łańcucha, które mogą być związane z reaktywnością protonowanego monomeru. W wyniku tego otrzymywane niskie masy cząsteczkowe, wolne szybkości i duże obciążenie katalizatorem związane z zastosowanymi kwasami organicznymi mogą być kompensowane przez operacyjną prostotę tego procesu. Należy podkreślić, że synteza umożliwiająca otrzymanie produktów o zadanej budowie (rodzaju grup końcowych) prowadzona jest jednoetapowo,

w łagodnych warunkach z wykorzystaniem łatwo dostępnych alkoholi i kwasów protonowych. Potwierdzono również, że polimeryzacja L-laktydu tą metodą jest często stereospecyficzna [83].

W odpowiednich warunkach proces kationowej polimeryzacji laktonów lub laktydów może przebiegać w sposób kontrolowany zgodnie z mechanizmem Aktywowanego Monomeru (AM, ang. *Activated Monomer*) z wyłączeniem niekorzystnych reakcji ubocznych. Wzrost łańcucha w polimeryzacji według mechanizmu AM następuje w wyniku nukleofilowego ataku atomu tlenu grupy hydroksylowej na atom węgla w protonowanym monomerze (**Rys. 1.2.1.4.**) [84].



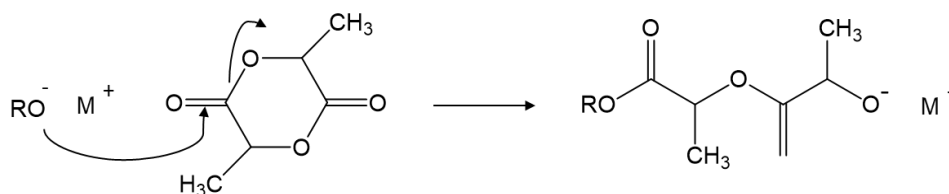
Rys. 1.2.1.4. Mechanizm kationowego ROP laktydu (mechanizm aktywacji monomeru) [84].

Ten typ mechanizmu ma również zastosowanie do kopolimeryzacji laktydu z innymi monomerami, takimi jak glikolid i ϵ -kaprolakton. Przykładem mechanizmu kationowej aktywacji monomeru jest kopolimeryzacja L-Laktydu i ϵ -kaprolaktonu w obecności alkoholu izopropylowego ($\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$) i kwasu triflatowego. Proces kopolimeryzacji zachodził z praktycznie całkowitą konwersją komonomerów, natomiast masy molowe otrzymanych kopolimerów telechelicznych (kopolimerów o identycznych końcowych grupach funkcyjnych) warunkowane były poprzez stosunek inicjatora do komonomerów [84].

Podsumowując można zauważyć, że w przypadku klasycznej polimeryzacji kationowej gdzie zazwyczaj ma miejsce wiele reakcji ubocznych, nie ma możliwości otrzymania polimerów o wysokiej masie cząsteczkowej, natomiast kationowa polimeryzacja prowadzona zgodnie z „mechanizmem aktywowanego monomeru” okazuje się bardzo efektywną metodą, hamuje niekorzystne reakcje typu „back-biting” lub deprotonację oraz pozwala na prowadzenie polimeryzacji w kontrolowany sposób.

Polimeryzacja przez otwarcie pierścienia o mechanizmie anionowym

Polimeryzację przez otwarcie pierścienia o mechanizmie anionowym prowadzi się najczęściej w obecności inicjatorów takich jak alkoholany (metanolan potasu), kompleksy metali alkalicznych, butylolit oraz butylomagnez. Anionowa polimeryzacja z otwarciem pierścienia cyklicznych monomerów estrowych zachodzi przez atak nukleofilowy ujemnie naładowanego inicjatora na węglu karbonylowym lub atomie węgla sąsiadującym z tlenem acylowym, w wyniku czego powstaje liniowy poliester (**Rys. 1.2.1.5.**) [83].



Rys. 1.2.1.5. Mechanizm anionowej polimeryzacji ROP dla PLA [83].

Ponieważ inicjatory anionowe i kationowe wykazują wysoką toksyczność konieczne jest ograniczenie ich stosowania, szczególnie w wypadku biomedycznego stosowania produktu. W przemyśle PLA na dużą skalę preferowane jest podejście oparte na katalizatorze metalicznym, ze względu na wysoką wydajność tak prowadzonej polimeryzacji laktydu. Wysoce skuteczny katalizator stosuje się jedynie na niskim poziomie stężeń (<10ppm), co pomaga zapewnić bezpieczeństwo zastosowania otrzymanego PLA, gdy jest stosowany w formowaniu opakowań żywności oraz w celach biomedycznych.

W badaniach nad mechanizmem anionowej polimeryzacji β -laktonów z zastosowaniem jako inicjatora polimeryzacji metali alkalicznych oraz kompleksów naftalenu i potasu w obecności eterów koronowych wykazano mechanizm tworzenia anionu poprzez przeniesienie elektronu od kompleksów do pierścienia monomeru. Czynnikiem propagującym łańcuch był ten anion.

Dla przykładu, w przypadku anionowej polimeryzacji L-laktydu i D,L-laktydu w obecności metanolanu potasu w roztworze tetrahydrofuranu otrzymano produkty o masach molowych poniżej 27 kg/mol [85].

Ponadto w badaniach zespołu Kricheldorf w anionowej polimeryzacji L-laktydu wobec butanolanu potasu i butylolitu osiągnięto wydajność reakcji do 76%. W trakcie tej polimeryzacji w wyniku deprotonacji monomeru przez inicjator następował proces

racemizacji. Inaczej było w przypadku polimeryzacji L-laktydu w obecności n-butanolanu litu w roztworze toluenu, gdzie wydajność reakcji wyniosła 90%, natomiast masa molowa produktu była znacznie wyższa [86-87].

Zespół badawczy Bera otrzymał na drodze anionowej polimeryzacji laktonów polimery o wysokiej masie molowej (> 100 kg/mol). Kopolimeryzacja ϵ -kapolaktonu z L-laktydem oraz D,L-laktydem prowadzona była w obecności *tert*-butanolanu litu. Wydajność tej reakcji wynosiła blisko 100% [88].

Podobnie jak w przypadku omawianej kationowej polimeryzacji, głównym problemem związanym z anionową polimeryzacją jest również najczęściej duży udział reakcji ubocznych typu „*back-biting*” uniemożliwiający otrzymanie polimerów charakteryzujących się wysokimi masami molowymi [89].

Mechanizm insercyjno-koordynacyjny polimeryzacji z otwarciem pierścienia

Mechanizm insercyjno-koordynacyjny polimeryzacji z otwarciem pierścienia polega na propagacji przebiegającej przez koordynację monomeru z aktywnymi formami, a następnie wprowadzenie monomeru do wiązania metal-tlen przez przegrupowanie elektronów. Rosnący łańcuch pozostaje przyczepiony do metalu poprzez wiązanie metal – tlen podczas propagacji. Mechanizm polimeryzacji tego typu uzyskiwany jest najczęściej w obecności inicjatorów takich jak kompleksy metali z wiązaniem kowalencyjnym typu metal-tlen o charakterze słabych kwasów Lewisa.

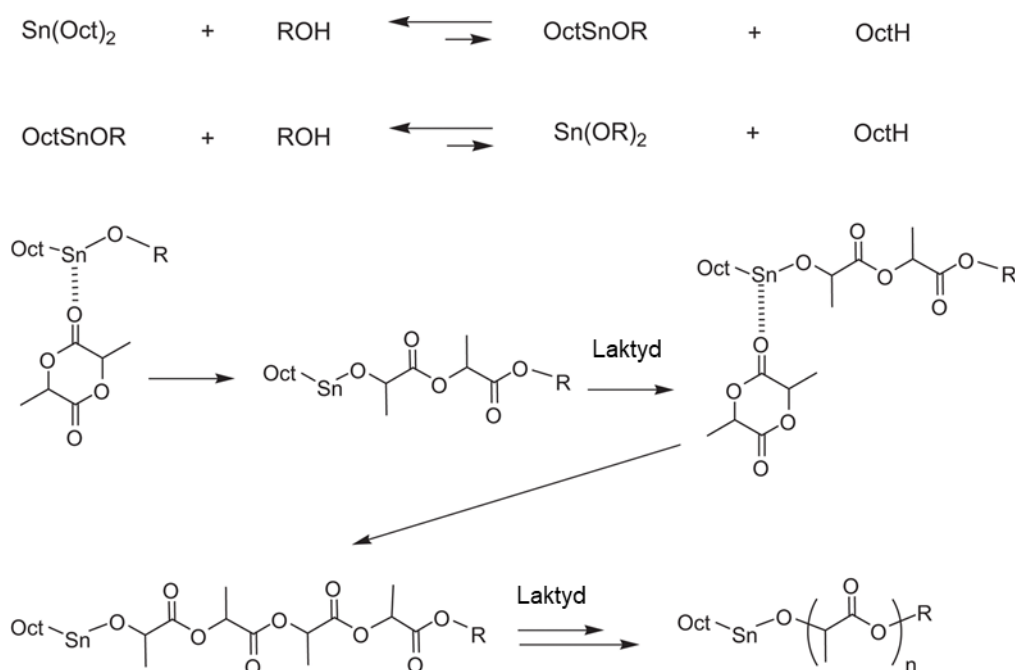
Najczęściej stosowanym kompleksem do przemysłowego wytwarzania ϵ -kapolaktonu, homopolimerów laktydu oraz kopolimerów takich jak: L-laktyd/glikolid, L-laktyd/ ϵ -kapolakton oraz glikolid/ ϵ -kapolakton jest bez wątpienia oktanian cyny (II) $\text{Sn}(\text{Oct})_2$, który jest rozpuszczalny w zwykłych rozpuszczalnikach organicznych i w stopionych monomerach. Z racji tego, że alkohole przyspieszają reakcję polimeryzacji najczęściej stosuje się układ inicjujący $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ z alkoholem (np. butylowym). Taki układ pozwala również na otrzymanie polimeru o kontrolowanej zawartością alkoholu masie molowej.

$\text{Sn}(\text{Oct})_2$ jest bardzo aktywny (typowe czasy reakcji w stopie w zakresie 140-180°C od kilku minut do kilku godzin) i pozwala na wytwarzanie polimerów o dużej masie cząsteczkowej (do 10^5 , a nawet 10^6 Da w obecności małych ilości alkoholu).

W zwykłej polimeryzacji laktydu katalizowanej przez $\text{Sn}(\text{Oct})_2$, związek hydroksylowy (alkohol) jest dodawany jako rzeczywisty inicjator. Inicjator alkoholowy najpierw reaguje z $\text{Sn}(\text{Oct})_2$, aby utworzyć wiązanie alkoholanu cyny przez wymianę

ligandów. W kolejnym etapie jeden z egzocyklicznych karbonylowych atomów tlenu laktydu koordynuje chwilowo z atomem cyny katalizatora mającego postać alkoholanu. Ta koordynacja wzmacnia nukleofilowość części alkoholanej inicjatora, jak również elektrofilowość laktydowej grupy karbonylowej. W następnym etapie wiązanie acylowtlenowe (między grupą karbonylową a endocyklicznym tlenem) laktydu zostaje zerwane, co powoduje otwarcie łańcucha laktydowego w celu wprowadzenia go do wiązania cynatlen (alkoholan) katalizatora. Następująca propagacja jest indukowana identycznym mechanizmem i trwa, gdy dodatkowe cząsteczki laktydu są wstawiane w wiązanie cynatlen (**Rys. 1.2.1.6.**).

Proces polimeryzacji jedynie w małym stopniu wpływa na racemizację otrzymanego produktu, pozwala na uzyskanie wysokiej wydajności reakcji i pozwala na uzyskanie PLA o wysokiej masie cząsteczkowej. Typowe warunki polimeryzacji to: 180 – 210°C, przy stężeniach oktanianu cyny 100 – 1000ppm i 25 godzin do osiągnięcia 95% konwersji [90, 91].



Rys. 1.2.1.6. Mechanizm koordynacyjno-insercyjny ROP laktydu z oktaniem cyny

Również skutecznymi katalizatorami dla ROP estrów cyklicznych okazały się alkoholany glinu. Jednak okazało się Al(Oi-Pr)_3 jest znacznie mniej aktywny niż Sn(Oct)_2 (w reakcji w stopie, w temperaturze 125-180°C, są zwykle wymagane czasy reakcji do kilku dni, a masy cząsteczkowe są generalnie niższe niż 10^5Da), dlatego też Al(Oi-Pr)_3

jest znacznie rzadziej stosowany do otrzymywania biodegradowalnych polimerów, zwłaszcza że jony glinu nie należą do metali metabolizmu człowieka i podejrzewa się, że wspierają chorobę Alzheimera [92-93]. Obecnie, stosowanie oktanianu cyny $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ w syntezie polimerów biomedycznych jest również dość kontrowersyjne, ponieważ związki cyny są stosunkowo toksyczne i praktycznie niemożliwe do całkowitego usunięcia z syntetyzowanych materiałów [94].

Wśród inicjatorów ważną rolę odgrywają również acetyloacetoniany m.in. cynku, cyrkonu, wapnia, magnezu i żelaza. Niestety większość otrzymanych w ten sposób materiałów, ma masy cząsteczkowe niewystarczające dla materiałów o pożądanym właściwościach mechanicznych.

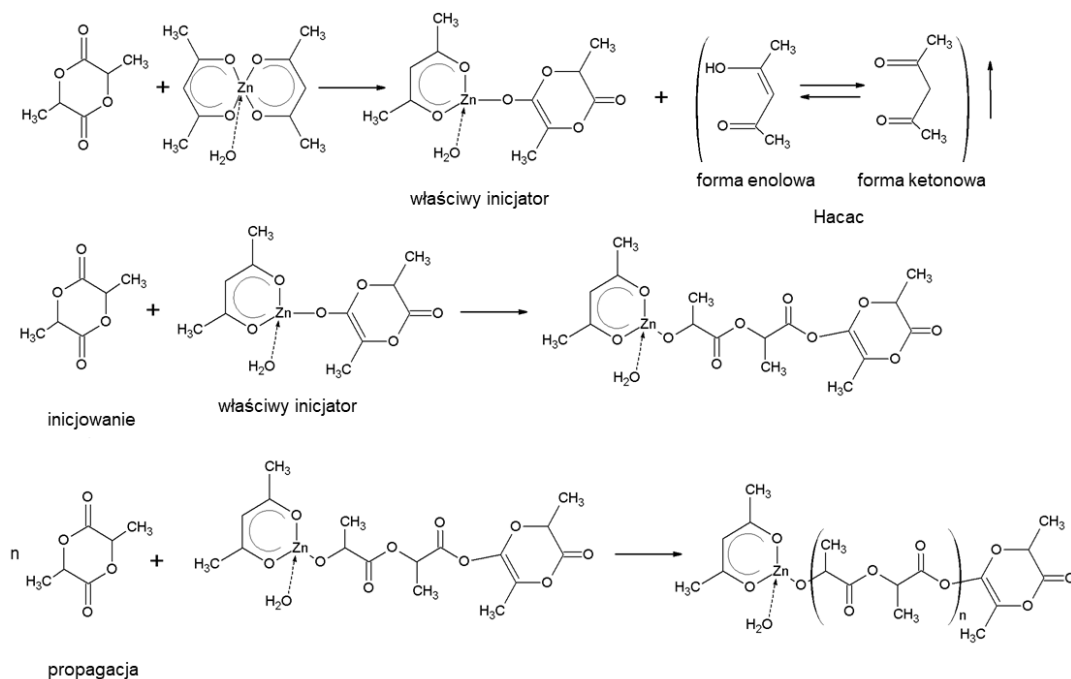
Acetyloacetonian cyrkonu (IV) $\text{Zr}(\text{acac})_4$ jest znacznie mniej toksyczną alternatywą dla powszechnie stosowanego oktanianu cyny, a dodatkowo charakteryzuje się wyjątkowymi właściwościami katalitycznymi jako inicjator polimeryzacji i kopolimeryzacji laktydu i glikolidu, kopolimeryzacji glikolidu z ϵ -kapolaktonem oraz terpolimeryzacji glikolidu z laktydem i kaprolaktonem [95-98].

Kompleks $\text{Zr}(\text{acac})_4$ jest tworzony przez atom cyrkonu koordynowany przez cztery chelatujące ligandy β -diketonianu, acetyloacetoniany, tworząc ośmiokoordynacyjną strukturę. Taki kompleks jest w niewielkim stopniu wrażliwy na powietrze i wilgoć i jest obojętny na różne substancje chemiczne w niższej temperaturze. Co ważne, kompleks staje się aktywnym katalizatorem ROP po wymianie przynajmniej jednego ligandu acetyloacetonianowego i zmianie geometrii kompleksu [99]. W reakcji między $\text{Zr}(\text{acac})_4$ a cząsteczkami monomeru (laktydu, glikolidu, laktonu) następuje deprotonacja laktydu, przeniesienie protonu na ligand acetyloacetonianowy, wymiana ligandów i uwolnienie wolnego acetyloacetonu. Otrzymane tą drogą kompleksy są właściwym inicjatorem w kolejnym etapie polimeryzacji laktydu. Wzrost łańcucha polilaktydu zachodzi zgodnie z typowym mechanizmem insercyjno – kordynacyjnej reakcji ROP. Łańcuch polimeru wzrasta na jednym ligandzie, który został utworzony wcześniej z deprotonowanego laktydu.

Opisano procesy polimeryzacji i kopolimeryzacji wielu heterocyklicznych związków inicjowanych $\text{Zr}(\text{acac})_4$, w których jednym z monomerów obecnych w mieszaninie wyjściowej był laktyd lub glikolid czyli związek stosunkowo łatwo tworzący formy enolowe, mogący zainicjować procesy deprotonacji [100]. W początkowej fazie prowadzonej kopolimeryzacji jeden z tych komonomerów przereagował z inicjatorem, w wyniku czego powstał aktywny kompleks cyrkonu,

właściwy inicjator polimeryzacji, zawierający ligand pochodzący z deprotonowanego laktydu i/lub glikolidu.

Bardzo podobny mechanizm opisano przy polimeryzacji L-laktydu w obecności jednowodnego acetylacetonianu cynku (II) – $Zn(acac)_2 \cdot H_2O$ (**Rys. 1.2.1.7.**). W pierwszym etapie ma miejsce deprotonacja laktydu z przeniesieniem protonu na ligand acetyloacetonowy, co prowadzi do wymiany ligandu i uwolnienia wolnego acetyloacetonu (Hacac). Tak powstały kompleks, zawierający wiązanie metal – tlen, jest właściwym inicjatorem dalej zachodzącej polimeryzacji laktydu, która przebiega zgodnie z mechanizmem koordynacyjno-insercyjnym.



Rys. 1.2.1.7. Mechanizm polimeryzacji L-laktydu w obecności $Zn(acac)_2 \cdot H_2O$ [101].

Podobnie jak laktydy, większość laktonów, w tym ϵ -kaprolakton, charakteryzuje się właściwościami kwasotwórczymi i łatwo tworzy aniony enolanowe. Uwzględniając ten fakt można przypuszczać, że mechanizm inicjowania polimeryzacji kaprolaktonu z zastosowaniem $Zr(acac)_4$ powinien przebiegać analogicznie do procesu inicjowania reakcji polimeryzacji laktydu z tym związkiem [102].

Insercyjno – koordynacyjna polimeryzacja poliestrów wydaje się być metodą najbardziej efektywną, umożliwiającą otrzymywanie polimerów o zamierzonej mikrostrukturze, żądanych grupach końcowych oraz wysokich masach molowych. W wielu układach masę molową można dość precyzyjnie kontrolować stosunkiem ilości monomeru do inicjatora [103].

Enzymatyczna polimeryzacja z otwarciem pierścienia

Enzymatyczna polimeryzacja z otwarciem pierścienia laktydów z użyciem lipaz i esteraz stanowi „zieloną” alternatywę dla katalizatorów na bazie metali. Katalizowana przez lipazę polimeryzacja laktydów została przeprowadzona w rozpuszczalnikach organicznych (takich jak toluen), w nadkrytycznym dwutlenku węgla (sc-CO₂) oraz cieczach jonowych [104].

W tych reakcjach powszechnie stosowanych jest kilka lipaz: lipaza B z *Candida antarctica* (CALB), lipaza PS z *Burkholderia cepacia*, lipaza PS *Pseudomonas cepacia* oraz świńska lipaza trzustkowa (PPL). Matsumura i współpracownicy przeprowadzili polimeryzację z otwarciem pierścienia D,L-laktydu katalizowaną przez lipazę PS *Pseudomonas cepacia* w nieobecności rozpuszczalnika. W wyniku tej reakcji otrzymano poliester o średniej wagowo masie cząsteczkowej (M_w) do 126 kg/mol i wydajności 16% przy 130°C w optymalnych warunkach [105].

Zespół Albertssona podał, że w wyniku reakcji katalizowanej lipazą PS w temperaturze 125°C prowadzonej przez 7 dni uzyskano PLLA o średniej liczbowo masie cząsteczkowej (M_n) od 78 do 100g/mol i dyspersji mas cząsteczkowych $\bar{D} \sim 1,4$. W tej samej reakcji katalizowanej Novozym 435 (unieruchomiona lipaza B *Candida antarctica* B (CALB) w 100°C, PLLA uzyskano wydajność 91% i produkt o M_w 2440 g/mol oraz $\bar{D} \sim 2,6$ [106].

Zespół Yoshizawa-Fujita w reakcji ROP L-laktydu katalizowanej przez CALB w 130°C otrzymał poliester o M_w równej 40 kg/mol, $\bar{D} \sim 1,13$ oraz z wydajnością 54,1% [106].

1.2.1.1. Poli(laktyd-ko-glikolid)

Poli(laktyd-ko-glikolid) (PLGA) jest kopolimerem laktydu (lub kwasu mlekowego) i glikolidu (lub kwasu glikolowego). Jest liniowym alifatycznym poliesterem, który ze względu na swoje właściwości takie jak biodegradowalność, biokompatybilność i dobre właściwości mechaniczne jest szeroko stosowany szczególnie w biomedycynie.

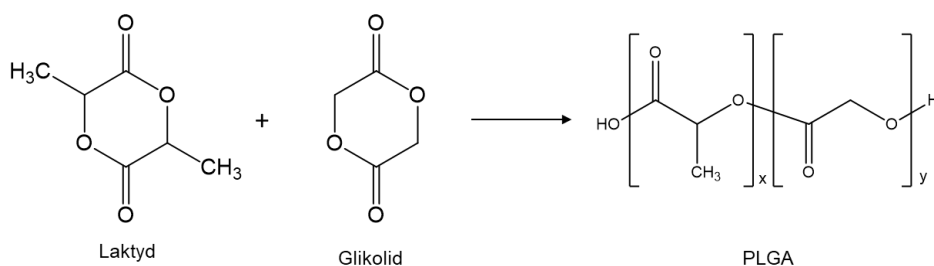
PLGA jest często akronimem dla kwasu poli-D,L-mlekowego-ko-glikolowego, w którym postaci kwasu D i L-mlekowego są w równych proporcjach (monomer to racemat D-laktydu i L-laktydu).

Wykazano, że właściwości PLGA zależą od wielu czynników, w tym od średniej masy cząsteczkowej, dyspersji mas cząsteczkowych, stosunku ilości jednostek

laktydowych do glikolidowych, mikrobudowy łańcucha. Te właściwości wpływają również na zdolność do formułowania jako nośniki do dostarczania składników aktywnych i na szybkość, oraz profil degradacji [107, 108].

Poliestry PLGA można otrzymać poprzez kondensację z kwasu mlekowego, oraz kwasu glikolowego lub przez polimeryzację z otwarciem pierścienia (ROP) powiązanych cyklicznych dimerów – laktydu i glikolidu (**Rys. 1.2.1.1.1.**). Warunkiem ograniczającym zastosowanie polikondensacji jest uwalnianie w reakcji woda, która jest trudna do usunięcia i w takiej reakcji równowagowej ogranicza masę cząsteczkową końcowego kopolimeru. Polimeryzacja łańcuchowa, wykorzystująca mechanizm ROP pozwala na znacznie wyższą kontrolę procesu polimeryzacji, dlatego też pozostaje najszerszej stosowaną metodą syntezy tego kopolimeru.

Monomery; laktyd i glikolid są przykładami sześciocłonowych pierścieni, których struktura zawiera odkształcenia w miejscu dwóch ugrupowań estrowych o płaskiej konformacji, a to odkształcenie pierścienia i związane z nim naprężenia, są siłą napędową ROP. W porównaniu z mechanizmem reakcji polikondensacji, ROP jest również znacznie bardziej odpowiednie do kontroli położenia sekwencji monomeru w łańcuchu (na przykład podczas syntezy kopolimeru blokowego), a także wprowadzania planowanych grup końcowych łańcucha polimeru. Sam mechanizm inicjowania reakcji jest analogiczny do mechanizmu inicjowania homopolimeryzacji laktydu.



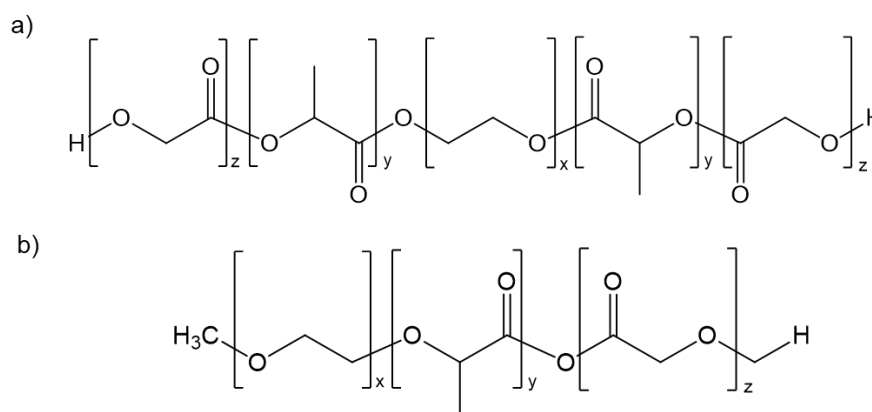
Rys. 1.2.1.1.1. Schemat ROP laktydu i glikolidu

W praktyce ROP laktydu i glikolidu wymaga odpowiedniego inicjatora (katalizatora), aby zapewnić syntezę polimerów o kontrolowanych właściwościach. Najczęściej stosowanymi kompleksami do przemysłowego wytwarzania PLGA są podobnie jak w homopolimeryzacji laktydu, czy glikolidu: oktanian cyny (II) oraz alkoholany glinu, które według wielu ostatnich doniesień mogą mieć negatywny wpływ na środowisko i zdrowie ludzi. Dlatego też wiele uwagi poświęcono poszukiwaniom

inicjatorów bazujących na innych mniej toksycznych związkach, w tym będących kompleksami cynku, molibdenu i cyrkonu [109].

1.2.1.2. Poli(L-laktyd-ko-politlenek etylenu)

Poli(tlenek etylenu) – zwyczajowo nazywany poli(glikolem etylenowym (PEG) jest polimerem z grupy polieterów, o ogólnym wzorze $H-O-[-CH_2-CH_2-O-]_n$ gdzie n wynosi od 4 do 120. Potrzeba lepszych preparatów dostarczających substancje aktywne, doprowadziła do opracowania różnych rodzajów blokowych kopolimerów poliesterów z PEG. Otrzymywane są one najczęściej na drodze kopolimeryzacji laktydu z glikolidem, prowadzonej z udziałem w roli inicjatora PEG. Kopolimery blokowe PLGA/PEG mogą występować jako cząsteczki diblokowe (PLGA-PEG) w wypadku gdy makroinicjatorem jest eter metylowy poli(tlenku etylenu) lub trójblokowe zarówno z typami *ABA* (PLGA-PEG-PLGA) i *BAB* (PEG-PLGA-PEG) (**Rys. 1.2.1.2.1.**) [110-112].



Rys. 1.2.1.2.1. Wzory strukturalne a) PLGA-PEG-PLGA i b) PEG-PLGA

Kopolimery PLGA-PEG-PLGA lub PEG-PLGA-PEG są rodzajem kopolimerów blokowych złożonych z hydrofobowych segmentów PLGA i hydrofilowych segmentów PEG. Hydrofobowe segmenty PLGA tworzą asocjacyjne sieciowania, a hydrofilowe segmenty PEG pozwalają cząsteczkom kopolimeru pozostać w roztworze. W niższych temperaturach wiązanie wodoru między hydrofilowymi segmentami PEG i cząsteczkami wody dominuje w roztworze wodnym, powodując ich rozpuszczenie w wodzie. Wraz ze wzrostem temperatury wiązanie wodorowe słabnie, a siły hydrofobowe między segmentami PLGA są wzmacniane, co prowadzi do przejścia roztwór-żel. Łatwość manipulacji podczas wytwarzania, formułowania, filtracji i napełniania sprawia, że takie termoreaktywne polimery są atrakcyjnymi kandydatami materiału stosowanego w procesach kontrolowanego uwalniania środków aktywnych biologicznie. Uwalnianie

tych substancji zarówno z kopolimerów *ABA*, jak i *BAB* zachodzi poprzez dwa główne mechanizmy: dyfuzję z hydrożelu podczas początkowej fazy uwalniania oraz uwalnianie przez erozję matrycy hydrożelowej w późniejszej fazie. Podczas degradacji żelu PEG-PLGA-PEG występuje preferencyjna utrata masy bogatych w PEG składników. Dlatego pozostały żel staje się bardziej hydrofobowy w środowisku wodnym, co powoduje spadek zawartości wody w tym materiale z czasem [113-117].

W typach kopolimerów diblokowych, łańcuchy bloków PEG orientują się na zewnętrzną fazę wodną w micelach, otaczając w ten sposób kapsułkowane substancje. Ta warstwa PEG działa jako bariera i zmniejsza interakcje z obcymi cząsteczkami poprzez odpychanie sferyczne. Wykazano lepszą kinetykę uwalniania z preparatów kopolimerów diblokowych PEG- PLGA w porównaniu z samym PLGA [118].

1.2.1.3. Poli(L-laktyd-*ko*-kaprolakton)

Poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) jest syntetycznym, liniowym poliestrem alifatycznym, produkowanym metodą polimeryzacji z otwarciem pierścienia ϵ -kaprolaktonu. Wykazuje zdolność do biodegradacji oraz podatność na degradację hydrolytyczną. Jedną z niezwykłych właściwości PCL jest jego wysoka stabilność termiczna. Podczas gdy inne badane poliestry alifatyczne mają temperatury rozkładu w przedziale 235-255°C, jego temperatura rozkładu wynosi aż 350°C. Natomiast ze względu na swoją niską temperaturę topnienia (około 60°C) jego przetwórstwo jest znacznie utrudnione. Przydatną własnością PCL jest jego łatwość tworzenia kompatybilnych mieszanin z szeroką gamą innych polimerów, ze szczególnym uwzględnieniem PLA. Komplementarność między tymi dwoma biokompatybilnymi polimerami jest bardzo ważna dla ich mieszanin, ponieważ ich działanie można kontrolować, dostosowując stosunek zmieszania i warunki przygotowania, aby sprostać różnym możliwościom zastosowania. W przeciwieństwie do PLA, PCL ma niską wartość wytrzymałości na rozciąganie przy bardzo dużej plastyczności, dlatego też opracowanie mieszanin PLA/PCL pozwala na poprawę plastyczności i wytrzymałości PLA, jednocześnie podnosząc wytrzymałość PCL na rozciąganie. Ponadto, ze względu na znacznie wolniejszą niż PLA szybkość degradacji PCL, mieszaniny PLA/PCL mogą charakteryzować się kontrolowanym czasem życia określonego produktu.

Kopolimery PLA/PCL znajdują zastosowanie przede wszystkim do celów medycznych m.in. w produkcji biodegradowalnych nici chirurgicznych, opatrunków usztywniających oraz w systemach kontrolowanego uwalniania leków [119].

1.2.2. Kopolimery szczepione na polisacharydach

Zastosowanie odnawialnych zasobów takich jak polisacharydy do syntezy biodegradowalnych polimerów o pożądanych właściwościach fizykochemicznych i biologicznych, wzbudza ostatnio rosnące zainteresowanie ze względu na dużą dostępność, relatywnie niskie koszty, odnawialność i brak toksyczności tego rodzaju materiałów.

Polisacharydy to makrocząsteczki złożone z jednostek monosacharydów połączonych wiązaniami glikozydowymi. Związki te występują powszechnie w naturze, w tym w algach (alginian), roślinach (celuloza, pektyna, cyklodekstryna i skrobia), mikroorganizmach (dekstran) oraz zwierzętach (chitosan). Jednym z zastosowań polisacharydów jest kontrolowane uwalnianie preparatów stosowanych w różnych obszarach, w tym rolnictwie [120, 121].

Skrobia jest naturalnym, odnawialnym, dostępnym w dużych ilościach, a zatem o niskich kosztach, jednym z głównych związków zapasowych występujący zarówno w ziarnach zbóż, jak i korzeniach i owocach roślin strączkowych. Jest homopolisacharydem składającym się z łańcuchów amylozy i amylopektyny. Amyloza składa się z połączonych wiązaniami α -(1,4)-glikozydowymi jednostek glukozy tworzących łańcuch liniowy. Amylopektyna tworzy rozgałęzione struktury między jednostkami glukozy poprzez występowanie wiązań α -(1,4) i α -(1,6)-glikozydowych. Względne proporcje tych struktur różnią się w zależności od gatunku, z którego skrobia jest uzyskiwana i mogą występować odmiany w obrębie tego samego gatunku i w zależności od stopnia dojrzałości rośliny [122-124].

Celuloza jest najliczniejszym polisacharydem w przyrodzie, a jej użyteczne właściwości obejmują biodegradowalność, biogodność, niską toksyczność oraz niski koszt. Cząsteczka celulozy składa się z sekwencji jednostek β -D-glukopiranozy połączonych wiązaniami chemicznymi glikozydowymi β -(1,4)-glikozydowymi. Celuloza i jej pochodne są szeroko stosowane jako systemy dostarczania związków bioaktywnych, ponieważ są one przyjazne dla środowiska [125-127].

Dekstran jest polisacharydem pochodzącym od bakterii, składa się z monomerów glukozy połączonych wiązaniami α -(1,6)-glikozydowe w łańcuchu głównym oraz przez

wiązania α -(1,4), α -(1,3) i α -(1,2)-glikozydowe w łańcuchach bocznych (rozgałęzionych). Zakres rozgałęzień, masa cząsteczkowa i inne właściwości dekstranu różnią się w zależności od mikroorganizmu z którego pochodzi [128].

Pektyny to rodzina polisacharydów obecnych w ścianach komórkowych roślin wyższych. Ich struktury składają się z jednostek kwasu D- galakturonowego połączonych wiązaniami α -(1,4)-glikozydowymi, tworząc liniowy polisacharyd przerwany przez silnie rozgałęzione regiony. Skład pektyny różni się w zależności od źródła pochodzenia [129].

Spośród naturalnych polisacharydów ze względu na niską cenę oraz powszechność występowania najczęściej badanym polimerem jest skrobia. Hydrofilowość czystych materiałów na bazie skrobi, a w konsekwencji spadek pożądanych właściwości mechanicznych wraz z poborem wody ogranicza ich szerokie zastosowanie [130]. W celu pokonania tych ograniczeń, skrobia może być mieszana, plastyfikowana lub chemicznie modyfikowana z biodegradowalnymi poliestrami hydrofobowymi m.in. polilaktydem (PLA) oraz polikaprolaktonem (PCL). Kopolimery szczepione, takie jak skrobia-*graft*-PCL i skrobia-*graft*-PLA, mogą być materiałem całkowicie biodegradowanym przez bakterie lub w warunkach naturalnych, przy zachowaniu często dobrych właściwości mechanicznych, czy przetwórczych. Dlatego też szczepione kopolimery można stosować bezpośrednio jako termoplasty lub jako kompatybilizator w kompozytach mieszanych skrobia-PCL lub skrobia-PLA [131-136].

Kopolimery szczepione należą do grupy związków charakteryzujących się złożoną architekturą, obejmującą łańcuch główny do którego przyłączone są łańcuchy boczne. Ich otrzymanie przebiega w kilku etapach, z wykorzystaniem metody polimeryzacji lub w wyniku łączenia różnych technik i metod polimeryzacji. Bardziej skomplikowanymi strukturami szczepionymi są trzy i czteroramienne kopolimery gwiazdziste oraz kopolimery podwójnie szczepione, w których każdy z utworzonych łańcuchów bocznych ma dodatkowo szczepione łańcuchy o jednakowej długości. Kopolimery zawierające dwa rodzaje łańcuchów bocznych można uzyskać w wyniku połączenia dwóch różnych technik szczepienia. Synteza kopolimerów, która wykorzystuje jeden mechanizm polimeryzacji, np. kontrolowany rodnikowy lub jonowy, ogranicza zakres wykorzystywanych monomerów do określonej grupy związków olefinowych, winylowych lub heterocyklicznych, dlatego też często łączy się różne

metody polimeryzacji. Taki sposób pozwala na zwiększenie możliwości formowania różnych segmentów np. poliolefinowych i polistyrenowych lub poliakrylowych i poliestrowych w wyniku czego można uzyskać złożone właściwości finalnego kopolimeru.

Istnieją dwa sposoby szczepienia: „szczepienie od” i „szczepienie przez”. W tym ostatnim stosuje się różne środki sprzęgające, takie jak diizocyjaniany [137], dibezwodniki [138], chlorki dikwasu [139-141] i karbonylo-diimidazol [142]. Technika „szczepienia od” jest łatwiejszą w syntezie i obejmuje katalizowaną polimeryzację z otwarciem pierścienia (ROP) z wykorzystaniem grup hydroksylowych skrobi inicjujących polimeryzację związku heterocyklicznego. Typowymi katalizatorami są związki metaloorganiczne ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$, $\text{Ti}(\text{OnBu})_4$, $\text{Al}(\text{O-iPr})_3$ lub AlEt_3), które muszą być aktywne w warunkach bezwodnych. Toksyczność katalizatorów zawierających metale ciężkie ogranicza pole zastosowań takich szczepionych polimerów [143].

Szczepione kopolimery skrobi, takie jak skrobia-g-polistyren (St-g-PS) [144], skrobia-g-metakrylonitryl [145] i skrobia-g-alkohol poliwinylowy [146], zostały zsyntetyzowane przez wytwarzanie wolnych rodników na powierzchni granulek skrobi i następnie reakcję tych rodników z odpowiednimi monomerami winylowymi. Jednak kopolimery takie, z rozgałęzieniami z polimerów winylowych, mają ograniczoną biodegradowalność z powodu obecności nieulegającej degradacji części polimeru, chociaż ich właściwości są obiecujące do wielu zastosowań.

1.2.3. Biodegradowalne mieszaniny polimerowe zawierające polisacharydy

Dostosowane określonych właściwości polimerów do wymogów danej aplikacji związane jest z ich fizycznymi i/lub chemicznymi modyfikacjami, przetwórstwem lub sporządzeniem odpowiednich kompozycji polimerowych. Modyfikacja fizyczna polega na zmianie struktury polimeru poprzez wymuszoną orientację, mieszanie polimerów, zmianę rozmiarów stref międzyfazowych, zmianę budowy lub zmianę stopnia zdyspergowania poszczególnych faz oraz zmianę oddziaływań międzycząsteczkowych na granicy faz pod wpływem dodatku promotorów mieszalności. Modyfikacja chemiczna obejmuje zmianę budowy makrocząsteczek, rozkładu ciężaru cząsteczkowego, zastosowanie dobranej metody kopolimeryzacji; kopolimeryzację blokową, statystyczną i szczepioną, a także sieciowanie. Jedną z prostszych jest wytwarzanie mieszanin polimerów, o dobranej kompatybilnej kompozycji.

Cechą wspólną dla wszystkich mieszanin polimerowych jest obecność polimerowego ośrodka dyspersyjnego, w którym rozproszona jest reszta składników. Właściwości mieszanin polimerowych uzależnione są od składników mieszaniny, sposobu jej otrzymania, a także od wzajemnego oddziaływania składników. Można wyróżnić: mieszanki polimerów heterogenicznych, czy niemieszających się; jest to najczęściej występujący przypadek, składa się z dwóch polimerów, dlatego też charakteryzuje się m.in. występowaniem dwóch temperatur zeszklenia oraz mieszaniny kompatybilne wykazujące silne oddziaływania pomiędzy polimerami składowymi i charakteryzująca się jednorodnymi właściwościami fizycznymi.

Ponieważ mieszane polimery w większości przypadków mają właściwości kształtowane wypadkową własności poszczególnych składników bardzo często wykonuje się zabieg ich mieszania w odpowiednich dobranych doświadczalnie proporcjach. Czasami potrzebny jest materiał, który ma niektóre właściwości jednego polimeru i niektóre właściwości innego, dlatego też zamiast podejmować trud syntetyzowania zupełnie nowego polimeru o wszystkich pożądanymi właściwościami, stosuje się zabieg polegający na próbie połączeniu dwóch polimerów na zasadzie wytworzenia możliwie jak najbardziej homogenicznej ich mieszaniny (na drodze stopienia; rozpuszczenia w tym samym rozpuszczalniku i jego odparowaniu) [147].

Tworzywa sztuczne na bazie dodatku skrobi początkowo cieszyły się dużym zainteresowaniem badawczym, ale głównie z powodu nieodpowiednich właściwości mechanicznych i rozpuszczalności w wodzie, ich rozwój nie był zgodny z pierwotnymi oczekiwaniami. Badano różne kompozycje syntetycznych polimerów ze skrobią:

- Skrobia/PLA – właściwości hydrofilowe skrobi i hydrofobowe PLA powodują niską mieszalność między tymi dwoma związkami. W celu uzyskania jednorodnej mieszaniny konieczne jest dobranie odpowiedniej techniki mieszania w stanie stopionym oraz dodanie kompatybilizatorów tj. cząsteczek amfifilowych lub środków sprzęgających np. poli(alkoholu winylowego) PVA lub MDI (metylenodifenylodiiizocyjanian) [148].
- Skrobia/PVA – zgodność poli(alkoholu winylowego) i skrobi umożliwia im tworzenie kompatybilnej mieszanki, jednak jej właściwości pogarszają się wraz ze wzrostem zawartości skrobi, powodując rozdzielanie faz podczas przygotowywania mieszanki. Aby poprawić kompatybilność zbadano dodanie odpowiednich plastyfikatorów, środków sieciujących, wypełniaczy

i kompatybilizatorów. Niektóre typowe plastyfikatory stosowane w tej mieszance to gliceryna i woda [149, 150].

- Skrobia/PCL – ponieważ polikaprolakton jest polimerem hydrofobowym, jego mieszaniny ze skrobią wykazują niepożądaną silną separację faz. Aby zwiększyć kompatybilność między tymi dwoma materiałami, konieczne jest dodanie środka międzyfazowego lub kompatybilizatora np. metakrylanu glicydyłu (GMA), maleinianu dietylu (DEM) oraz poli(tlenku etylenu). Dodanie PCL do skrobi przewyższa słabości skrobi, a jednocześnie zmniejsza krystaliczność PCL. Mieszaniny skrobi i PCL były szeroko badane w ciągu ostatniej dekady, chociaż zarówno wysokie koszty produkcji, jak i zmienność właściwości w czasie eksploatacji ograniczyły ich zastosowania [151, 152].
- Skrobia/PBSA – adypinian bursztynianu polibutylenu PBSA (*ang. polybutylene succinate adipate*) jest alifatycznym termoplastycznym kopolimerem syntetyzowanym przez polikondensację 1,4-butanodiolu z kwasem bursztynowym. Jest termoplastem, ma dobre właściwości mechaniczne oraz odporność termiczną i chemiczną. Dodanie skrobi do PBSA poprawia jego elastyczność i wydłuża czas biodegradacji, pozwalając na zastosowanie takich mieszanin m.in. w przemyśle opakowaniowym oraz przy produkcji środków higienicznych [153, 154].

1.3. Degradacja polimerów

Polimery ulegają degradacji zgodnie z różnymi mechanizmami, w zależności od składu i rodzaju, struktury łańcucha, morfologii i warunków ekspozycji. Proces degradacji należy do procesów nieodwracalnych i wieloetapowych, polegających na biochemicznym rozpadzie związków organicznych do związków prostych. Rozkład polimerów, czyli podział łańcucha polimerowego początkowo do produktów oligomerycznych, a następnie do monomerów, uzależniony jest od wielu czynników. Z jednej strony zależy od budowy i własności samego polimeru takich jak budowa chemiczna, masa molowa, polidispersja, temperatura zeszklenia (T_g), temperatura topnienia (T_m), krystaliczność, hydrofilowość oraz od stężenia użytych katalizatorów i innych zanieczyszczeń. Z drugiej strony istotny wpływ mają warunki panujące w otaczającym środowisku takie jak temperatura, wilgotność, pH, siła jonowa oraz obecność enzymów wytwarzanych przez mikroorganizmy je rozkładające. W początkowym etapie rozkładu, w wyniku zrywania wiązań kowalencyjnych, następuje przerwanie łańcucha polimerowego oraz zmniejszenie jego rozgałęzień, co wpływa na ułatwienie dostępu mikroorganizmom. Istotny jest również spadek semikrystaliczności. Pod wpływem degradacji produkty tracą swoje właściwości użytkowe, zmieniają barwę, tracą połysk i przezroczystość, pękają oraz kruszą się, sprawiając, że są mniej wytrzymałe na rozciąganie i zginanie. Zmianie ulegają również właściwości chemiczne materiału takie jak: struktura chemiczna oraz ciężar cząsteczkowy [155].

1.3.1. Mechanizm degradacji i czynniki przyspieszające ten proces

Najczęściej degradacja zachodzi w wyniku przebiegu reakcji chemicznych, ale istnieje kilka ważnych przykładów degradacji wynikających jedynie ze zmian fizycznych. Ten ostatni rodzaj degradacji wynika raczej z zakłócenia morfologii polimeru niż z reakcji na poziomie molekularnym. Przykładami degradacji fizycznej są zjawiska polegające na głębokiej erozji w warunkach środowiskowych oraz powstania zjawiska kruchości termicznej (przy spadku temperatury znacznie poniżej temperatury zeszklenia). Zmiany zachodzące pod wpływem tego typu degradacji mogą polegać na nieodwracalnych zmianach właściwości mechanicznych, elektrycznych, a także estetycznych. Zmiany właściwości mechanicznych wynikają z reakcji, które albo zmniejszają rozmiar cząsteczek, albo prowadzą do sieciowania łańcuchów polimerowych w celu utworzenia sztywnych, trójwymiarowych struktur. Zmiany estetyczne zwykle

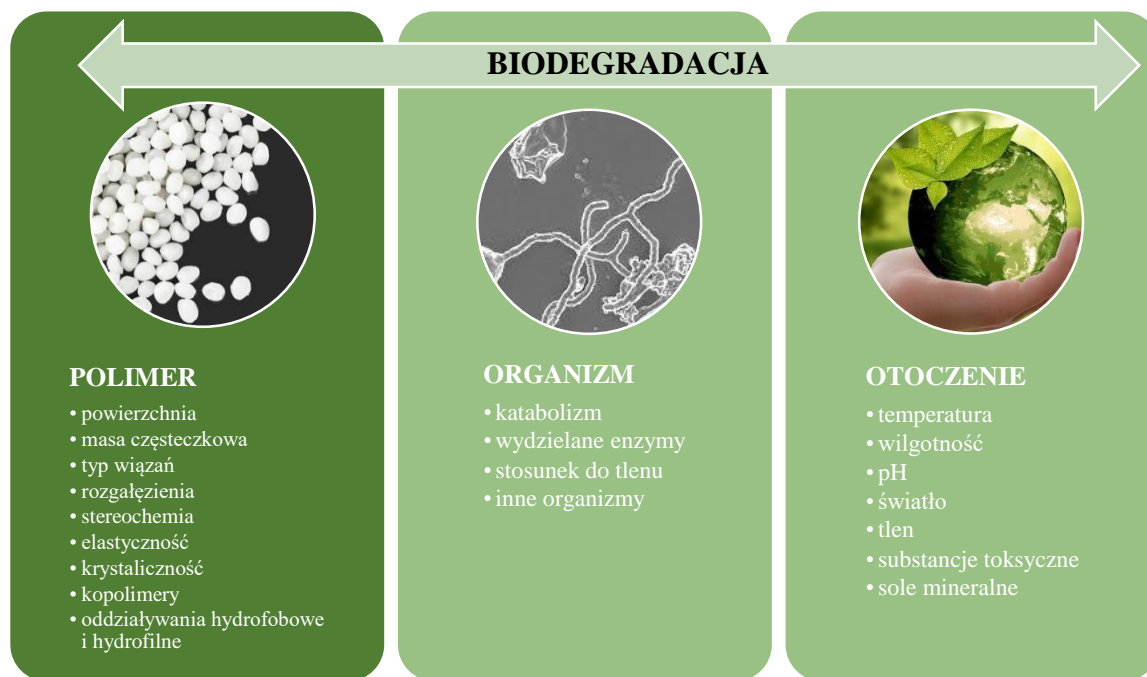
pojawiają się najpierw na powierzchni i mogą obejmować tworzenie się zarysowań i pęknięć, odbarwień. Degradacja wynikająca z reakcji z tlenem jest najważniejszym mechanizmem prowadzącym do uszkodzenia polimeru. Ważna jest jednak degradacja pod wpływem samego ciepła, ponieważ w ograniczonej atmosferze tlenowej reakcje te mogą zachodzić jednocześnie z utlenianiem termicznym [157].

Wyróżnia się trzy główne czynniki powodujące degradację chemiczną i fizyczną, są to:

- **promieniowanie słoneczne (fotodegradacja)**, gdzie rozpad makrocząsteczek następuje pod wpływem energii świetlnej. Polimery są najbardziej wrażliwe na zakres światła ultrafioletowego od 290 do 400 nm, natomiast zazwyczaj światło widzialne o zakresie 400-800 nm oraz podczerwone – powyżej 800 nm, nie są dla nich szkodliwe. W procesie fotodegradacji, energia świetlna wpływa na rozerwanie wiązań chemicznych i bardzo często jest to etap poprzedzający degradację mikrobiologiczną.
- **utlenianie (degradacja utleniająca)**, gdzie rozpad makrocząsteczek ma miejsce pod wpływem tlenu. Czynnikiem decydującym o szybkości procesu utleniania jest ilość wiązań podwójnych występujących w makrocząsteczce, dlatego też większość polimerów reaguje z tlenem bardzo wolno. Zjawisko utleniania tworzyw sztucznych zachodzi podczas produkcji, w trakcie użytkowania materiału, a przede wszystkim podczas ekspozycji w środowisku zewnętrznym.
- **temperatura (degradacja termiczna)**, wysoka temperatura jest czynnikiem, który nie powoduje rozerwania wiązań chemicznych w makrocząsteczkach, ale wpływa na przyspieszenie takich procesów jak hydroliza, wtórne reakcje fotochemiczne lub utlenianie zanieczyszczeń śladowych [156-158].

Do najważniejszych czynników wpływających na tempo degradacji zalicza się:

- rodzaj polimeru (masa molowa, struktura łańcucha, dyspersja mas, zwilżalność),
- morfologia materiału (stopień krystaliczności, temperatura zeszklenia polimerów amorficznych),
- warunki degradacji (temperatura, pH, udział enzymów),
- wymiary materiału (rozmiar, kształt, stosunek masy do objętości),
- wpływ ewentualnych dodatków (rozpuszczalnik, nieprzereagowane monomery, resztki inicjatora, plastyfikatory) (**Rys. 1.3.1.1.**) [159, 160].



Rys. 1.3.1.1. Czynniki wpływające na szybkość biodegradacji (na podstawie: [<http://www.e-biotechnologia.pl/Artykuly/Biodegradacja> – dostęp: 12.07.2020])

W zależności od czynników powodujących degradację można wyróżnić:

- **Degradację abiotyczną**, w której procesy degradacji zachodzą pod wpływem działania takich czynników jak: promieniowanie elektromagnetyczne, siły mechaniczne, ciepło, lub aktywne związki chemiczne w tym woda. Tworzywa sztuczne lub polimery ulegające degradacji pod wpływem tych czynników nazywane są degradowalnymi.
- **Degradację biotyczną**, w której procesy degradacji przebiegają w wyniku działania czynników biologicznych, głównie enzymów produkowanych przez mikroorganizmy, takie jak: bakterie, grzyby, glony, promieniowce i pierwotniaki w warunkach sprzyjających ich rozwojowi, w obecności tlenu, wilgoci, w odpowiedniej temperaturze (20÷60°C) i pH. Produktami biodegradacji są woda, CO₂ oraz nietoksyczne dla środowiska pozostałości w tym biomasa. W przypadku warunków beztlenowych zamiast CO₂ powstaje metan. Ten typ biodegradacji określany jest jako degradacja biologiczna, biodegradacja lub degradacja mikrobiologiczna. Polimery ulegające biodegradacji nazywane są polimerami biodegradowalnymi, przyjaznymi dla środowiska oraz polimerami „zielonymi”. Zdolność do ulegania procesom biodegradacji nazywana jest

biodegradowalnością i jest to pożądana cecha, dzięki której odpady nie są składowane przez wiele lat i nie zanieczyszczają środowiska naturalnego [156].

W przypadku tworzyw sztucznych termin tworzywa biodegradowalne dotyczy także mieszanin polimerów naturalnych z polimerami syntetycznymi, które same ulegają tylko częściowej biodegradacji lub jej nie ulegają wcale. Pod wpływem działania czynników biologicznych degradacji mogą ulegać tylko niektóre składniki, a pozostałe zostają rozproszone w środowisku. Większość tworzyw sztucznych rozkłada się najpierw na powierzchni polimeru, która jest odsłonięta i dostępna dla ataku chemicznego lub enzymatycznego. Pierwsze wizualne efekty degradacji polimeru to zmiana koloru i pękanie powierzchni. Pęknięcia powierzchniowe powodują, że wewnątrz tworzywa sztucznego jest dostępne do dalszej degradacji, co ostatecznie prowadzi do kruchości i rozpadu, czyli dezintegracji materiału.

Tworzywa tego typu nazywane są biorozpraszalnymi lub biorozkładalnymi. Ze względu na metody otrzymywania materiały biodegradowalne można podzielić na: materiały ulegające częściowej biodegradacji tj. kopolimery szczepione lub mieszaniny polimerów naturalnych z polimerami syntetycznymi oraz na materiały całkowicie biodegradowalne czyli: polimery naturalne, modyfikowane polimery naturalne, polimery syntetyczne otrzymywane z naturalnych monomerów, polimery syntetyczne otrzymywane z monomerów syntetycznych i naturalnych [157].

1.3.2. Przebieg degradacji poli(L-laktydu) i kopolimerów laktydu

1.3.2.1. Przebieg degradacji poli(L-laktydu)

Degradacja poli(L-laktydu) jest procesem dwuetapowym zachodzącym w środowisku wodnym lub w wilgotnym otoczeniu. Pierwszym etapem degradacji jest hydroliza wiązań estrowych do oligomerów kwasu mlekowego, natomiast w drugim etapie zachodzi metabolizm oligomerów przez mikroorganizmy do dwutlenku węgla i wody [157, 161].

Degradacja hydrolityczna rozpoczyna się od przenikania wody w głąb struktury polimeru, w wyniku czego w sposób losowy następuje hydroliza wiązań estrowych powodująca powstawanie krótszych łańcuchów w tym również monomerów i oligomerów o niskiej masie cząsteczkowej, mogących swobodnie przenikać do otaczającego środowiska. W przypadku gdy szybkość uwalniania oligomerów jest większa od szybkości dyfuzji wody w głąb próbki polimeru następuje jej erozja

powierzchniowa, natomiast gdy szybkość dyfuzji wody jest większa niż szybkość uwalniania oligomerów następuje erozja w całej objętości próbki.

Ponieważ amorficzne części poliestrów ze względu na wyższą szybkość wchłaniania wody ulegają hydrolizie przed obszarami krystalicznymi, początkowy etap degradacji przebiega właśnie w obszarach amorficznych, co daje pozostałym nierozłożonym łańcuchom więcej przestrzeni i mobilności, a ponadto prowadzi do ich reorganizacji i tym samym zwiększenia stopnia krystaliczności. W drugim etapie hydrolityczna degradacja obszarów krystalicznych poliestru związana jest ze zwiększonym tempem utraty masy, co ostatecznie prowadzi do całkowitej resorpcji, czyli rozpuszczalne w wodzie mery i oligomery są metabolizowane przez mikroorganizmy obecne w środowisku [162].

W zależności od warunków środowiskowych degradacja PLA może przebiegać szybciej lub wolniej. W warunkach wysokiej temperatury i wilgotności proces ten zachodzi stosunkowo szybko. Istotne znaczenie ma również równoważenie szybkości degradacji PLA przez szybkość asymilacji produktów rozkładu przez drobnoustroje [163].

Mikroorganizmy zdolne do biodegradacji syntetycznych alifatycznych poliestrów takich jak PLA, PCL oraz polihydroksymaślan (PHB), z łatwością izolowano z różnych środowisk glebowych, z tym, że najmniejszy udział stanowiły mikroorganizmy degradujące PLA. Ponadto, do rozpoczęcia procesu degradacji PLA konieczny jest długi okres czasu, a sam proces przebiega bardzo wolno [164, 165]. Dla przykładu w badaniach Ohkita i Lee [166] nie zaobserwowano degradacji próbek PLA w glebie przez 6 tygodni, natomiast w badaniach Urayama i wsp. [167] dla próbek o 100% zawartości izomeru L uzyskano 20% ubytek masy, a dla próbek o 70% zawartości izomeru L, uzyskano 75% ubytek masy, w ciągu 20 miesięcy. Dla porównania w warunkach panujących w kompoście tj. w wysokiej temperaturze 50-60°C i przy dużej wilgotności, rozkład PLA do oligomerów i monomerów następował w ciągu 45-60 dni [164].

Pierwsze badania z użyciem promieniowców *Amycolatopsis HT-32* izolowanych z gleby prowadził Pranamuda i wsp. [165]. W badaniach tych wykazano 60% spadek wagi próbki L-PLA w ciągu 14 dni, jednak mikroorganizmy te nie asymilowały oligomerów i merów, gromadzących się w środowisku degradacji. W innych badaniach wyizolowano z gleby szczep *Amycolatopsis sp. K 104-1*, który degradował aż 90% emulsji PLA w ciągu 8 dni [168].

Ponadto prowadzono również badania nad degradacją PLA przez mikroorganizmy termofilne. Tomita i wsp. [169] wyizolowali z gleby bakterie *Brevibacillus sp.*, których optymalna temperatura wzrostu wynosiła około 58°C. Degradowały one L-PLA nie tylko w fazie amorficznej, ale także w regionach krystalicznych. Jednym z niewielu mikroorganizmów zdolnych do degradacji PLA zbudowanego z formy D-kwasu mlekowego był szczep *Bacillus stearothermophilus*. Posiadał on zdolność degradacji zarówno regionów amorficznych jak i krystalicznych PLA na powierzchni próbki oraz w jej wnętrzu. Ponieważ wszystkie badania biodegradacji PLA z udziałem mikroorganizmów termofilnych prowadzone były w temperaturze $\geq 55^\circ\text{C}$ (powyżej T_g dla L-PLA) nie można wykluczyć, że znaczący udział w obniżeniu masy molowej polimeru miała hydroliza abiotyczna [165].

Dotychczas opisano niewiele grzybów posiadających zdolność do rozkładu PLA. W badaniach wykazano, że tylko szczep *Tritrachium album* degradował L-PLA, natomiast szczepy *Fusarium moniliforme* oraz *Penicillium roqueforti* posiadały zdolność jedynie do asymilacji racemicznych oligomerów o masie molowej około 1000g/mol [170].

Rychter i współpracownicy analizowali zmiany w populacji bakterii, promieniowców oraz grzybów podczas degradacji L-PLA oraz mieszaniny a-PHB/L-PLA w glebie. W trakcie eksperymentu nie zaobserwowano zmiany w liczebności populacji bakterii, liczba promieniowców *Streptomyces* nie wzrosła, natomiast liczba grzybów po 70 dniach procesu degradacji wzrosła w porównaniu z doświadczeniem kontrolnym. Niewielka ilość zidentyfikowanych jak dotąd gatunków mikroorganizmów rozkładających PLA nie musi oznaczać ich niewielkiej ilości w środowisku. Może to być spowodowane tym, że tylko 1% spośród nich wykazuje zdolność do wzrostu w warunkach laboratoryjnych, co pozwala na ich wyizolowanie i późniejszą identyfikację [171, 172].

Bardzo ważną rolę w procesie degradacji PLA odgrywają również enzymy. Degradacja enzymatyczna polega na adsorpcji enzymów na powierzchni polimeru, a w dalszym etapie na hydrolizie wiązań estrowych. Enzymy jako substancje wielkocząsteczkowe nie wnikają do wnętrza polimeru, lecz powodują wydajny rozpad łańcuchów polimerowych na jego powierzchni. Następnie fragmenty tworzywa są wchłaniane przez mikroorganizmy i wskutek przemian metabolicznych dochodzi do ich dalszej degradacji. Enzymami najczęściej zaangażowanymi w rozkład PLA są proteazy (EC 3.4) głównie serynowe i esterazy (EC 3.1).

Wśród enzymów uczestniczących w degradacji nie tylko czystego PLA, ale również kopolimerów i mieszanin z innymi polimerami jest proteinaza K. Proteinaza K hydrolizuje PLA zarówno poprzez odcinanie jednostek kwasu mlekowego od końców łańcucha, jak i w wyniku wewnętrznego cięcia łańcucha na oligomery. Co istotne, enzym ten nie jest zdolny do rozszczepiania wiązań pomiędzy formami D-kwasu mlekowego, dlatego też z punktu widzenia biodegradacji polilaktydu korzystniejsza jest większa zawartość L-kwasu mlekowego w cząsteczce polimeru. Ponadto wykazano, że proteinaza K wydzielana przez *Tritirachium album* hydrolizuje szybciej fazę amorficzną PLA niż fazę krystaliczną [173-175].

Degradacja L-PLA w temperaturze 50°C z użyciem komercyjnych proteaz badana była przez Oda i wsp. W badaniach tych wykazano, że w rozkładzie polimeru biorą udział proteazy zasadowe *Bacillus spp.* natomiast proteazy obojętne i kwasowe atakują polimer tylko w niewielkim stopniu [176]. Pranamuda i wsp. wyizolowali z *Amycolatopsis sp.* enzym o masie cząsteczkowej 43000Da, który jest zdolny do degradacji PLA, kazeiny oraz fibroiny jedwabiu, natomiast nie rozkłada on PCL i PHB. Optymalne warunki do działania enzymu to temperatura w przedziale 37-45 °C oraz pH równe 6. Ponadto wykazano, że enzym ten wykazuje większą specyficzność substratową od proteinazy K [177]. W badaniach Jarerata i wsp. stwierdzono, że *Tritirachium album*, w obecności żelatyny zdolny jest do wydzielania zewnątrzkomórkowego enzymu, należącego do proteaz, który rozkłada PLA, elastyny oraz fibroiny jedwabiu, natomiast podobnie jak wcześniej nie degraduje PCL, PHB i bursztynianu polibutylenu (PBS) [178]. Ponadto Sakai i wsp. wyizolowali z termofilnego szczepu *B. smithii* enzym o charakterze esterazy i masie cząsteczkowej 62500Da. Enzym ten w temperaturze 60°C, posiadał zdolność do degradacji zarówno wysokocząsteczkowego L-PLA jak i estrów kwasów tłuszczowych [179]. Dodatkowo wyizolowano również z drożdży *Cryptococcus sp. S-2* enzym o masie cząsteczkowej 20900Da o mechanizmie działania kutynaz, który jest zdolny do degradacji zarówno L-PLA, jak i innych poliestrów takich jak PCL, PHB oraz PBS [180].

Całkowita degradacja hydrolytyczna PLA warunkach *in vivo* wynosi od sześciu miesięcy do dwóch lat. Z danych literaturowych wynika, że im większy stopień krystaliczności, masa cząsteczkowa i wyższa temperatura topnienia PLA tym jego degradacja przebiega wolniej. Obecność wiązania estrowego w strukturze PLA umożliwia jego rozkład w różnych warunkach pH na związki nietoksyczne. Według wielu źródeł, dość nieoczekiwanie, bardziej podatne na degradację są oligomery L- w przeciwieństwie do oligomerów racemicznych [181, 182]. W **Tab. 1.3.2.1.**

zestawiono przybliżone czasy oraz produkty degradacji wybranych polimerów i kopolimerów laktydu.

Tab. 1.3.2.1. Czas degradacji polimerów i ich kopolimerów (na podstawie [183])

Polimer	Monomer	Produkt degradacji	Przybliżony czas degradacji [miesiąc]
Poli(l-laktyd) (PLLA)	L,laktyd	kwas mlekowy	6-12
Poli(L-laktyd- <i>ko</i> -D,L-laktyd) (PDLLA)	L,laktyd + D,laktyd		12-16
Poliglikolid (PGA)	α -glikolid	kwas glikolowy	>24
Poli(D,L-laktyd- <i>ko</i> -glikolid) (PLGA)	L,laktyd/ D,laktyd/ D,L-laktyd + α -glikolid	kwas mlekowy kwas glikolowy	5-6
Poli(ϵ -kaprolakton) (PCL)	ϵ -kaprolakton	kwas kapronowy	>24

1.3.2.2. Przebieg degradacji kopolimeru poli(L-laktyd-*ko*-politlenek etylenu)

Poprzez kopolimeryzację poli(L-laktydu) z politlenkiem etylenu, można poprawić zwilżalność materiału biodegradowalnego, jego szybkości degradacji, w wyniku czego kopolimery te wykazują duży potencjał zastosowania w zakresie dostarczania substancji aktywnych. W wypadku nośników formowanych z substancji czynnych, matryca z kopolimeru laktydu i PEG może zwiększyć możliwość obciążenie składnikiem aktywnym, zmniejszyć efekt gwałtownego początkowego uwalniania i przedłużyć czas przebywania substancji aktywnej *in vivo* [184].

Przeprowadzone badania degradacji kopolimeru poli(L-laktyd-*ko*-politlenek etylenu) wykazały, że obecność segmentów PEG wewnątrz łańcuchów PLA silnie wpływa na właściwości kopolimeru blokowego w odniesieniu do degradacji homopolimeru PLA.

Szybszy rozkład kopolimeru PLA-PEG można przypisać obecności hydrofilowego segmentu PEG, który skutecznie zwiększa ilość wchłanianej wody do matrycy polimerowej, wyzwalając przyspieszoną depolimeryzację łańcuchów poprzez hydrolizę wiązań estrowych. Ponadto, szybkość dyfuzji H₂O, sprzyjająca depolimeryzacji hydrolitycznej, jest większa w zdezorganizowanej fazie amorficznej polimeru, a powszechnie wiadomo, że łańcuchy polimerowe w fazie amorficznej powyżej temperatury zeszklenia T_g są bardzo ruchliwe, a więc łatwo ulegają degradacji [185, 186].

1.3.2.3. Przebieg degradacji kopolimeru poli(laktyd-ko-glikolid)

Kopolimer PLGA degraduje poprzez rozerwanie wiązań estrowych w łańcuchu polimeru w wyniku hydrolitycznego ataku cząsteczek wody. Hydroliza kopolimeru zachodzi z wytworzeniem zarówno pierwszorzędowego alkoholu, jak i kwasu karboksylowego. Nagromadzenie produktów hydrolizy kwasu karboksylowego w matrycach PLGA prowadzi do autokatalizy reakcji hydrolizy. Zachodzi ona przez protonowanie karbonylowego tlenu, co ułatwia reakcję poprzez stabilizację tetraedrycznego związku pośredniego. Oprócz autokatalizy inne czynniki mogą wpływać na szybkość hydrolizy PLGA i dlatego można je modyfikować, aby zmienić szybkość uwalniania składnika aktywnego z matrycy. Po pierwsze, końcowe grupy kwasu karboksylowego powodują, że polimer jest bardziej hydrofilowy, co prowadzi do zwiększenia wchłaniania wody, a tym samym do hydrolizy, natomiast po drugie, kwasy karboksylowe w macierzy PLGA mogą nasilać autokatalizę degradacji wiązania estrowego. Zatem zestryfikowane grupy końcowe zmniejszają szybkość hydrolizy PLGA.

Na szybkość degradacji, w tym zdolność do hydrolizy, zachowanie się podczas pęcznienia oraz na wytrzymałość mechaniczną bezpośredni wpływ ma również stopień krystaliczności polimeru. Na stopień krystaliczności kopolimeru poli(laktyd-ko-glikolid) (PLGA), wpływa natomiast rodzaj i stosunek molowy poszczególnych składników monomeru w łańcuchu kopolimeru. Kopolimeryzacja równomolowej mieszaniny L-laktydu i glikolidu, prowadzi do uzyskania PLGA o bardzo niskim stopniu krystaliczności lub wręcz amorficznego, a w rezultacie powoduje to zwiększenie szybkości uwodnienia i hydrolizy kopolimeru. Z reguły wyższa zawartość jednostek glikolidylowych w łańcuchu prowadzi do wzrostu szybkości degradacji, z wyjątkiem kopolimerów równomolowych PLA/PGA 50:50, który wykazuje najszybszą degradację z pośród rodziny kopolimerów PLGA ze względu właśnie na najniższy stopień krystaliczności. Przy wyższej zawartości glikolidylu zachodzi ponowne zmniejszenie szybkości degradacji. Co istotne stopień krystaliczności i temperatura topnienia polimerów są bezpośrednio związane również z masą cząsteczkową kopolimeru [187-189].

Ponadto, w badaniach Keles i współpracowników [190] wykazano, że stałe szybkości degradacji jednostek laktydylowych i glikolidylowych zmniejszają się wraz ze wzrostem początkowej zawartości laktydu w kopolimerze, co sugeruje, że malejąca

zdolność cząsteczki wody do dyfuzji do coraz bardziej hydrofobowej próbki ma duży wpływ na kinetykę degradacji kopolimerów.

1.3.3. Przebieg degradacji kopolimerów szczepionych na polisacharydach

Biodegradacja polimerów zawierających skrobię polega na ataku enzymatycznym na wiązania glikozydowe znajdujące się pomiędzy cząsteczkami sacharydu oraz prowadzi do redukcji długości łańcucha w jednostce cukrowej. Przy zawartości skrobi, poniżej 60% w matrycy, cząsteczki policukru zawierające te relatywnie bardzo słabe wiązania, stają się miejscem biologicznego ataku. Prowadzi to do rozpadu tworzywa na małe fragmenty, lecz nie powoduje biodegradacji całej struktury polimerowej, a jedynie jej defragmentację. Mikroorganizmy glebowe oraz enzymy hydrolityczne z łatwością rozkładają wiązania glikozydowe w łańcuchu polisacharydowym. Alfa-amylaza (1,4- α -D-glukanoglukanohydrolaza) jest dobrze znanym enzymem, który hydrolizuje (1 \rightarrow 4) wiązania między resztami α -D-glukopiranozyłowymi. Hydroliza zachodzi w sposób losowy na dowolnym (1 \rightarrow 4) wiązaniu w łańcuchu polisacharydowym w celu szybkiego zmniejszenia wielkości cząsteczek skrobi oraz zmniejszenie lepkości [191, 192].

Chemiczna modyfikacja skrobi poprzez szczepienie z biodegradowalnymi polimerami, takimi jak PCL i PLA pozwala otrzymać kopolimery całkowicie biodegradowalne przez bakterie i o znacznie lepszych właściwościach mechanicznych. Hydrofobowe szczepione rozgałęzienia sprawiają, że kopolimer szczepiony będzie bardziej mieszalny z matrycą plastyczną niż skrobia niemodyfikowana. Ponadto w przypadku degradacji tworzywa sztuczne wypełnione kopolimerami szczepionymi są stosunkowo łatwo atakowane przez mikroorganizmy glebowe, a tworzywa te wykazują również wyższą wytrzymałość na rozciąganie i lepszy wygląd niż te wypełnione niemodyfikowaną skrobią. Dlatego kopolimery szczepione skrobia-g-PCL oraz skrobia-g-PLA, można stosować bezpośrednio jako tworzywa termoplastyczne lub jako kompatybilizator w mieszaninach skrobia-PCL lub skrobia-PLA [193].

W badaniach degradacji kompozycji skrobia-g-PCL, wykazano, że naturalna biodegradowalność poliestru macierzystego wzrasta wraz z kompatybilizacją. Zmniejszenie napięcia międzyfazowego między PCL, a skrobią oraz wytrącanie skrobi na powierzchni polisacharydu szczepionego PCL wpływały na zwiększenie stopnia degradacji układu. Degradacja kopolimeru skrobia-g-PCL, rozpoczyna się od degradacji skrobi i rośnie wraz z zawartością naturalnego wypełniacza. W zależności od wydajności

szczepienia i udziału wagowego szczepionych łańcuchów PCL może wystąpić wzrost krystaliczności PCL w bezpośrednim sąsiedztwie powierzchni skrobi, co ogranicza dostępność drobnoustrojów i proces degradacji [194].

W przypadku badań nad degradacją tworzyw termoplastycznych opartych na skrobi termoplastycznej (TPS) oraz termoplastycznej skrobi szczepionej (TPGS) wykazano, że enzymatyczna hydroliza skrobi w TPS i TPGS przy użyciu enzymów amylolitycznych przebiega niemalże całkowicie. Reszty otrzymane z TPGS szczepionego PCL po degradacji enzymatycznej to głównie łańcuchy PCL, co wskazuje na wyższy stopień degradacji skrobi [195].

W badaniach Yanga i współpracowników badano wpływ procesu szczepienia PLA na powierzchni ziaren skrobi na obniżenie wodoodporności kompozytów skrobia-g-PLA. Analiza SEM i FTIR wykazała, że St-g-PLA był obecny na powierzchni folii, podczas gdy niezmodyfikowana skrobia była kapsułkowana wewnątrz matrycy PLA. Doprowadziło to do dużych i nieoczekiwanych różnic w wodoodporności folii podczas degradacji w wodzie. St-g-PLA był łatwo rozpuszczalny i szybko wypłukiwany z folii w wodzie. Niezmodyfikowane granulki skrobi były chronione przez matrycę PLA i na podstawie utraty wagi i obrazów SEM było jasne, że proces ługowania rozpoczynał się dopiero po 4 tygodniach. Różnice są wyraźnie widoczne na zdjęciach SEM powierzchni folii i przekrojów poprzecznych, gdzie porowata matryca PLA pozostaje po degradacji folii St-g-PLA, podczas gdy proces ługowania dopiero się rozpoczyna w przypadku mieszanin skrobia/PLA [196].

Podsumowując proces degradacji kopolimerów szczepionych na policukrach, zależy przede wszystkim od wydajności kompatybilizacji. Wraz ze wzrostem stopnia kompatybilizacji zwiększa się stopień degradacji polimeru macierzystego. Ponadto poprzez spadek napięcia międzyfazowego między wypełniaczem, a polimerem polepszeniu ulega degradacja całego układu.

1.3.4. Degradacja mieszanin polimerowych

Powszechnie przyjęto, że w celu zaspokojenia potrzeb na nowe materiały, nie zawsze konieczne jest produkowanie nowych polimerów, natomiast bardzo często wystarczy mieszanie już istniejących, albo nawet recykulowanych polimerów, co jest obiecującym podejściem do ekologicznej i ekonomicznej eksploatacji odpadów tworzyw sztucznych. Ponadto tworzenie mieszanin może być realizowane szybciej i jest tańszą alternatywą niż realizacja nowego procesu produkcyjnego. Mieszanie polimerów ma

rozwinętą bazę naukową, a imponujący wzrost komercjalizacji mieszanin jest jedną z najbardziej widocznych i szybko rozwijających się cech współczesnego przemysłu polimerowego [197, 198].

Mieszaniny polimerowe są jednorodnymi kompozytami różnych handlowo dostępnych polimerów. Tworzy się je przez mieszanie w stanie stopionym lub mieszanie w roztworze i/lub przez współstrącanie lub koagulację układów powstających w wyniku polimeryzacji monomeru. Właściwości otrzymanych materiałów można dostosować do wymagań lub oczekiwań dotyczących określonych nowych zastosowań z zadowalającą równowagą szerokiego zakresu właściwości materiałów i kosztów. Mieszalność i kompatybilność polimerów składowych to najważniejsze z właściwości tego materiału. Mieszaniny polimerów mogą być jednorodne lub niejednorodne pod mikroskopem, ale nie powinny wykazywać żadnej oczywistej niejednorodności w skali makroskopowej. Mieszanina, która jest niejednorodna na poziomie makroskopowym i wykazuje objawy segregacji polimeru, jest uważana za niekompatybilną [198]. Niski stopień kompatybilności jest poważnym problemem napotykanym w mieszaninach polimerów dlatego też dokłada się wszelkich starań, aby zwiększyć kompatybilność poprzez zastosowanie odpowiednich dodatków – kompatybilizatorów, które zmniejszają rozmiary zdyspergowanych cząstek i zapobiegają niepożądanym procesom, takim jak rozdzielanie faz, rozwarstwienie lub aglomeracja [197].

Znajomość mechanizmów degradacji homopolimerów i kopolimerów tylko w pewnym stopniu jest pomocna w wyjaśnieniu degradacji mieszanin polimerowych. Bardzo często poszczególne składniki mieszaniny mogą zachowywać się inaczej niż jako izolowane polimery, stąd też proces mieszania może polepszyć odporność mieszaniny na degradację lub wręcz przeciwnie osłabić ją. Niejednorodny charakter układu, reakcje w masie i na granicach poszczególnych faz oraz udział wysoko- i niskocząsteczkowych produktów degradacji zwiększają złożoność reakcji zachodzących podczas procesu degradacji tych kompozytów. Dlatego też zachowanie się mieszanin polimerowych podczas degradacji jest trudne do przewidzenia bez badań eksperymentalnych [197].

Przeprowadzono szereg badań dotyczących biodegradowalności mieszanin skrobi w różnych mediach degradacyjnych.

W przypadku degradacji folii skrobia/PLA, procent mineralizacji był wyższy niż wymagane minimum 60% pozwalające zaklasyfikować związek jako biodegradowalny [199]. Odkryto, że dodatek skrobi zwiększa biodegradację składnika PLA. Oceniono również kompostowalność samego PLA w porównaniu z mieszaninami skrobi/PLA

z różnymi ilościami skrobi. Po 30 dniach wszystkie badane próbki uległy całkowitej biodegradacji i podczas oględzin nie zaobserwowano żadnych pozostałości. Test ekotoksyczności, w którym tempo kiełkowania i wzrostu roślin gatunków jednoliściennych i dwuliściennych na powstałym kompoście nie uległo istotnym zmianom, co wykazało, że zarówno sam PLA, jak i mieszaniny skrobi/PLA okazały się bezpieczne dla ekosystemu [200]. W dwuetapowym badaniu zachowania się wytłaczanych folii z mieszanin skrobio/PLA w mulczu (okrywie ochronnej gleby), procent biodegradacji mieścił się w przedziale 80-94%, a utrata masy próbek wynosiła po 30 dniach około 74% [201]. Natomiast w innym badaniu, gdzie PLA zmieszano z chemicznie modyfikowaną skrobią termoplastyczną (CMTPS) w wytłaczarce dwuślimakowej, biodegradowalność mieszanin wzrastała wraz ze wzrostem zawartości CMTPS, ponieważ CMPS ulegał pełnej degradacji w ciągu 42 dni [202].

Przeprowadzono również badania z użyciem PLA, skrobi oraz kompatybilizatorów lub innych substancji. Oceniono biodegradację mieszanin PLA/skrobi formowanych z użyciem bezwodnika maleinowego (MA) jako reaktywnego kompatybilizatora. Biodegradowalność wzrastała wraz ze wzrostem zawartości skrobi, a mieszaniny kompatybilne z MA wykazywały szybszą biodegradowalność w porównaniu z mieszaninami bez MA [203]. Biodegradowalność samego PLA i kompozytów skrobio kukurydziana/PLA z diizocyjanianem lizyny lub bez niej oceniano za pomocą testów degradacji enzymatycznej z użyciem proteinazy K i testów degradacji w glebie. Wszystkie kompozyty z czasem ulegały stopniowej degradacji z wyjątkiem czystego PLA, a szybkość degradacji wzrastała wraz ze wzrostem zawartości skrobi kukurydzianej [204]. Wpływ dodatku PEG do mieszanin PLA/TPS na właściwości biodegradacyjne mieszanin badano za pomocą 5-miesięcznego testu degradacji w glebie. Wyniki wykazały, że dodanie PEG powoduje szybszą degradację mieszanin, ze znaczną utratą wagi i utratą właściwości mechanicznych, a ponadto degradacja tych kompozytów poprawiła się wraz ze wzrostem zawartości TPS [205].

Mieszaniny skrobi/PVA to jedne z najczęściej biodegradowalnych tworzyw sztucznych stosowanych jako opakowania oraz w zastosowaniach rolniczych. Przeprowadzono szereg badań w celu określenia ich biodegradowalności [206]. Zbadano wpływ zawartości skrobi na biodegradowalność folii z mieszaniny skrobio/PVA na podstawie ubytku masy próbek w glebie przez 30 dni. Spadek masy próbek wzrastał wraz ze wzrostem zawartości skrobi i czasu eksperymentu. Folie z największą zawartością skrobi miały najwyższe wartości utraty wagi. W przypadku niektórych

mieszanin skrobia/PVA umieszczonych w glebie na 45-dniowy okres testowy zaobserwowano biodegradację od 28 do 38% wagi w mieszaninach zawierających od 0 do 30% skrobi. Ponadto naukowcy doszli do wniosku, że wraz ze wzrostem zawartości skrobi w większości przypadków wzrasta również tempo biodegradacji [207, 208]. Badanie biodegradowalności przez zakopanie w glebie i kompoście folii z mieszaniny skrobi kukurydzianej/PVA wykazało, że folie zawierające skrobię kukurydzianą ulegały silnej biodegradacji enzymatycznej zarówno w glebie, jak i kompoście [209].

Zbadano również biodegradowalność mieszanin skrobia/PCL. Dla przykładu blendy skrobi kukurydzianej oraz skrobi amarantusowej oraz dodatkowo mieszanin z dodatkiem gliceryny degradowano w beztlenowym środowisku osadu czynnego pochodzącego z miejskiej oczyszczalni ścieków. Mieszaniny z gliceryną wykazywały lepsze właściwości mechaniczne i wyższy stopień biodegradacji. Biodegradowalność skrobi wahała się od 70% dla skrobi kukurydzianej do 81% dla skrobi amarantusowej, jednak biodegradacja PCL była bardzo niska i osiągnęła tylko 2% [210].

W opublikowanej literaturze dotyczącej biodegradacji mieszanin skrobia/PBS można wymienić tylko kilka badań. Przykładem jest badanie porównania szybkości biodegradacji w glebie mieszaniny skrobia/PBS, czy PBS/PLA. Najwyższą zdolność do rozkładu wykazywały mieszaniny skrobia/PBS, następnie PBS i dopiero potem PBS/PLA [211].

Podsumowując mieszaniny skrobi z innymi polimerami są sposobem na przewyciężenie wad skrobi natywnej. Stopień kompatybilności między skrobią i innymi biopolimerami różni się znacznie w zależności od konkretnego polimeru, natomiast jeśli chodzi o zdolność do degradacji, ważne jest, aby podczas doboru mieszaniny do danego zastosowania brać pod uwagę również fakt, że właściwości mechaniczne najczęściej mają odwrotny związek z zdolnością do degradacji takiego kompozytu [212].

1.4. Kierunki zastosowań polimerów biodegradowalnych w rolnictwie

Pierwsze doniesienia o wykorzystaniu materiałów polimerowych w rolnictwie pojawiły się w latach 50-tych XX wieku, kiedy to zaczęto stosować folie z tworzywa sztucznego do ściółkowania pokryw szklarniowych, produkcji doniczek oraz systemów nawadniających, a także do tworzenia tzw. zespołów siewnych do precyzyjnej dystrybucji nasion i składników odżywczych. Najważniejszą zaletą wprowadzenia do rolnictwa osłon polimerowych jest możliwość uzyskania większych plonów w krótszym okresie czasu. Poprzez zachowanie wilgoci możliwe jest efektywniejsze wykorzystanie wody oraz uniezależnienie produkcji od warunków klimatycznych, natomiast w wyniku mechanicznego ograniczenia wzrostu chwastów możliwe jest zmniejszenie zużycia pestycydów, a tym samym ograniczenie zanieczyszczenia środowiska agrochemikaliami.

Pierwotnie folie dla zastosowań w agrochemii, stosowane były tylko w państwach o wysokim poziomie rozwoju gospodarczego takich jak Francja, USA i Japonia, jednak z czasem dołączyły do nich kraje rozwijające się stosując tego typu rozwiązania szczególnie w branży ogrodniczej [213]. Aktualnie światowym liderem w produkcji oraz wykorzystaniu folii polimerowych dla zastosowań w rolnictwie są Chiny, które stają przed wyzwaniem wykarmienia blisko 22% całej populacji ludzkiej. To właśnie na terenie Chin zlokalizowane są największe obszary upraw, które stosują ściółkowanie (18,5mln ha), produkcję pod niskimi tunelami (1,1 mln ha), wysokimi tunelami (2,9 mln ha) a także sieciami (0,15 mln ha), z zastosowaniem materiałów polimerowych, dzięki czemu możliwe jest sprostanie temu wyzwaniu [214].

1.4.1. Folie oraz włókniny ściółkujące

Stosowanie na szeroką skalę materiałów polimerowych takich jak polietylenowe folie lub polipropylenowe włókniny, których trwałość jest dodatkowo wzmocniana dodatkiem fotostabilizatorów, a ich rozkład w warunkach klimatu umiarkowanego następuje po wielu latach, stanowi poważny problem środowiskowy. Do najważniejszych zagrożeń wynikających z masowego ściółkowania materiałami polimerowymi, wskazywanymi przez wielu autorów, należą dodatki zawarte w foliach i włókninach, w tym pestycydy. Ściółkowanie może również powodować długotrwałe zmiany w biocenozie grzybów chorobotwórczych i może przyspieszyć metabolizm węgla i azotu [215].

Problemy związane z zagospodarowaniem pozostałości materiałów polimerowych stale wymusza poszukiwanie nowych technologii wytwarzania tworzyw z odnawialnych surowców, których rozkład przebiega stosunkowo szybko i bez szkodliwego oddziaływania na środowisko naturalne, dlatego też stale wzrasta udział polimerów biodegradowalnych w materiałach stosowanych w rolnictwie. Obecnie bardzo atrakcyjne, z ekologicznego punktu widzenia, materiały wykonane z polimerów biodegradowalnych, stają się interesujące również ze względów ekonomicznych, na skutek rozszerzenia skali i obniżenia kosztów ich produkcji [216, 217].

Na szczególną uwagę zasługują używane w rolnictwie folie oraz włókniny biodegradowalne, które są stosowane do ściółkowania oraz pokrywania powierzchni gleby. Wykorzystywane w tym celu materiały biodegradowalne powinny przy niezbyt dużej gramaturze, być jednocześnie wystarczająco wytrzymałe mechanicznie, zachowywać odpowiednią stabilność podczas przechowywania i użytkowania, a także po zakończeniu uprawy ulegać całkowitej degradacji w glebie. W zależności od składu chemicznego, sposobu produkcji oraz szybkości starzenia się materiałów polimerowych, można modyfikować i dostosować właściwości folii zgodnie z ich docelowym przeznaczeniem [218].

Podstawowym wyzwaniem dla materiałów biodegradowalnych, które są stosowane od lat 90. w wielu krajach w postaci ściółek na glebę, bezpośrednich osłon, a także folii i siatek – jest zapewnienie dostępności przyjaznych dla środowiska materiałów. Ich celem jest poprawa stanu środowiska poprzez eliminację marnotrawstwa oraz stymulowanie gospodarek, zwłaszcza w biedniejszych krajach. Dalszymi celami, do których powinny dążyć materiały ulegające biodegradacji, są minimalizacja zużycia pestycydów i wody, bez zmniejszania wpływu tych pokryw na plon, wczesność i jakość warzyw [219].

Materiały biodegradowalne wykorzystywane jako ściółki i/lub doniczki produkowane są z surowców takich jak skrobia, poli(laktyd) oraz biodegradowalne poliestry często uzyskiwane w procesach biotechnologicznych odpadów [220].

W wielu ośrodkach naukowych na świecie prowadzone są badania nad wykorzystaniem dostępnych materiałów bio- i fotodegradowalnych w uprawie roślin, mające na celu potwierdzenie ich korzystnego oddziaływania na środowisko naturalne oraz wydajność plonów.

Pomimo silnych argumentów przemawiających za korzyściami wykorzystania materiałów biodegradowalnych w produkcji roślinnej wciąż istnieje duże grono

przeciwników, podkreślających m.in. wysoką cenę surowców, wydłużony okres degradacji wymagający określonych warunków [221].

Materiały polimerowe dla rolnictwa można skwalifikować jako:

- tworzywa sztuczne, które nie podlegają rozkładowi, są stabilne mechanicznie, wodoodporne, a ponadto odporne na atak mikroorganizmów;
- tworzywa sztuczne łatwo ulegające degradacji, proces degradacji nie jest w pełni kontrolowany, a czas degradacji zależy od dodatków stabilizujących;
- tworzywa sztuczne o kontrolowanej degradacji (programowane tworzywa ulegające rozkładowi) są materiałami do określonych zastosowań, które ulegają degradacji w określonym czasie podczas i po ekspozycji na promieniowanie UV;
- tworzywa sztuczne ulegające degradacji w środowisku, szeroka grupa naturalnych i syntetycznych materiałów polimerowych, które muszą również należeć do jednej z dwóch poprzednich kategorii – ulegają zmianie chemicznej, a następnie asymilacji mikrobiologicznej pod wpływem czynników środowiskowych [221].

W obecnej praktyce stosuje się również szersze nazewnictwo ściółkujących materiałów polimerowych, który obejmuje:

- tworzywa oksydowalne i fotodegradowalne – wykonane z polietylenu niskiej gęstości (LDPE), polipropylenu (PP) lub polistyrenu (PS), z dodatkiem soli metali kowalencyjnych - żelaza, magnezu lub kobaltu. Proces degradacji obejmuje tutaj utlenianie łańcuchów polimerowych pod wpływem światła;
- kompostowalne tworzywa sztuczne – wykonane z PLA lub alifatycznego poliestru ze skrobi kukurydzianej, korzeni tapioki lub trzciny cukrowej;
- w pełni biodegradowalne tworzywa sztuczne – wykonane z PBS lub PLA ulegające przyspieszonej biodegradacji w podwyższonej temperaturze [221, 222].

Istnieje kilka przykładów komercyjnych biodegradowalnych i oksydegradowalnych ściółek formowanych z tworzyw jak Mater-Bi®, Enviroplast®, MimGreen® i Saikraft® oraz włókniny rozdmuchiwane - Bionolle™ [223].

Mater-Bi® to innowacyjna rodzina biodegradowalnych i kompostowalnych biotworzyw uzyskiwanych za pomocą innowacyjnych technologii wykorzystujących skrobie, celulozę oraz oleje roślinne i ich kombinacje. Wszystkie gatunki Mater-Bi® są

certyfikowane przez jednostki certyfikujące zgodnie z głównymi normami europejskimi i międzynarodowymi. Właściwości użytkowe Mater-Bi® są bardzo podobne do właściwości tradycyjnych tworzyw sztucznych, przy jednoczesnych właściwościach biodegradowalnych i kompostowalnych zgodnymi z europejską normą UNI EN 13432. Biodegradowalność i właściwości kompostowalne Mater-Bi® oraz wysoka zawartość surowców odnawialnych umożliwiają optymalne gospodarowanie odpadami organicznymi, zmniejszają wpływ na środowisko i przyczyniają się do rozwoju systemów, z istotnymi zaletami w całym cyklu produkcyjno-konsumpcyjnym. Folia Mater-Bi® ma podobne właściwości mechaniczne i właściwości użytkowe jak tradycyjne folie, o czym świadczy ponad 10 lat badań, rozwoju i zastosowań komercyjnych w tej dziedzinie.

Mater-Bi® okazał się być alternatywnym i zrównoważonym materiałem do stosowania jako dozowniki feromonów. Isagro Italia wprowadziła na rynek nowy dozownik feromonów Ecodian, wykonany z materiałów biodegradowalnych i kompostujących Mater-Bi®. Dozowniki Ecodian pozwalają na znaczne ograniczenie stosowania środków owadobójczych; nie trzeba go usuwać pod koniec sezonu (jak w przypadku wszystkich tworzyw sztucznych) i można go pozostawić w glebie, ponieważ dozownik nie zatrzymuje feromonu. W pełni biodegradowalne i kompostowalne klipsy Mater-Bi® zapewniają taką samą wydajność, jak tradycyjne klipsy plastikowe, poprawiające prowadzenie łodyg. Po zbiorach upraw, takich jak pomidory lub ogórki szklarniowe, w pełni ulegają biodegradacji i są kompostowalne wraz z odpadami roślinnymi. Klipsy do prowadzenia łodyg wykonane z konwencjonalnych tworzyw sztucznych powodują problem, ponieważ są przymocowane do roślin, a zatem trudne do usunięcia, przez co stanowią źródło zanieczyszczenia końcowego kompostu, a usunięcie tego zanieczyszczenia jest kosztowne. Produkty biodegradowalne i kompostowalne są rozwiązaniem tego problemu, ponieważ w pełni ulegną biodegradacji i będą kompostowały wraz z odpadami roślinnymi (**Rys. 1.4.1.1.**) [224].



Rys. 1.4.1.1. Przykłady dozownika feromonów oraz klipsów Mater-Bi®
[<http://materbi.com/en/solutions/agriculture> - dostęp: 07.07.2020]

Bionolle™ jest jednym z najbardziej przydatnych materiałów biodegradowalnych w formowaniu folii wykorzystywanych do celów rolniczych oraz produkcji toreb kompostowalnych m.in. worków na śmieci, doniczek na rośliny, filamentów, przędzy, siatki, butelek oraz rękawiczek. Bionolle™ jest to tworzywo oparte na alifatycznym poliestrze otrzymywanym w reakcji polikondensacji kwasu bursztynowego i 1,4 butanodiolu. Choć Bionolle™ jest dość stabilny w normalnych warunkach, ulega szybkiej biodegradacji w obecności mikroorganizmów, np. w kompoście, wilgotnej glebie, wodzie oraz osadzie czynnym. Rozkłada się całkowicie na wodę i dwutlenek węgla. Dzięki swoim właściwościom z powodzeniem nadaje się do wytłaczania rozdmuchem folii o wysokiej jakości przy użyciu konwencjonalnych urządzeń. Folia wykonana z Bionolle™ wykazuje doskonałe właściwości mechaniczne podobne do folii z polietylenu o niskiej gęstości (LLDPE) (**Rys. 1.4.1.2.**) [225].



Rys. 1.4.1.2. Folia do ściółkowania Bionolle™ [<https://www.showa-denko.com> - dostęp: 07.07.2020]

1.4.2. Polimery superchłonne (hydrożele)

Ponieważ niemalże wszystkie procesy rolnicze wymagają utrzymania stałego systemu nawadniania, w celu dostarczenia odpowiedniej ilości składników odżywczych do gleby, interesującym rozwiązaniem jest zastosowanie polimerów z superabsorbentu polimerowego (SAP). W obecności wody SAP są w stanie pęcznić i zatrzymywać wodne roztwory, utrzymując wilgotność gleby przez dłuższy czas [226].

Zdolność do zatrzymywania wody i pęcznienia SAP można wyjaśnić za pomocą wieloetapowego mechanizmu. Pierwszy etap obejmuje hydratację grup hydrofilowych obecnych w sieci polimeru z silnymi wiązaniami z wodą. Wtórne słabsze wiązania powstają z wodą w wyniku oddziaływania wody z odsłoniętymi grupami hydrofobowymi. W kolejnym kroku usieciowania fizyczne lub chemiczne minimalizują

wpływ sił osmotycznych, które doprowadziłyby do nieskończonego rozcieńczenia sieci polimerowej i z tego powodu sieć zatrzymuje dodatkową wodę [226].

Folie polimerowe o właściwościach pęcznienia można wytwarzać z wielu materiałów polimerowych jednak aktualnie dużą popularnością cieszą się polimery o podwyższonej zdolności do biodegradacji.

Sharma i wsp. [227] opisali syntezę wzajemnie przenikających się sieci polimerowych opartych na poli(kwasie asparaginowym), który cechuje się wysoką zdolnością biodegradacji. Badania te sugerują również, że ulepszenie drogi syntezy poprzez włączenie biochemicznych środków sieciujących lub naładowanych grup funkcyjnych do hydrofilowych biopolimerów zwiększyłoby zdolność materiału do biodegradacji, jak również zwiększyłby jego chłonność.

Cannazza i wsp. wykorzystali do otrzymania SAP na bazie celulozy, pochodne soli sodowej karboksymetylocelulozy i hydrometylocelulozy. Otrzymane materiały charakteryzowały się wysoką skutecznością pęcznienia, retencji wody oraz kondycjonowania gleby [228]. Ponadto Dragan, w swoich badaniach opisał hydrożele oparte na materiałach biopolimerowych, takich jak chitozan, alginian, skrobia oraz celuloza, udowadniając wzrost pojemności sorpcyjnej materiału, szczególnie po wprowadzeniu pochodnych celulozy do sieci polimerowej [229].

Oprócz kondycjonowania gleby, SAP można również stosować do powolnego uwalniania nawozów do gleby. Zhan i wsp. opisali syntezę SAP łączącego grupy alkoholu poliwinylowego z kwasem fosforowym (H_3PO_4) poprzez estryfikację [230]. W tym przypadku materiał miał właściwość nie tylko pochłaniania i zatrzymywania wody, ale także uwalniania nawozu fosforowego. Mechanizm uwalniania można wyjaśnić pęcznieniem materiału hydrożelowego po zanurzeniu w wodzie, takim jak hydroliza bocznych grup fosforanowych w sieci polimerowej. W konsekwencji rozpuszczone grupy fosforanowe dyfundowały z hydrożelu na skutek różnicy gradientów stężeń wewnątrz i na zewnątrz materiału [231].

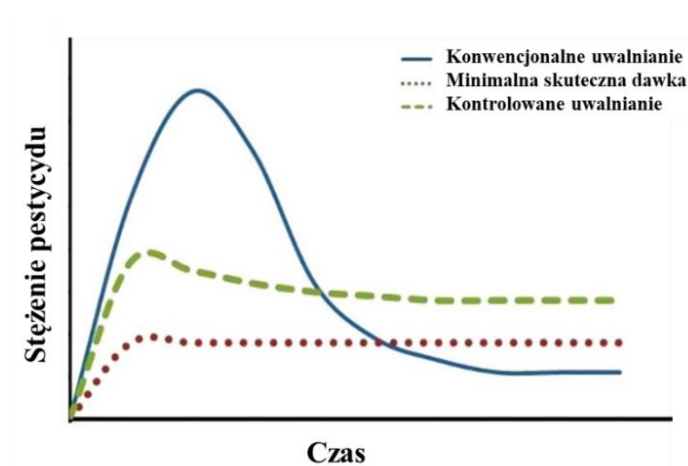
Uwięzienie NPK wewnątrz kompozytu o bardzo wysokiej chłonności poli(kopolimeru kwasu akrylowego) i glinki kaolinowej badał Liang i wsp. [232]. Dodanie gliny do syntetycznego polimeru było próbą obniżenia kosztów i polepszenia zdolności pęcznienia materiału. W badaniach tych ustalono, że mechanizm uwalniania zależy od temperatury. Wraz ze wzrostem temperatury, zwiększa się rozpuszczalność składnika odżywczego oraz polepszeniu ulega tempo jego uwalniania.

Innym przykładem są badania Jamnongkan i Kaewpirom, którzy zsyntetyzowali i przetestowali trzy różne hydrożele: pierwszy oparty na poli(alkoholu winylowym), drugi oparty na kombinacji poli(alkoholu winylowego) i chitozanu, a ostatni składający się wyłącznie z chitozanu. Analiza zdolności pęcznienia tych materiałów w glebie wykazała, że hydrożel wykonany z czystego PVA był tym, który gwarantował najlepsze kondycjonowanie gleby. Jeśli chodzi o zdolność uwalniania potasu w glebie, najbardziej obiecujący był czysty hydrożel chitozanu [233].

Konieczność dalszego stosowania hydrożeli w rolnictwie, a także odkrywania i syntezy materiałów przyjaznych środowisku, takich jak biopolimery, charakteryzujących się wysoką biodegradowalnością w glebie jest nieunikniona. Pomimo trudności jaką jest utrzymanie imponującej zdolności pęcznienia przy jednoczesnym odpowiednim uwalnianiu składników aktywnych wciąż podejmowane są próby otrzymania nowych materiałów polimerowych dodatkowo spełniających wymagania biodegradowalności.

1.4.3. Systemy kontrolowanego uwalniania pestycydów

System kontrolowanego uwalniania polega na kontrolowanym uwalnianiu substancji czynnej z nośników na docelową powierzchnię w celu utrzymania z góry określonego, stałego poziomu stężenia przez określony czas. W przeciwieństwie do konwencjonalnego systemu uwalniania charakteryzującego się uwalnianiem wysokiej dawki w początkowym etapie procesu która szybko spada poniżej skutecznego poziomu, preparaty o kontrolowanym uwalnianiu pozwalają utrzymywać optymalny poziom aktywności przez dłuższy i kontrolowany czas (**Rys. 1.4.3.1.**).



Rys. 1.4.3.1. Teoretyczne stężenie pestycydu podczas konwencjonalnego i kontrolowanego uwalniania

Zastosowanie systemów kontrolowanego uwalniania pozwala na:

- Wydłużenie okresu działania aktywnych substancji chwastobójczych, poprzez kontrolowane stopniowe uwalnianie w ilościach optymalnych dla osiągnięcia pożądanego efektu,
- Przedłużenie i równomierne w czasie uwalnianie substancji aktywnych obniżające ich nadmierną dawkę w trakcie pojedynczego zabiegu zmniejszając tym samym ich toksyczność,
- Obniżenie kosztów poprzez zmniejszenie ilości zabiegów agrotechnicznych,
- Zmniejszenie strat środków użytkowych związanych z odparowywaniem, zdmuchiwanym przez wiatr, biodegradacją czy wypłukiwaniem w głąb profilu glebowego,
- Wydłużenie terminu aktywności dla nietrwałych (niestabilnych) substancji aktywnych wrażliwych zwłaszcza na działanie wilgoci,
- Zmniejszenie zanieczyszczenia środowiska poprzez wyeliminowanie potrzeby szerokiego rozpowszechnienia dużej ilości pestycydu jednorazowo, zmniejszając w ten sposób niepożądane skutki uboczne strat agrochemicznych przez parowanie i degradację lub wymywanie przez deszcz do gleby lub cieków wodnych,
- Zmniejszenie fitotoksyczności oraz toksycznego wpływu na zwierzęta poprzez obniżenie wysokiej mobilności pestycydów w glebie, a tym samym zmniejszenie ich pozostałości w łańcuchu pokarmowym [234-236].

W rolnictwie systemy kontrolowanego uwalniania znalazły zastosowanie przy dostarczaniu agrochemikaliów tj. pestycydów, herbicydów oraz nawozów. Z racji tego, że jak wcześniej wspomniano stosowanie pestycydów stało się warunkiem niezbędnym do uzyskania zadowalającej jakości plonów, a aż 90% ilości aplikowanych preparatów jest traconych i przedostaje się jako zamieszczenie do środowiska, niezbędne jest zastosowanie technologii kontrolowanego uwalniania z zastosowaniem polimerów. Ze względu na konieczność ograniczenia przedostawania się zanieczyszczeń do środowiska naturalnego polimery stosowane w systemach kontrolowanego uwalniania pestycydów, powinny ulegać degradacji, najlepiej przez produkty biodegradacji jako środki spulchniające lub odżywiające glebę poprawiając tym samym właściwości fizyczne i biologiczne podłoża [237].

Wśród formułacji środków ochrony roślin lub nawozów o przedłużonym działaniu najbardziej popularnymi nośnikami są naturalne polimery biodegradowalne takie jak: celuloza, skrobia, oraz ich zmodyfikowane pochodne, a także kompozycje z laktydem, polikaprolaktonem lub polihydroksymaślanem. Polimery te wypierają z zastosowania nieulegające degradacji poliolefiny, żywice poliestrowe lub poliuretanowe. Polimery biodegradowalne stosowane w agrochemii okazały się bardzo korzystnymi w działaniu, głównie dlatego, że szybkość degradacji całego tworzonego układu, która może być w dość dużym stopniu sterowana doborem materiału polimerowego, może warunkować tempo uwalniania składników aktywnych [238, 239].

Substancja bioaktywna może być włączona do polimerów w wyniku adsorpcji, dyspersji składnika aktywnego w matrycy, poprzez kapsułkowanie lub połączenie grup funkcyjnych polimeru i składnika aktywnego wiązaniem kowalencyjnym. Mechanizm kontrolowanego uwalniania na drodze dyfuzji oparty jest na różnicy w szybkościach dyfuzji związku aktywnego i relaksacji łańcuchów polimerowych. Desorpcja powierzchniowa składników aktywnych zaadsorbowanych na cząsteczkach nośnika związana jest z efektem początkowego wysokiego stężenia uwalnianego związku („*burst effect*”), intensywność następnych etapów uwalniania można dostosowywać poprzez dobranie odpowiednich właściwości matrycy polimerowej. Składniki aktywne kowalencyjnie przyłączone do polimeru uwalniane są przez rozerwanie utworzonych wiązań. Uwalnianie substancji aktywnych można również kontrolować w dużym stopniu poprzez postęp erozji nośników. Czynniki fizyczne, chemiczne, biologiczne lub mechaniczne (pH, temperatura, obecność enzymów, wirowanie, wytrząsanie) znacząco wpływają na uwalnianie składników aktywnych w tym pestycydów [240, 241].

Na podstawie materiału lub technologii użytej do przygotowania systemów kontrolowanego uwalniania z udziałem polimerów można wyróżnić systemy, w których pestycydy są równomiernie rozproszone w matrycach polimerowych lub elastomerowych są to tzw. układy monolityczne oraz systemy, w których pestycydy są pokryte membranami, kapsułami, powłokami, liposomami itd. W obu przypadkach pestycydy są dyfundowane w matrycy polimerowej [242, 243].

W literaturze można wyróżnić systemy, w których pestycydy są związane za pomocą wiązań kowalencyjnych lub jonowych z polimerami oraz systemy, w których pestycydy są związane z monomerami, a dopiero w kolejnym etapie zachodzi proces polimeryzacji. W takich przypadkach pestycydy są uwalniane z matrycy polimerowej w wyniku hydrolizy wiązania polimer-pestycyd w środowisku. Pestycydy, które zawierają bardzo reaktywne grupy funkcyjne (karboksylowe, hydroksylowe i aminowe itp.) mogą bezpośrednio reagować z monomerami lub polimerami, natomiast w przypadku, gdy pestycydy nie mają żadnych grup funkcyjnych, potrzebne są pewne środki łączące, aby związać pestycyd z monomerami lub polimerami [242, 243].

Wydajność procesu uwalniania cząstek aktywnych z nośnika polimerowego warunkowana jest wieloma czynnikami takimi jak: chemiczny charakter składnika aktywnego; typ połączenia polimer-substancja aktywna, rodzaj polimeru oraz warunki otoczenia tj. temperatura, wilgotność, dostęp tlenu, pH, nasłonecznienie, obecność mikroorganizmów oraz zawartość substancji organicznych. Szczególne znaczenie ma stopień polimeryzacji oraz budowa i natura chemiczna łańcucha polimerowego, czyli stopień usieciowania, zdolność adsorpcji wody, porowatość, krystaliczność, stereoregularność oraz natura chemiczna sąsiadujących grup otaczających cząsteczkę aktywną. Prostołańcuchowe i amorficzne polimery będą bardziej podatne na hydrolizę niż te usieciowane i krystaliczne, natomiast sąsiedztwo grup hydrofobowych będzie ograniczało degradację polimeru, co ma bezpośredni wpływ na ograniczenie stopnia uwalniania składnika aktywnego [244].

Jedne z pierwszych badań polegających na badaniu mobilności herbicydów w środowisku glebowym prowadził Fernandez-Pérez wraz z współpracownikami [245, 246]. Badali oni mobilność izoproturonu oraz atrazyny w kolumnach glebowych przy użyciu preparatów o kontrolowanym uwalnianiu formowanych na bazie mieszanin alginianu/bentonitu. Symulacje wykonano na typowych profilach glebowych, przy użyciu kolumn zawierających piasek, torf oraz modyfikowaną glebę. Przeprowadzono testy sorpcji i desorpcji dla frakcji glebowych i stwierdzono, że preparaty

alginianu/bentonitu były w stanie zmniejszyć wchłanianie w głębsze rejony gleby izoproturonu w porównaniu z kolumnami traktowanymi samym herbicydem. Badania te potwierdziły, że preparaty alginianowo-bentonitowe mogą być skutecznym sposobem na zmniejszenie ilości wypłukiwanych przez glebę herbicydów, co wpływa na złagodzenie ryzyka możliwego zanieczyszczenia wód podziemnych [245, 246].

Zhu i Zhuo przetestowali matrycę polimerową na bazie skrobi połączonej z poli(alkoholem winylowym) do uwalniania herbicydu 2,4,5-T (kwasu 2,4,5-trichlorofenoksyoctowego). Nośnik ten charakteryzował się dobrym współczynnikiem enkapsulacji i z powodzeniem zapewniał wolniejsze uwalnianie herbicydu. Szybkość uwalniania herbicydów była regulowana procesami dyfuzji, zależnymi m.in. od zawartości herbicydów oraz wielkości cząstek. W pracy wykazano, że cząsteczki skrobi zawierające grupy hydroksylowe z powodzeniem mogą być wykorzystywane do kontrolowanego uwalniania herbicydów [247].

W kolejnym badaniu Fernandez-Pérez i jego zespół badali przygotowanie i charakterystykę formułacji, do uwalniania chloridazonu, wykorzystując biodegradowalne polimery, takie jak lignina i etyloceluloza (EC). Skuteczność kapsułkowania przekroczyła 94% dla wszystkich preparatów, w tym dla ligniny oraz granulatu pokrytego EC. Szybkości uwalniania chloridazonu były niższe w przypadku nowych preparatów w porównaniu z produktem handlowym, a uwalnianie z powlekanych granulek było wolniejsze niż z matrycy ligninowej. Stwierdzono również, że w przypadku matrycy ligninowej, szybkość uwalniania chloridazonu można kontrolować przez dobór wielkości ziaren, natomiast szybkość uwalniania z granulek pokrytych EC można było osiągnąć przez dostosowanie ilości EC. Zastosowanie polimerów, takich jak lignina i EC w preparatach o kontrolowanym uwalnianiu może zatem pomóc w zwiększeniu skuteczności dostarczania herbicydu, jednocześnie zmniejszając jego uwalnianie do środowiska [248].

Grillo i współpracownicy scharakteryzowali kinetykę uwalniania w wodzie mikrosfer polimerowych stosowanych do uwalniania ametryny. Mikrocząstki wytworzono przy użyciu polimerów poli(hydroksymaślanu) (PHB) i poli(hydroksymaślan-*ko*-hydroksywalerianianu) (PHBV). Dla obu preparatów uzyskano wydajność kapsułkowania wynoszącą około 40%. Mikrocząstki były kuliste, chociaż właściwości powierzchni różniły się (gładkie lub szorstkie z porami). Profil uwalniania ametryny został zmodyfikowany przez jego kapsułkowanie w mikrocząstkach, przy czym uwalnianie było wolniejsze i dłuższe w porównaniu

z wolną ametryną. Uwalnianie ametryny z obu typów mikrocząstek przebiegało zgodnie z procesami relaksacji łańcuchów polimerowych i dyfuzji składnika czynnego z cząstek. Pomyślnie zamknięcie ametryny w polimerowych mikrocząstkach złożonych z PHB i PHBV wskazało, że takie systemy mogą być przydatne w zmniejszaniu niepożądanego wpływu herbicydu na środowisko [249].

W ostatnim czasie uwaga skupiona jest na formulacji m.in. mikrosfer i mikrokapsułek do kontrolowanego dostarczania pestycydów (szczególnie tych nierozpuszczalnych w wodzie), opartych na biodegradowalnych nośnikach polimerowych takich jak PLA, PBS oraz kopolimerów PLGA i innych kopoliestrów alifatycznych, które od lat są szeroko stosowane jako nośniki leków w medycynie. Końcowymi produktami metabolizmu tych polimerów *in vivo* są dwutlenek węgla i woda, które nie szkodzą człowiekowi ani środowisku. Masy cząsteczkowe, właściwości fizyczne i szybkość degradacji ich można dostroić w celu optymalizacji właściwości uwalniania pestycydów.

Liu i współpracownicy sformułowali nośniki PLA do kontrolowanego dostarczania λ -cyhalotryny (LC). W tym celu wykorzystano proces emulgowania membrany oraz opracowano szereg systemów PLA, a mianowicie mikrokapsułki, mikrosfery i mikrokapsułki porowate. Udowodniono, że uwalnianie LC wyzwalane przez dyfuzję substancji aktywnej i degradację matrycy można optymalnie regulować przez dostrojenie zawartości LC i wielkości mikrokapsułek. Ten wodny system inteligentnego dostarczania wykazał doskonały potencjał oraz właściwości przyjazne dla środowiska [250].

Zhang wraz z zespołem opisali proces uwalniania Prochlorazu z biodegradowalnego kopolimeru mPEG-PLGA. Szczególną uwagę zwrócono na zbadanie efektu uwalniania zależnego od wielkości formułowanych nośników. Wielkość cząstek wpływała na zwiększenie dyspersji, zawartość pestycydów oraz poziom uwalniania [251].

Systemy kontrolowanego uwalniania w rolnictwie stosowane są również do uwalniania nawozów. Co istotne nawozy o spowalnianym uwalnianiu mogą zaspokoić zapotrzebowanie upraw na składniki odżywcze przez cały sezon poprzez jednorazową aplikację, co wiąże się z oszczędnością kosztów nawożenia.

Przykładem tego typu zastosowania są m.in. badania prowadzone przez Daitx i współpracowników, gdzie uwalniano nawozy NPK z matryc na bazie poli(hydroksymaślanu) (PHB). W badaniach tych potwierdzono około 90% redukcję

uwalniania substancji czynnych, a ponadto wykazano że działanie tych układów jest bezpośrednio związane z ich właściwościami termicznymi i mechanicznymi. W zależności od formulacji i warunków przetwarzania uzyskano różne szybkości zmieniając właściwości polimeru [252].

Podsumowując obecnie stosowane w rolnictwie środki ochrony roślin wymagają częstego powtarzania operacji aplikacji substancji aktywnej, co powoduje zwiększenie obciążenia środowiska często toksycznymi substancjami, a ponadto podnosi koszty uprawy. Systemy kontrolowanego uwalniania poprzez zmniejszenie ilości stosowanych środków ochrony roślin, pozwalają na wyeliminowanie wad obecnie stosowanych pestycydów i nawozów, przyczyniając się do ograniczenia zanieczyszczenia gleb, wód gruntowych, powietrza.

II. Cel i zakres pracy

2.1. Cel i tezy pracy

Celem prowadzonych badań, których wyniki są przedstawione w niniejszej pracy, było opracowanie składu, oraz warunków syntezy biodegradowalnych kopolimerów przydatnych w formowaniu matryc i mikrocząstek będących nośnikami środków ochrony roślin w procesach ich kontrolowanego dogłębowego uwalniania, pozwalającym na stopniowe uwalnianie wybranych środków przez cały okres wegetacyjny uprawianych roślin. Założono, że otrzymywane nośniki polimerowe, otrzymywane na bazie specjalnie do tego celu syntezowanych kopoliestrów, oraz modyfikowanych oligosacharydów będą charakteryzowały się korzystnymi właściwościami fizykochemicznymi pozwalającymi na relatywnie łatwe formowanie z nich trwałych folii i mikrocząstek, czasem degradacji oraz profilem uwalniania wybranych modelowych substancji aktywnych optymalnym dla planowanego zastosowania w agrotechnice. Ze względu na docelowe środowisko uwalniania, należało syntezować polimery wykazujących zdolność absorpcji wody, których degradacja musiała być akcelerowana wpływem enzymów glebowych. Przydatność tak utworzonych systemów potwierdzano w badaniach wstępnych, w warunkach laboratoryjnych. Aby proces optymalizacji składu i struktury matryc był efektywny oraz, aby umożliwić poznanie mechanizmów regulujących proces uwalniania herbicydów konieczne było wykonanie badań śledzących szczegółowo przebieg procesu degradacji, chłonięcia wody i zmian ich morfologii *in vitro* w różnych warunkach. W tym celu proces ten prowadzono w środowiskach odmiennie działających mediów; w glebie (oddziaływanie enzymów), osadzie czynnym (oddziaływanie enzymów i hydroliza), oraz w czystej wodzie (hydroliza). Jako modelowe środki ochrony roślin wybrano dwa powszechnie stosowane w rolnictwie herbicydy dogłebowe różniące się między sobą właściwościami fizykochemicznymi; metazachlor i pendimetalinę, co miało na celu porównanie mechanizmu i profilu uwalniania z zastosowanych nośników polimerowych.

2.2. Zakres pracy

- Synteza terpolimerów blokowych poli(L-laktyd-ko-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu) na drodze polimeryzacji z otwarciem pierścienia cyklicznych diestrów; L-laktydu i glikolidu w obecności poli(tlenku etylenu) jako makroinicjatora. Katalizatorem polimeryzacji został wybrany nietoksyczny acetyloacetonian cyrkonu (IV) $Zr(acac)_4$.
- Szczepienie oligosacharydów takich jak: dekstryny oraz maltodekstryny z ϵ -kaprolaktonem, z zastosowaniem różnych katalizatorów. Optymalizacja przebiegu reakcji w celu minimalizacji obecności w produktach frakcji homopolimeru PCL.
- Dobieranie optymalnego składu matryc poprzez tworzenie mieszanin polimerowych (blend) z syntetyzowanych polimerów w celu poprawienia właściwości mechanicznych, termicznych czy skrócenia czasu degradacji i uzyskania optymalnego profilu uwalniania herbicydu.
- Szczegółowa charakterystyka otrzymywanych materiałów z zastosowaniem technik analitycznych takich jak:
 - ❖ magnetyczny rezonans jądrowy (NMR) – analiza składu polimerów, oraz mikrostruktury łańcucha kopolimerów;
 - ❖ chromatografia żelowa (GPC) – ocena masy cząsteczkowej polimerów, dyspersji mas cząsteczkowych
 - ❖ skaningowa kalorymetria różnicowa (DSC) – oznaczanie stopnia krystaliczności otrzymanych nośników polimerowych i temperatur zeszklenia.
 - ❖ skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM) – ocena morfologii formowanych folii i mikrocząstek, przebieg erozji powierzchni w procesie degradacji zastosowanych nośników polimerowych
- Formowanie folii i mikrosfer polimerowych z wcześniej otrzymanych kopolimerów i mieszanin polimerowych.
- Porównawcze badanie mechanizmu degradacji folii i mikrosfer formowanych z syntezowanych materiałów polimerowych w warunkach zbliżonych do warunków polowych, w mediach takich jak: gleba (analiza wpływu enzymów na przebieg degradacji), woda (analiza przebiegu „czystej” degradacji)

hydrolitycznej) oraz osad czynny (obserwacja wpływu dużego stężenia enzymów na przebieg degradacji wybranych poliestrów)

- Analiza wpływu składu matrycy, ilości czynnika aktywnego i medium na kinetykę uwalniania wybranych herbicydów z formowanych folii oraz mikrosfer w wodzie i glebie. Optymalizacja profilu uwalniania pod kątem zastosowania w rolnictwie.
- Wyselekcjonowanie najlepszych materiałów prezentujących optymalne własności degradacji materiałów odpowiadającym czasowi trwania okresu wegetacyjnego roślin tj. 3 – 4 miesiące oraz kontrolowany profil uwalniania pestycydów w wodzie i glebie w tym samym czasie.
- Badanie stabilności chemicznej herbicydu zawartego w matrycy w czasie procesu uwalniania prowadzonego w glebie oraz mechanizmu jego uwalniania.
- Wstępna ocena praktycznej skuteczności działania immobilizowanych według opracowanej metody herbicydów w procesie kontrolowanego uwalniania z otrzymanych form użytkowych na wybranych gatunkach niepożądanych w uprawach roślin (chwastach) takich jak m.in. komosa biała (*Chenopodium album*), żółtlica drobnokwiatowa (*Galinsoga parviflora Cav.*) oraz szczaw polny (*Rumex acetosella L.*) w warunkach laboratoryjnych.
- Ocena toksyczności opracowanego systemu długotrwałego dozowania herbicydu przy użyciu metod oznaczania biologicznego, oraz wpływu wybranej metody immobilizacji na jej spadek w porównaniu do metod tradycyjnej aplikacji.

III. Część doświadczenia

3.1. Stosowane materiały

3.1.1. Monomery, oligosacharydy

- L-laktyd (LA) – (3s)-cis-3,6-dimetylo-1,4-dioxan-2,5-dion – (Glaco Ltd. Pekin, Chiny), oczyszczano wstępnie poprzez rekrytalizację z suchego octanu etylu, następnie suszono w suszarce próżniowej, w temperaturze pokojowej do stałej masy
- Glikolid (GL) – 1,4-dioxan-2,5-dion – (Glaco Ltd. Pekin, Chiny), oczyszczano na drodze rekrytalizacji z suchego octanu etylu, następnie suszono w warunkach próżniowych, w temperaturze pokojowej do stałej masy
- ε-kaprolakton (ε-CL) – 2-oksepanon – (Acros Organics, Geel, Belgia) oczyszczony poprzez destylację próżniową z nad wodorku wapnia pod argonem
- dekstryna (równoważnik dekstrozy DE; 9-12) – (Sigma –Aldrich Steinheim, Niemcy)
- maltodekstryna (DE; 12-14) – (Sigma –Aldrich, Steinheim, Niemcy)

3.1.2. Inicjatory/Katalizatory

- Acetyloacetonian cyrkonu (IV), $Zr(acac)_4$ – tetra(2,4-pentanodionat-O,O') cyrkonu (IV) – (Sigma –Aldrich, Steinheim, Niemcy)
- Glikol polietylenowy – PEG 4600 – (Sigma –Aldrich, Steinheim, Niemcy) – suszono w suszarce próżniowej w temperaturze pokojowej; rzeczywiste średnie masy cząsteczkowe określone za pomocą NMR wynosiły $M_n = 4200$
- Glikol polietylenowy – PEG 10 000 – (Sigma –Aldrich, Steinheim, Niemcy) –suszono w suszarce próżniowej w temperaturze pokojowej; rzeczywiste średnie masy cząsteczkowe określone za pomocą NMR wynosiły $M_n = 8000$
- Glikol polietylenowy – mPEG 5000 – (Sigma –Aldrich, Steinheim, Niemcy) –suszono w suszarce próżniowej

3.1.3. Herbicydy

- Metazachlor – (Sigma –Aldrich, Steinheim, Niemcy)
- Pendimetalina – (Sigma –Aldrich, Steinheim, Niemcy)

3.1.4. Rozpuszczalniki

- Chloroform cz.d.a – (Chempur, Piekary Śląskie, Polska)

- Metanol cz.d.a – (Chempur, Piekary Śląskie, Polska)
- Heksan – (Chempur, Piekary Śląskie, Polska)
- Dimetylosulfotlenek (DMSO) – (Chempur, Piekary Śląskie, Polska)
- Chlorek metylenu – (Chempur, Piekary Śląskie, Polska)

3.1.5. Pozostałe materiały

- Gleba o składzie granulometrycznym: 77% piasku; 19% pyłu; i iłu; zawartość materii organicznej 1,8%; azot ogólny 0,06%; pH – H₂O dla kwasowości czynnej 5,9; pH – KCl dla kwasowości wymiennej 5,5; zasolenie 84mg KCl/l
- Osad czynny z oczyszczalni ścieków „WARTA” w Częstochowie. Najważniejszymi właściwościami są: całkowita zawartość suchej masy 6–12%; N 1,6–6,0%; P₂O₅ 1,5–4,0%; K₂O 1–3% i pH 7,2–7,5
- 3% wodny roztwór alkoholu poliwinylowego (PVA) – (Sigma – Aldrich, Steinheim, Niemcy).

3.2. Stosowane techniki instrumentalne oraz metody analityczne

3.2.1. Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR)

Skład i mikrostrukturę łańcucha materiałów polimerowych określono za pomocą pomiarów NMR. Widma ^1H NMR rejestrowano przy 600 MHz za pomocą spektrometru Avance II Bruker Ultrashield Plus (Bruker Corporation, Anaheim, CA, USA). Wszystkie widma ^1H NMR uzyskano za pomocą 32 skanów, czasu akwizycji 2,65s i szerokości impulsu 11 μs , w temperaturze otoczenia. Widma ^{13}C NMR rejestrowano przy 150 MHz, wykonując 20 000 skanów, stosując ten sam spektrometr i warunki pomiarowe. Czas akwizycji wynosił 0,91 s, szerokość impulsu 9,45 μs , opóźnienie między impulsami 2 s, a szerokość spektralna 36 000 Hz. Do pomiarów zastosowano deuterowane rozpuszczalniki: chloroform (CDCl_3) oraz dimetylosulfotlenek (DMSO). Jako wzorzec wewnętrzny zastosowano tetrametylosilan (TMS).

3.2.2. Chromatografia żelowa (GPC)

Liczbowo średnią masę cząsteczkową (M_n) oraz stopień dyspersji mas cząsteczkowych (Đ) oznaczano z pomocą chromatografu żelowego GPC Viscotek RImax (Malvern Panalytical Ltd., Malvern, United Kingdom). Zastosowano dwie kolumny Viscotek 3580, detektor refrakcyjny oraz kalibrację z pomocą standardów polistyrenowych. Szybkość przepływu ustalono na 1ml/min, natomiast temperatura oznaczania wynosiła 35°C.

3.2.3. Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC)

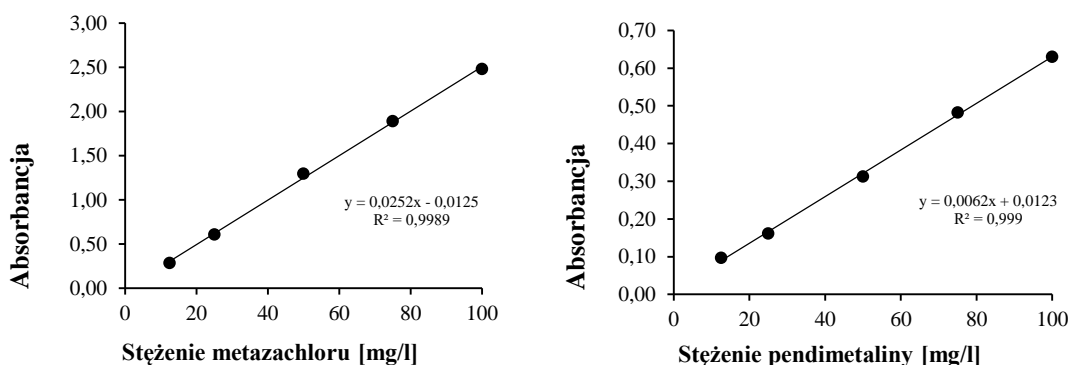
Właściwości termiczne, takie jak temperatura zeszklenia – T_g , temperatura topnienia fazy krystalicznej – T_m oraz ciepło topnienia fazy krystalicznej – ΔH analizowano metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej z zastosowaniem aparatu DuPont 1090B (Newark, DE, USA), kalibrowanego galem i indem. Temperaturę zeszklenia określono przy szybkości ogrzewania i chłodzenia 20°C/min w zakresie od -100°C do 220°C, zgodnie ze standardem ASTM E 1356-08. Pomiary przeprowadzono po uprzedniej amorfizacji próbek przez stopienie, a następnie bardzo szybkie schłodzenie w ciekłym azocie. Próbkę mieszanki, w celu głębszej analizy, zostały również przetestowane przy użyciu różnych szybkości ogrzewania.

3.2.4. Spektrofotometria absorpcyjna w podczerwieni (FTIR)

Widma w podczerwieni rejestrowano przy użyciu spektrometru Nexus Nicolette (Madison, WIS., USA) z transformacją w zakresie $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$, przy liczbie skanów równej 32. Próbkę badano w postaci pastylek z KBr.

3.2.5. Spektroskopia UV-VIS

Testy kinetyki uwalniania analizowano w oparciu o metodę wyznaczania stężeń wybranych związków aktywnych na podstawie analizy widm UV-VIS z wykorzystaniem spektrofotometru gamma Thermo Scientific™ Helios (Thermo Fisher, Karlsruhe, Germany). Oznaczanie stężeń roztworów herbicydów przeprowadzono na podstawie sporządzonych wcześniej krzywych kalibracyjnych (**Rys. 3.2.5.1**). Stężenia uwolnionego herbicydu liczono wykorzystując wyznaczone równania.



Rys. 3.2.5.1. Krzywa kalibracyjna roztworów wzorcowych herbicydów

3.2.6. Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM)

Badania SEM przeprowadzono przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego wysokiej rozdzielczości Quanta 250 FEG (FEI Company, USA) pracującego przy napięciu przyspieszającym 10 kV. Próbkę obserwowano bez powlekania w niskiej próżni (80 Pa) przy użyciu wtórnego detektora elektronów (detektor dużego pola).

3.2.7. Mikroskopia optyczna

Wizualną ocenę zmiany powierzchni próbek polimerowych obserwowano pod mikroskopem Zeiss Axiovert 40 (Carl Zeiss, Niemcy) w trybie kontrastu fazowego.

3.2.8. Analiza kąta zwilżania wodą

Kąty zwilżania mierzono metodą opadającej kropli, stosując automatyczny system analizy kształtu kropli DSA 10 Mk2 (Kruss, Niemcy). Wodę destylowaną (2 μ l) upuszczono na powierzchnię suchej błony formowanej z badanego materiału w temperaturze pokojowej. Średni wynik pomiaru uzyskano przez wykonanie pięciu prób na losowo wybranych różnych obszarach próbek.

3.2.9. Dyfrakcja rentgenowska szeroko-kątowa (WAXD)

Szerokokątna dyfrakcja rentgenowska (WAXD) stosowana jest do określenia struktury krystalicznej oraz stopnia krystaliczności polimerów. Do wyznaczenia widm dyfrakcyjnych materiału wykorzystano dyfraktometr /TUR –M62/ VEB TuR Dresden. Stosowano promieniowanie Cu K alfa i filtr Ni, napięcie robocze 34 kV i prąd roboczy 25 mA, w normalnych warunkach pomiaru. Tryb pomiaru skanowania krokowego zastosowano przy kącie rozproszenia 2Theta w zakresie od 5 do 50°.

3.2.10. Degradacja w wodzie, glebie i osadzie czynnym

3.2.10.1. Degradacja w wodzie

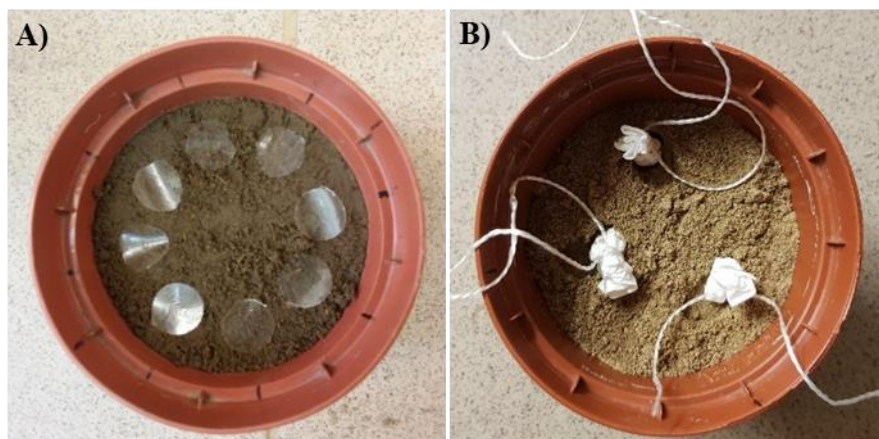
Degradację nośników polimerowych prowadzono w wodzie destylowanej. Podczas badania przebiegu degradacji filmów polimerowych każdą próbkę umieszczano w fiolce wypełnionej 10 ml wody destylowanej, natomiast w przypadku mikrosfer ich określoną masę pakowano w worki membranowe, a następnie każdą tak przygotowaną próbkę umieszczano w fiolce wypełnionej 10 ml wody destylowanej. Fiolki pozostawiono w temperaturze pokojowej, a po określonym czasie: 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 i 3 miesiącach eksperymentu próbki były usuwane z wody, suszone i ważone.

3.2.10.2. Degradacja w glebie

Badanie degradacji w glebie przeprowadzono w doniczkach napełnionych glebą o składzie i jakości określonej zgodnie z normami (PN-EN ISO 14688:2006; PN-ISO 10694; PN-ISO 11261; PN-ISO 10390; PN-ISO 11465:1999) [253-258].

Doniczki były przechowywane w hali wegetacyjnej będącej na wyposażeniu Katedry Biochemii, Biotechnologii i Ekotoksykologii UJD, w kontrolowanych warunkach; stałej wilgotności (70%), temperaturze (22 \pm 2°C) i natężeniu światła

(7000lux), imitujących cykle dnia – 16 godzin/światło i 8 godzin/noc. Filmy polimerowe w postaci dysków umieszczono bezpośrednio w glebie, zachowując równomierne odstępy i taką samą głębokość pod powierzchnią gleby. Mikrosfery dodatkowo zostały umieszczone w polipropylenowych workach do dializy i również z zachowaniem odległości umieszczone pod powierzchnią gleby (**Rys. 3.2.10.2.**).



Rys. 3.2.10.2. Fotografia obrazująca sposób umieszczenia próbek **A)** - folii oraz **B)** - mikrosfer podczas eksperymentu degradacji w glebie

Po określonym czasie: 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 i 3 miesiącach eksperymentu próbki zostały usunięte z gleby. Filmy polimerowe wyjęto, oczyszczono w wodzie, wysuszone i zważono, natomiast mikrosfery wyjęto na bibułę filtracyjną (zakres por 30-50 μ m) i dokładnie, ale tak aby nie uszkodzić próbek, umyto w wodzie. Następnie zważono po całkowitym wysuszeniu.

3.2.10.3. Degradacja w osadzie czynnym

Do badań degradacji osadu czynnego każdą próbkę umieszczono w fiolce wypełnionej 10 ml osadu czynnego. Mikrosfery dodatkowo zostały umieszczone w polipropylenowych workach do dializy. Stosowany osad czynny o temperaturze pokojowej wymieniano co 14 dni. W trakcie inkubacji próbek monitorowano żywotność mikrobiologiczną osadu, pH, sedymentację, wskaźnik szlamu, zawartość suchej masy. Prowadzono ocenę wizualną za pomocą mikroskopu elektronowego. Po 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 i 3 miesiącach eksperymentu próbki wyjmowano na bibułę filtracyjną (30-50 μ m) i dokładnie, ale tak aby nie uszkodzić próbek przemywano wodą, a następnie pozostawiano do wysuszenia w temperaturze pokojowej i ważono.

3.2.11. Pomiary chłonności wody i ubytku masy próbki

Masę próbek określono za pomocą wagi elektronicznej (dokładność 0,1 mg) (Radwag, Radom, Polska). Chłonność wody i ubytek masy zostały obliczone przy użyciu zależności:

$$\text{Chłonność wody(\%)} = \frac{(m_{\text{wet}} - m_{\text{dry}})}{(m_{\text{dry}})} \cdot 100\% \quad (1)$$

$$\text{Ubytek wagi (\%)} = \frac{(m_0 - m_{\text{dry}})}{(m_0)} \cdot 100\% \quad (2)$$

gdzie:

m_{wet} – masa mokrej próbki, po wyjęciu z medium i położeniu na bibule w celu odciknięcia,

m_0 – masa początkowa próbki,

m_{dry} – masa próbki po wysuszeniu do stałej masy.

3.2.12. Uwalnianie herbicydów *in vitro* w wodzie i glebie

Dokładnie odważoną ilość próbki z 10% i 20% wag. zawartością metazachloru lub pendimetaliny względem masy polimeru, zanurzono w stałej i oznaczonej objętości wody destylowanej. Inkubację prowadzono w temperaturze pokojowej przez okres 12 tygodni. Początkowo, gdy uwalnianie było bardziej intensywne – raz dziennie, a następnie, gdy uwalnianie herbicydu było mniej intensywne – raz w tygodniu, mierzono stężenie herbicydu za pomocą spektrofotometru UV.

Aby określić kinetykę uwalniania do gleby, folie z herbicydami dokładnie zważono i umieszczono w środku polipropylenowej doniczki (objętość 250 ml) napełnionej standardową glebą. Gleba była regularnie podlewana przez cały okres badania, utrzymowano ten sam poziom wilgoci, jak i temperaturę (22°C). Po określonym czasie inkubacji filmy polimerowe pobierano i dokładnie przemywano wodą destylowaną, a następnie przeanalizowano zgodnie z metodami opisanymi powyżej. Związki chwastobójcze uwalniane w glebie określono na podstawie różnicy między początkową ilością składnika aktywnego w matrycy, a ilością pozostałą podczas eksperymentu uwalniania. W tym celu próbki rozpuszczano w określonej ilości chloroformu, następnie polimer wytrącano metanolem. Po odwirowaniu badaniom poddawano klarowny roztwór. Poziom absorbancji metazachloru i pendimetaliny uwalnianej z nośników polimerowych analizowano za pomocą spektroskopii UV – Vis przy długości fali odpowiednio 228 nm i 238 nm.

3.2.13. Ocena aktywności chwastobójczej w glebie

Ocena skuteczności działania herbicydów w procesie kontrolowanego uwalniania z otrzymanych form użytkowych na wybranych gatunkach niepożądanych w uprawach roślin (chwastach) prowadzono w hali wegetacyjnej. Jako chwasty, wstępnie wybrano gatunki powszechnie znane jako uciążliwe dla upraw i są to m.in. komosa biała, żółtlica drobnokwiatowa oraz szczaw polny.

Komosa biała (*Chenopodium album*) jest rośliną jednoroczną klasyfikowaną do rodziny szarłatowych (*Amaranthaceae*), dawniej komosowate – (*Chenopodiaceae*), zwyczajowo nazywana jest lebiodą. Jej korzeń jest palowy, podobnie jak łodyga silnie rozgałęziony. Łodyga wzniesiona, czasami płożąca się, u nasady pędów bocznych występują charakterystyczne purpurowo-czerwone plamki. Okres kwitnienia przypada od czerwca do października. Jedna roślina jest w stanie wytwarzać bardzo dużą ilość nasion od około 3 do nawet 20 tysięcy. Kiełkowanie zachodzi w temperaturze 2 – 30°C przy optymalnej wartości równej 15 – 20°C. W glebie nasiona są w stanie zachować zdolność do kiełkowania nawet przez 10 – 15 lat. Jest częstym chwastem w uprawach zbóż jarych, rzepaku, ziemniakach, roślin strączkowych czy kukurydzy.

Żółtlica drobnokwiatowa (*Galinsoga parviflora* Cav.) jest rośliną jednoroczną z rodziny astrowatych (*Asteraceae* Dum.), dorastającą do około 10 – 20 cm lub w sprzyjających warunkach nawet do 70 cm wysokości. Tworzy mocny, długi korzeń z licznymi korzeniami bocznymi oraz wzniesione z rozgałęzieniem w górnej części sztywne łodygi. Błyszcząca liściowa charakteryzuje się wyraźnie zaznaczonym unerwieniem i podobnie jak łodyga, pokryta jest delikatnym meshkiem. Kwiaty są drobne zebrane na szczytach długich szypułek w baldachowate kwiatostany typu koszyczek. W glebie kiełkowanie może odbywać się bezpośrednio po wysianiu, a zdolność kiełkowania pozostaje przez 2 lata. Ponieważ stosunkowo dobrze znoszą mrozy, w glebie nasiona mogą przetrwać sezon zimowy. Ponieważ rozwój jest bardzo szybki (trwa ok. 4 – 6 tygodni), a jedna roślina może wytworzyć ogromną liczbę nasion (5 – 10 tys.). bez problemu w jednym sezonie uprawnym jedna roślina może dać nawet 2 – 3 pokolenia.

Szczaw polny (*Rumex acetosella* L.) jest rośliną wieloletnią sklasyfikowaną do rodziny rdestowatych (*Polygonaceae* Juss.). Średnio wraz z pędem kwiatowym osiąga wysokość od 10 do 50 cm i tworzy cienkie, sztywne, wzniesione i rozgałęzione pędy oraz

korzeń palowy z licznymi odgałęzieniami. Kwitnie od kwietnia do listopada. Po zapyleniu kwiaty przekształcają się w podłużne, orzeszkowe owoce, barwy czerwono-brunatnej, które rozsiewane są za pomocą wiatru. Bylina ta posiada zdolność wytwarzania ogromnej ilości nasion od 1 do 10 tys. na sezon, które kiełkują wiosną i latem oraz zachowują zdolność kiełkowania przez wiele lat. Ponadto roślina może rozrastać się za pomocą podziemnych rozłogów z pączkami przybyszowymi, a także jest w stanie odrodzić się z fragmentów korzeni pozostałych w glebie [259].

Aktywność chwastobójcza herbicydów została określona przez zahamowanie wzrostu wybranych pędów roślin. Wizualna ocena zahamowania wzrostu, uszkodzeń i wysuszenia roślin, dokumentowano na fotografiach cyfrowych, wykonanych w 3 miesiącu wzrostu rośliny. Oceny zostały przyznane na podstawie skali Europejskiej Rady ds. Badań nad Chwastami (EWRC), na podstawie której, w przypadku fitointoksykacji przypisywane są następujące wartości – 1: całkowita śmierć roślin (celujące) (100%); 2: bardzo dobre (98,0 do 99,9%); 3: dobre (95,0 do 97,9%); 4: zadowalające (od 90 do 94,9%); 5: mało zadowalające (82,0 do 89,9%); 6: niezadowalające (70,0 do 81,9%); 7: złe (55,0 do 69,9%); 8: bardzo złe (od 30 do 54,9%); i 9: brak działania (0,0 do 29,9%).

3.2.14. Ocena toksyczności produktów degradacji nośników polimerowych przy użyciu metod oznaczania biologicznego

Określenie ekotoksyczności stanowi ważne podejście w celu rozwiązania problemu skażenia chemikaliami i jego potencjalnych skutków dla jakości wody i gleby. System Microtox jest powszechnie stosowany w badaniach toksyczności na podstawie hamowania aktywności metabolicznej bakterii morskich *Aliivibrio fischeri*. Badanie toksyczności przy użyciu testu biologicznego Microtox prowadzone było za pomocą analizatora Microtox model 500. Wyniki wyrażone są jako IC₅₀ (stężenie hamujące dla 50% redukcji emisji światła).

Test Microtox zastosowano do określenia ostrej toksyczności gleby zawierającej mikrosfery polimerowo-herbicydowe po 1 tygodniu, 4 tygodniach i 12 tygodniach inkubacji w glebie. Jednocześnie, dla porównania, określono ostrą toksyczność gleby zawierającą „czyste” herbicydy w podobnych czasach. Procedura ocenia wpływ toksyczny frakcji stałej próbki, w postaci wodnej zawiesiny, na bakterie obecne w tej zawieszynie. Zawiesinę przygotowaną przez zdyspergowanie 7 g gleby w 35 ml

rozcieńczalnika do fazy stałej (3,5% NaCl) mieszano za pomocą mieszadła magnetycznego przez 10 minut. Wykonano serię rozcieńczeń i bakterie (około 1×10^6 komórek/ml na test) wystawiono na te rozcieńczenia i na kontrolny 3,5% roztwór NaCl przez 20 minut. Następnie zawiesiny filtrowano i po 5 minutach mierzono strumień świetlny supernatantów zawierających eksponowane bakterie za pomocą Microtox® Analyzer 500. Hamowanie określono jako stężenie związku załadowanego do gleby (mg/l), które spowodowało 50% redukcję światła emitowanego przez bakterie (EC_{50}).

3.2.15. Analiza wielkości mikrosfer

Rozkład wielkości mikrosfer określono za pomocą mikroskopu optycznego wyposażonego w mikrometr i noniusz. Mikrosfery zdyspergowano w wodzie i na szklanym szkiełku wykonywano rozmazy. Rozmaz pozostawiono do wyschnięcia na powietrzu. Skład granulometryczny określano na podstawie procentowej ilości mikrosfer o średnicy zawartej w wybranych zakresach. Wykreślono rozkład wielkości cząstek mikrosfer i określono średni rozmiar cząstek.

3.2.16. Oznaczanie zawartości herbicydów w syntetyzowanych mikrosferach i w medium

Zawartość herbicydów w mikrosferach oznaczono metodą spektrofotometrii UV – Vis przy użyciu spektrofotometru gamma Thermo Scientific™ Helios (Thermo Fisher, Karlsruhe, Niemcy). W tym celu odważoną ilość otrzymanych mikrosfer rozpuszczono w chloroformie, następnie otrzymany roztwór wkraplało przy intensywnym mieszaniu do zimnego metanolu w celu wytrącenia polimeru, który następnie oddzielano przez odwirowanie. Stężenie analizowanych herbicydów w pozostałym roztworze analizowano z pomocą pomiarów spektrofotometrycznych, a wartości stężeń obliczono z krzywej kalibracyjnej przygotowanej dla obu herbicydów. Poziom absorbancji metazachloru i pendimetaliny analizowano przy długości fali odpowiednio 228 nm i 238 nm. W pomiarach jako odnośnik stosowano roztwór chloroform/metanol.

3.2.17. Ocena morfologii próbek degradowanej folii, mikrosfer

Do oceny morfologii powierzchni próbek folii czy mikrosfer wykorzystano mikroskop SEM Tescan model VEGA 3SBU (Tescan Orsay Holding, Brno, Czechy). Pomiary prowadzono przy użyciu napięcia przyspieszającego w zakresie 1–3 kV. Analiza

powierzchni została przeprowadzona w warunkach niskiego poziomu próżni przy użyciu trybu elektronów wtórnych. Aby uniknąć uszkodzenia próbek w trakcie badania i otrzymać obraz wiarygodny, mikrosfery, jak i powierzchnia folii nie były pokryte warstwą przewodzącą.

IV. Omówienie wyników badań

4.1. Otrzymywanie materiałów polimerowych

4.1.1. Synteza kopolimeru L-laktyd-ko-glikolid

Kopolimeryzację L-laktydu (LA) z glikolidem (GL) przeprowadzono zgodnie z mechanizmem polimeryzacji z otwarciem pierścienia (ROP) z udziałem $Zr(acac)_4$ w roli inicjatora reakcji. Kopolimeryzację prowadzono w masie pod poduszką argonu w zamkniętym reaktorze szklanym zaopatrzonym w mieszadło magnetyczne, stosując inicjator w ilości zgodnej ze stosunkiem molowym inicjator/ suma monomerów, jak 1/1000. Zawartość reaktora po stopieniu obu monomerów intensywnie mieszano i odgazowano, następnie dodano inicjator. Kopolimeryzację prowadzono w temperaturze 120°C, przez okres 72 godzin. Otrzymany kopolimer PLGA oczyszczano poprzez rozpuszczenie w chloroformie i wytrącanie w zimnym metanolu. Oczyszczony kopolimer suszono w próżni, w temperaturze pokojowej i poddawano dalszym badaniom.

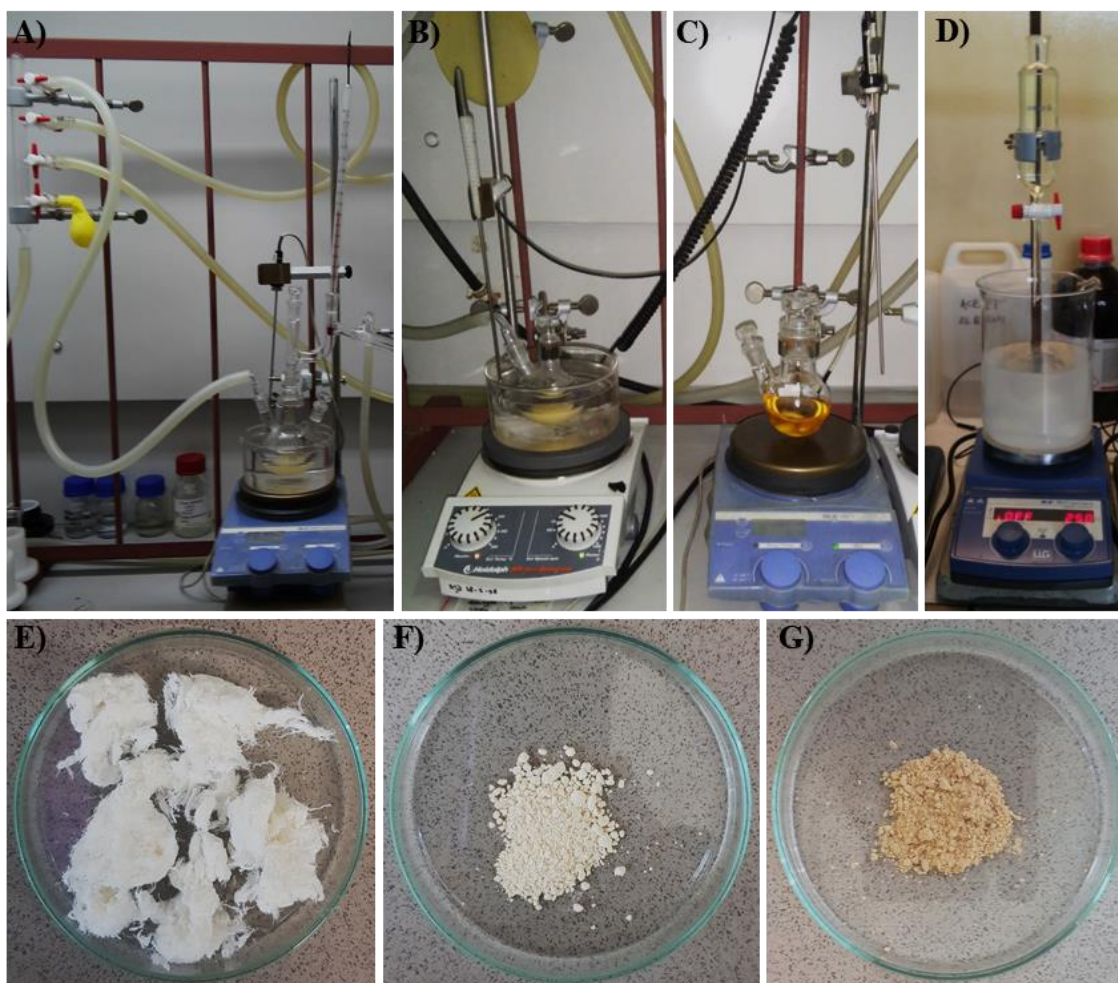
4.1.2. Synteza terpolimeru poli(L-laktyd-ko-glikolid)-blok- poli(tlenek etylenu)

Terpolimery poli(L-laktyd-ko-glikolid)-blok-poli(tlenek etylenu) (LA/GL/PEG) otrzymano analogicznie przez kopolimeryzację glikolidu z L-laktydem prowadzoną w stopie, z zastosowaniem PEG jako makroinicjatora i $Zr(acac)_4$ jako katalizatora tej reakcji. Stosunek molowy ilości katalizatora do sumy monomerów wynosił 1/1000. Aby uzyskać terpolimer o dobrej rozpuszczalności w rozpuszczalnikach organicznych i wysokiej wytrzymałości mechanicznej pozwalającej na stosunkowo łatwą produkcję trwałej folii z tego materiału musi on charakteryzować się dość wysoką masą cząsteczkową oraz mieć mikrostrukturę łańcucha zawierającą zdolne do tworzenia struktur semikrystalicznych sztywne dłuższe segmenty laktydyłowe. Z tego powodu stosunek molowy monomerów; LA do GL utrzymywano na poziomie 85:15, a jako makroinicjator wybrano PEG o względnie wysokiej masie cząsteczkowej. Zróżnicowanie właściwości zsyntetyzowanych terpolimerów uzyskano przez wybranie różnych makroinicjatorów (PEG4600, PEG10000 i mPEG5000), a także ich zmienną zawartość w mieszaninie reakcyjnej (10 i 20% wag.). Terpolimery z 10% wag. PEG4600, 10000 i mPEG5000 oznaczono odpowiednio w następujący sposób: LA/GL/10% PEG4600, LA/GL/10% PEG10000 oraz LA/GL/10% mPEG5000. Terpolimery z 20% wag. zawartością PEG opisane zostały w ten sam sposób, tylko wartość 10% zamieniono na 20%. Otrzymane terpolimery oczyszczano poprzez rozpuszczenie w chloroformie

i wytrącanie w zimnym metanolu, a następnie suszono w próżni do stałej masy, w temperaturze pokojowej i poddawano dalszym analizom (**Rys. 4.1.3.1. A, C, D i E**).

4.1.3. Synteza kopolimerów szczepionych

Kopolimeryzację dekstryny i/lub maltodekstryny z ϵ -kaprolaktonem (CL) prowadzono w stopie. Odważoną ilość ϵ -kaprolaktonu, dekstryny lub maltodekstryny oraz acetyloacetonianu cyrkonu (IV) jako katalizatora reakcji o stosunku molowym 1: 600 dodano do wysuszonego szklanego reaktora i ogrzewano w łaźni olejowej w 130°C przez 48 lub 72 godziny w atmosferze argonu przy ciągłym mieszaniu. Po określonym czasie reakcji usunięto nieprzereagowany CL, wolny polikaprolakton (PCL) i większość zużytego katalizatora poprzez ekstrakcję chloroformem. Pozostałą nierozpuszczalną frakcję żelową wysuszono w suszarce próżniowej w temperaturze 40°C. Suchy produkt po zmieleniu przemyto wodą w celu usunięcia ewentualnych pozostałości nieszczepionych oligosacharydów, natomiast otrzymaną dekstrynę-*graft*-PCL lub maltodekstrynę-*graft*-PCL pozostawiono do wysuszenia w suszarce próżniowej dla uzyskania stałej masy (**Rys. 4.1.3.1. B, F i G**).



Rys. 4.1.3.1. A) Synteza terpolimerów LA/GL/PEG; B) Synteza kopolimerów szczepionych; C) Oczyszczanie poprzez rozpuszczenie w chloroformie; D) Wytrącanie terpolimeru w zimnym metanolu E) Otrzymany terpolimer LA/GL/PEG; F) Otrzymana dekstryna-g-PCL; G) Otrzymany kopolimer maltodekstryna-g-PCL

4.1.4. Formowanie mieszanin polimerowych

W celu otrzymania dwóch rodzajów mieszanin polimerowych PLGA-PEG-PLGA/dekstryna-*graft*-PCL lub PLGA-PEG-PLGA/maltodekstryna-*graft*-PCL stopniowo dodano różne porcje roztworów dekstryny-g-PCL i maltodekstryny-g-PCL (10% wag. w DMSO) do 20 ml roztworów terpolimerów PLGA-PEG-PLGA (15% wag. w chloroformie). W przypadku przygotowania mieszanin z niemodyfikowanymi sacharydami, dekstrynę lub maltodekstrynę oraz terpolimer PLGA-PEG-PLGA rozpuszczono w DMSO. Dla uproszczenia człon PLGA-PEG-PLGA w nazwie PLGA-PEG-PLGA/dekstryna-g-PCL lub PLGA-PEG-PLGA/maltodekstryna-g-PCL zastąpiono

skrótom TER i odpowiednio określano TER/dekstryna-g-PCL oraz TER/maltodekstryna-g-PCL.

Folie z uzyskanych mieszanin przygotowano przez wylanie rozpuszczonych mieszanin na szalki teflonowe. Próbki początkowo suszono przez 48 godzin na powietrzu, a następnie pod próżnią w 40°C, tak aby pozostały rozpuszczalnik całkowicie odparował. Próbki folii pocięto na małe dyski o średnicy 18 mm i grubość około 140 – 160 µm.

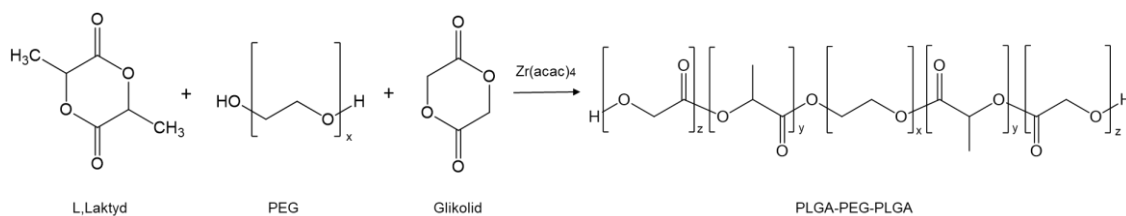
4.1.5. Formowanie mikrosfer

Mikrosfery przygotowano przez wytrącanie mieszanin polimerów z roztworu pod zmniejszonym ciśnieniem w zakresie od 10 do 30 mBa. Mieszaniny TER/dekstryna-g-PCL lub TER/maltodekstryna-g-PCL (1g) rozpuszczono w chlorku metylenu (10 ml). Dla mikrosfer z dodatkiem herbicydów; metazachlor (0,25g) lub pendimetalinę (0,25g) wprowadzono do uzyskanego roztworu i dokładnie wymieszano. Roztwory mieszanin polimerowych z herbicydem wkraplano do małego reaktora zawierającego 3% wodny roztwór alkoholu poliwinylowego (PVA, 90 ml), spełniającego rolę emulsyfikatora. Reaktor podłączono do pompy próżniowej, wyposażono w mieszadło mechaniczne i umieszczono w łaźni olejowej w 23°C. Prędkość mieszania wynosiła 120 obr/min natomiast szybkość wkraplania wynosiła około 0,3 ml/min. Po dodaniu całej porcji roztworu obniżono temperaturę do 18°C, utrzymując stałą szybkość mieszania. Następnie włączono pompę próżniową, stopniowo zmniejszając ciśnienie w celu uzyskania pełnej próżni. Prędkość mieszania zmniejszono do około 50 obrotów na minutę i kontynuowano proces w tych warunkach przez 6 – 10 godzin, aż do całkowitego odparowania chlorku metylenu z układu. Otrzymane mikrosfery zostały przemyte dużą ilością wody destylowanej i przesączone przez sita o średnicy 150 µm, tak aby uzyskać rozkład mikrosfer o niskim zakresie. Po kilku godzinach górną warstwę wodną oddzielono, a mikrosfery wysuszono w 25°C pod zmniejszonym ciśnieniem przez 12 dni, aby całkowicie odparowywać wodę i chlorek metylenu.

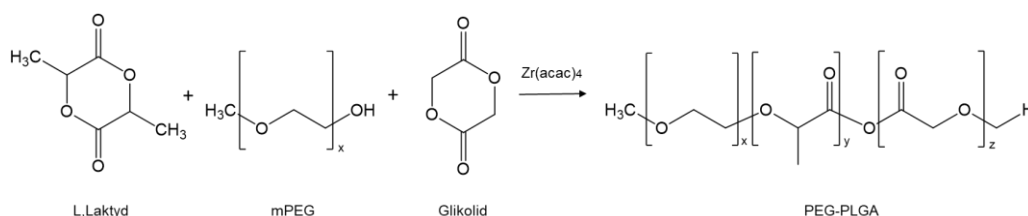
Parametry powyższego procesu, w tym rodzaj i stężenie środka powierzchniowo czynnego PVA, stężenie i lepkość dodanego roztworu kopolimeru, szybkość wkraplania, szybkość mieszania oraz temperatura procesu zostały wybrane i zoptymalizowane na podstawie wcześniejszych badań poświęconych wpływie określonych warunków na kształt i właściwości otrzymanych mikrosfer [260].

4.2. Właściwości i przebieg syntezy kopolimeru L-laktyd-ko-glikolid i terpolimerów poli(L-laktyd-ko-glikolid)-blok-poli(tlenek etylenu)

Przebieg polimeryzacji kopolimeru L-laktyd-ko-glikolid oraz terpolimerów L-laktydu/glikolidu/glikolu polietylenowego przedstawiono na Schemacie 4.2.1 i 4.2.2.

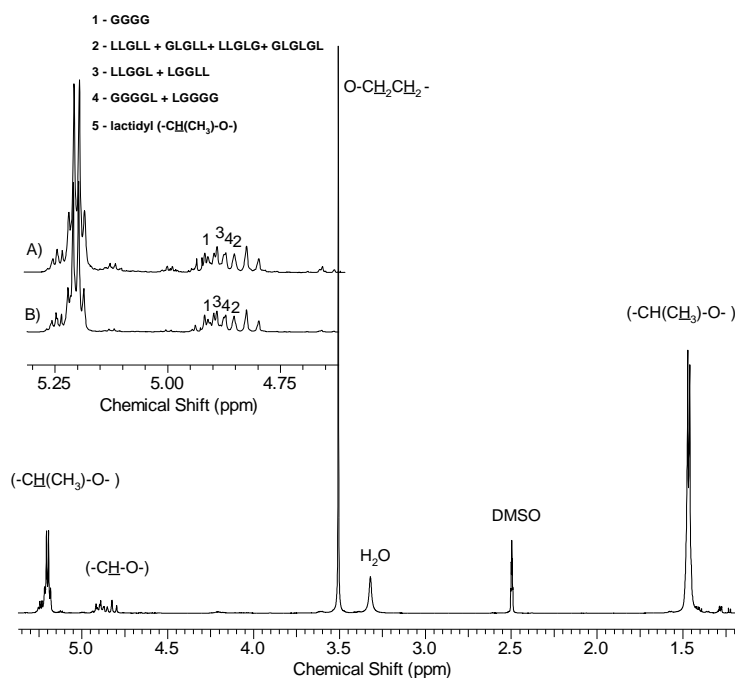


Schemat 4.2.1. Synteza terpolimerów przy użyciu makroinicjatorów PEG4600 i PEG10 000



Schemat 4.2.2. Synteza terpolimerów przy użyciu makroinicjatorów mPEG5000

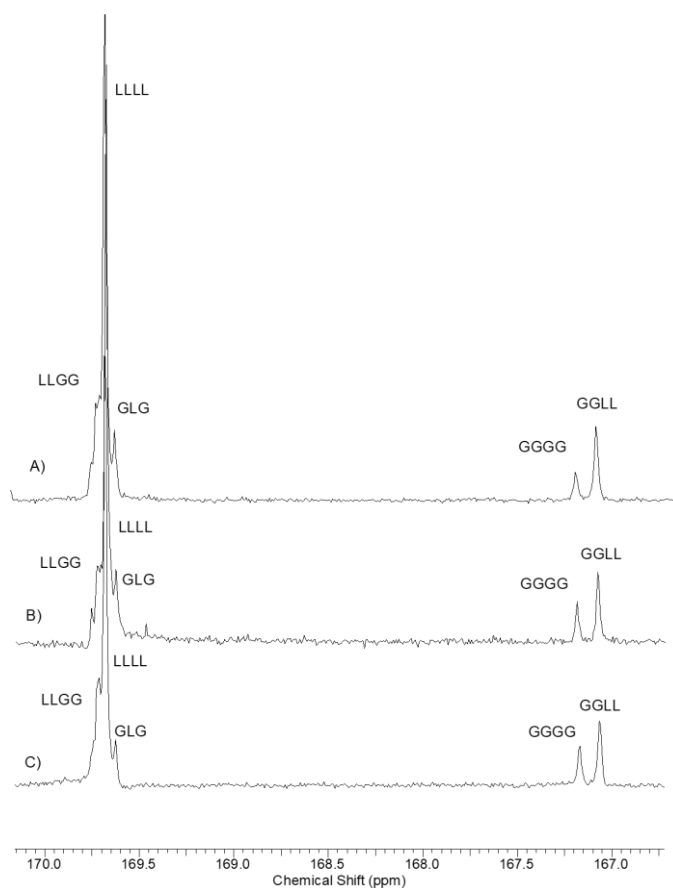
Właściwości otrzymanego kopolimeru i terpolimerów przedstawiono w **Tab. 4.2.1**. Analizując otrzymane widma 1H NMR, określono stopień konwersji komonomerów, skład oraz mikrostrukturę łańcuchów otrzymanych terpolimerów (**Rys. 4.2.1**.) Konwersja monomerów w reakcji była wysoka, powyżej 95%, dlatego składy otrzymanych terpolimerów były zbliżone do założonego. Tylko kopolimer zawierający 20% wag. PEG wykazywał wyraźne różnice (po oczyszczeniu przez wytrącanie). Przyczyną mniejszej zawartości PEG w tym terpolimerze był fakt, iż podczas procesu oczyszczania produktów reakcji na drodze wytrącania ich roztworu chloroformowego metanolem, tworząca się małowcząsteczkowa frakcja zawierająca dużą zawartość PEG wykazywała dość dobrą rozpuszczalność w wytrącalniku i przechodziła do roztworu.



Rys. 4.2.1. Widma ^1H NMR terpolimerów **A)** LA/GL/20% PEG4600, **B)** LA/GL/20% mPEG5000

Analiza widm ^{13}C NMR (**Rys. 4.2.2.**) przeprowadzona w zakresie sygnałów węgli karbonylowych, zgodnie z metodą opracowaną przez Dobrzynskiego i innych [261], wykazała, że łańcuch powstałych terpolimerów tworzy długi blok PEG (lub mPEG) połączony wiązaniem estrowym z blokami (lub blokiem w przypadku mPEG) zbudowanymi przez długie segmenty laktydyłowe (LLLL) połączone głównie z sekwencjami typu -GLG- i -LLGG- (gdzie: G oznacza ugrupowanie glikolilowe - $\text{CH}_2\text{-CO-O-}$ i L - ugrupowanie laktyłowe - $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-CO-O-}$, LL – laktydyłowe, a GG - glikolidyłowe).

Określone średnie długości mikrobloków laktydyłowych i glikolidyłowych w łańcuchu utworzonym z terpolimeru (**Tab. 4.2.1.**) wahały się od 1,4 – 1,9 jednostek glikolidowych GG i 8,0 – 10,0 jednostek laktydyłowych LL, co wykazało wyraźnie segmentową strukturę tej części łańcucha terpolimeru. Średnia długość segmentów laktydyłowych w otrzymanych terpolimerach była tylko nieznacznie krótsza niż odpowiadające segmenty obecne w kopolimerze L-laktydu z glikolidem. Obecność wąskiego pojedynczego sygnału grup CH_2 w widmie ^{13}C NMR udowodniła, że blok PEG nie ulegał degradacji, ani innym przemianom podczas prowadzonej terpolimeryzacji.



Rys. 4.2.2. Widma ^{13}C NMR (region karbonylowy) terpolimerów
A) LA/GL/20% PEG4600, B) LA/GL20% mPEG5000, C) LA/GL/20% PEG10000

Wagowo średnie masy cząsteczkowe (M_w) zsyntetyzowanych terpolimerów były zgodne z oczekiwaniami i zależne od ilości i rodzaju zastosowanego makroinicjatora.

Tab. 4.2.1. Właściwości zsyntetyzowanego kopolimeru PLGA i terpolimerów: LA/GL/10%PEG4600; LA/GL/20%PEG4600; LA/GL/10% mPEG5000; LA/GL/20% mPEG5000; LA/GL/10%PEG10000; LA/GL/10%PEG10000

Lp.	PEG (% w/w)	Konwersja monomerów	LL	GG	M _w	LA		GL		PEG		T _g	T _{m1}	ΔH _{m1}	T _{m2}	ΔH _{m2}	θ
		[%]	[jed.]	[jed.]	[kg/mol]	[mol%]	[%w]	[mol%]	[%w]	[mol%]	[%]	[°C]	[°C]	[J/g]	[°C]	[J/g]	[°]
0	-	98	11	1.9	84.5	85	79	15	12	-	-	57.9	-	-	158	40	72.5
1	PEG4600 (10%)	98	9.1	1.6	51.2	85	79	15	12	0.30	9	36.6	82	6	120	1	64.8
1a	PEG4600 (20%)	97	7.4	1.4	27.9	84	73	15	11	0.60	16	27.2	83	11	126	19	57.8
2	mPEG5000 (10%)	98	10.2	1.8	54.9	85	79	15	12	0.28	9	38.5	83	9	129	8	60.2
2a	mPEG5000 (20%)	97	7.9	1.5	29.9	84	73	15	11	0.56	17	32.0	85	19	128	28	52.5
3	PEG10000 (10%)	98	10.2	1.8	109.8	85	79	15	12	0.14	9	35.2	81	12	129	1	58.1
3a	PEG10000 (20%)	96	9.1	1.6	59.9	85	73	15	11	0.28	16	28.1	83	28	128	12	50.2

Gdzie: LL, GG – średnie długości sekwencji laktydylowych (jednostki LL), glikolidylowe (jednostki GG), M_w – wagowo średnia masa cząsteczkowa (GPC), T_g – temperatura zeszklenia, T_{m1}, ΔH_{m1} – temperatura i ciepło topnienia bloków PEG, T_{m2}, ΔH_{m2} – temperatura i ciepło topnienia domen L-laktydylowych, θ – kąt zwilżania wodą

Termogramy różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) wszystkich badanych próbek ujawniły endotermie topnienia związanej z obecnością bloku polieterowego i występującej w temperaturze około 80°C egzotermie związanej z obszarami krystalizacji dłuższych sekwencji laktydylowych około 100°C, jak i egzotermie topnienia laktydylowych struktur krystalicznych. Ciepło zachodzącej krystalizacji związane z tworzeniem się tych struktur było praktycznie takie samo jak ciepło topnienia struktur krystalicznych, które topiły się w temperaturze około 120°C. Wynika więc z tego, że pomimo stosunkowo wysokiej zawartości laktydylu w otrzymanych terpolimerach, terpolimery te charakteryzowały się niskim stopniem krystaliczności, który związany jest jedynie z tworzeniem struktur krystalicznych bloku polieterowego. Sekwencje laktydylu obecne w łańcuchu są w stanie tworzyć uporządkowane struktury semikrystaliczne, ale dopiero po znaczącym wzroście ruchliwości łańcucha polimeru po podwyższeniu temperatury powyżej 80°C. Stwierdzono, że ciepło topnienia powstałych struktur krystalicznych jest znacznie niższe niż analogiczne ciepło topnienia kopolimeru LA 85%/GL 15%, otrzymanego w podobnych warunkach. Zjawisko zahamowania krystalizacji obserwowane w terpolimerach LA/GL/PEG nie wystąpiło w przypadku analogicznych kopolimerów PLGA. Temperatury zeszklenia dla wszystkich uzyskanych terpolimerów były zależne od składu terpolimerów i znacznie niższe niż temperatura zeszklenia kopolimeru PLGA. W przypadku terpolimerów zawierających mniejszą ilość PEG (9% wag.) temperatura ta mieści się w zakresie 35 – 39°C, a w przypadku terpolimerów o wyższej zawartości PEG (16 – 17% wag.%) temperatura zeszklenia była znacznie niższa, zbliżona do temperatury pokojowej.

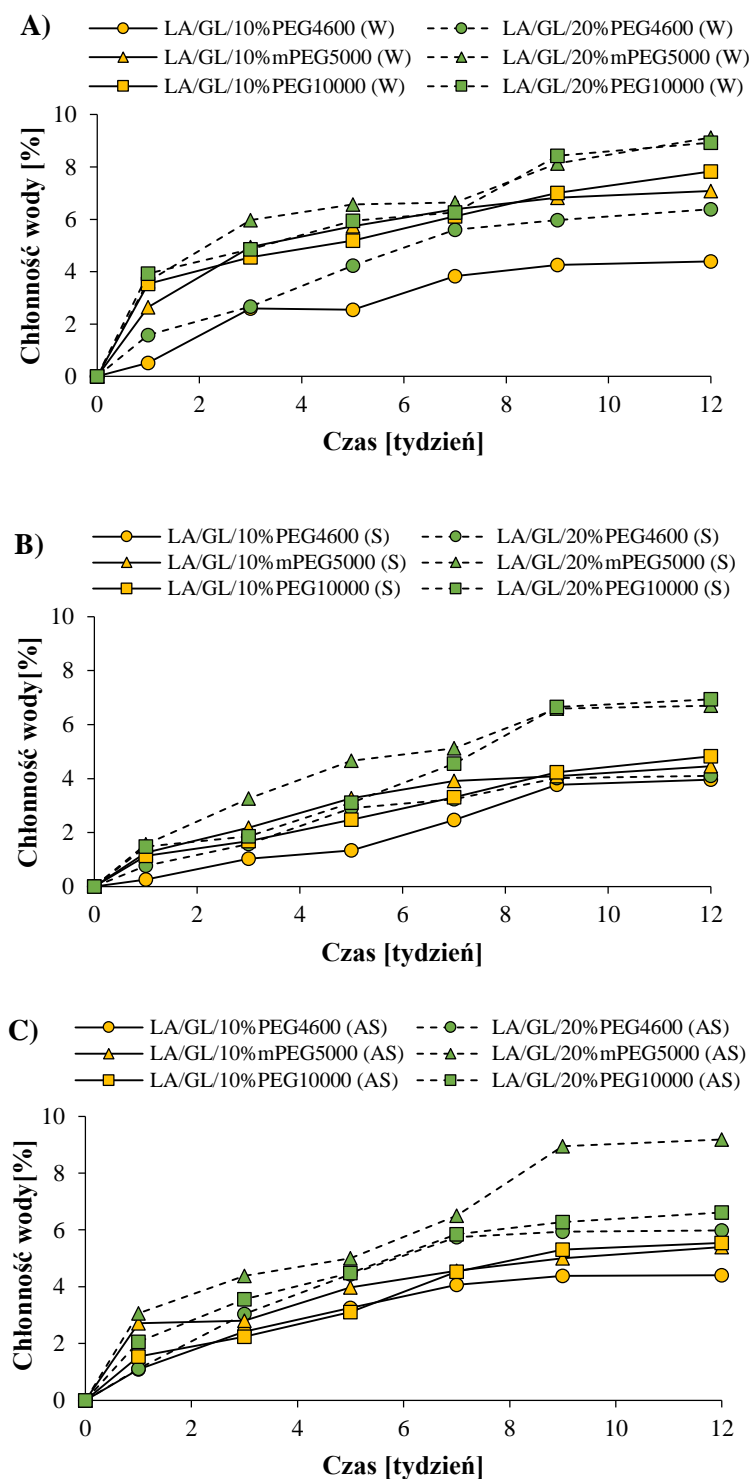
Jak oczekiwano, stwierdzono również, że zawartość bloków polieterowych w zsyntetyzowanych terpolimerach ma wpływ na zwiększenie zwilżalności przez wodę powierzchni utworzonej folii. W porównaniu do folii wykonanych z kopolimeru LA/GL 85/15%, zaobserwowano znaczny spadek kąta zwilżania dla wszystkich próbek (**Tab. 4.2.1.**). Zwilżalność była najwyższa dla folii wykonanych z terpolimerów zawierających 16 – 17 wag. % jednostek PEG w łańcuchu diblokowym i terpolimerach zawierających bardzo długie bloki polieterowe, zsyntetyzowanych z udziałem PEG 10000. Stwierdzono spadek kąta zwilżania dla tych próbek o ponad 20° w porównaniu z kopolimerem PLGA.

4.2.1. Degradacja terpolimerów

Mechanizm degradacji otrzymanych polimerów jest kluczowym czynnikiem decydującym o optymalnym uwalnianiu substancji czynnej w rzeczywistych warunkach, szczególnie w przypadku praktycznie nierozpuszczalnych w wodzie związków, takich jak pendimetalina. Aby poznać profil degradacji i mechanizm uzyskanych terpolimerów, badania przeprowadzono w temperaturze pokojowej w trzech różnych środowiskach. Próbkę folii polimerowych inkubowano przez 3 miesiące w następującym układzie: w glebie – docelowym środowisku zawierającym mikroorganizmy i ograniczoną ilość wody; w czystej wodzie – gdzie degradacja może nastąpić tylko poprzez hydrolizę wiązań estrowych; oraz w osadzie czynnym – gdzie degradacja jest spowodowana zarówno działaniem hydrolitycznym roztworu, jak i jednoczesnym działaniem enzymów wytwarzanych przez mikroorganizmy. Odnotowano wzrost absorpcji wody, spadek masy, utrata masy cząsteczkowej i zmiany w składzie otrzymanych terpolimerów.

Tab. 4.2.1.1. Zmiany średniej masy cząsteczkowej terpolimerów - M_w [g/mol $\times 10^3$]

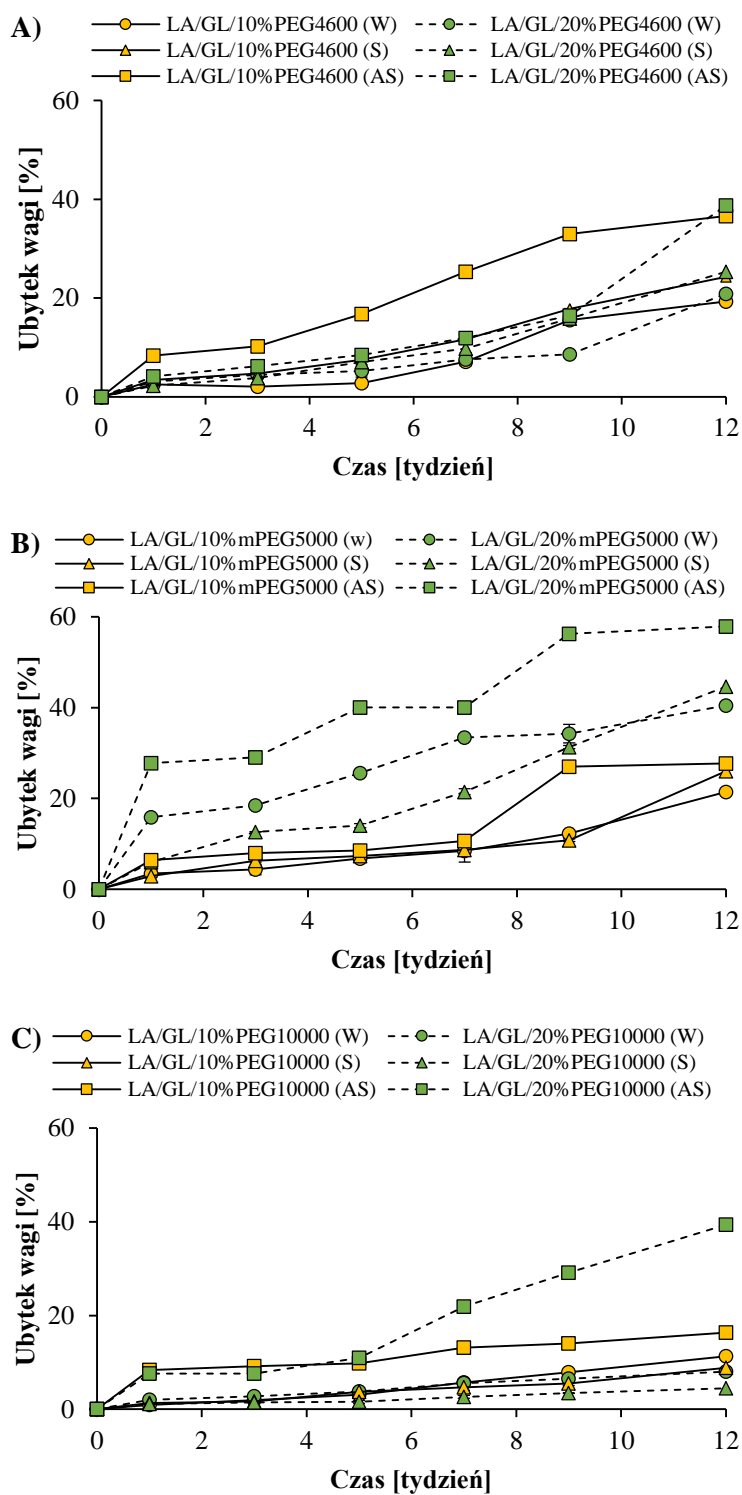
Czas degradacji [tydzień]	LA/GL/10% PEG4600	LA/GL/20% PEG4600	LA/GL/10% mPEG5000	LA/GL/20% mPEG5000	LA/GL/10% PEG10000	LA/GL/20% PEG10000
WODA						
0	52	28	55	30	110	60
3	50	24	38	22	64	54
6	47	24	35	19	63	51
9	42	21	30	19	60	47
12	37	18	27	17	47	27
GLEBA						
0	52	28	55	30	110	60
3	51	28	53	26	73	48
6	47	24	47	24	70	45
9	41	23	42	22	66	34
12	39	21	37	22	51	28
OSAD CZYNNY						
0	52	28	55	30	110	60
3	46	24	48	21	56	45
6	34	19	33	18	41	33
9	22	16	25	14	29	19
12	15	12	17	10	18	14



Rys. 4.2.1.1. Chłonność wody próbek terpolimeru w **A)** – wodzie (W), **B)** – glebie (S), **C)** - osadzie czynnym (AS)

Zgodnie z oczekiwaniami wartość absorpcji wody była zasadniczo związana ze środowiskiem degradacji (**Rys. 4.2.1.1.**). Po pierwszym dniu najwyższy stopień absorpcji wody wykazano w próbkach inkubowanych w czystej wodzie i w osadzie czynnym (A i C). Najwyższą adsorbcję wody (około 3 – 4% wagowych) zaobserwowano w próbkach folii utworzonych z terpolimerów o największej zwilżalności (zawierających 16% wag. w przypadku mPEG5000 i PEG10000). Z biegiem czasu, wraz z postępowaniem degradacji i erozji powierzchni, terpolimer uzyskany z udziałem PEG10000 wykazywał stopniowy wzrost wchłaniania wody do maksymalnie około 9%. Zaobserwowano dość znaczące różnice w absorpcji wody między poszczególnymi typami próbek (najniższa chłonność po tym czasie wykazała próbki o najniższej zwilżalności, a dla 10% PEG4600 wartość ta wynosiła około 4% masy). Wśród próbek zanurzonych w osadzie czynnym próbka zawierająca 16% mPEG wykazała maksymalny procent absorpcji wody (około 9%); różnice w absorpcji wody między pozostałymi próbkami były jednak stosunkowo niewielkie i wahały się między 4 a 6%. Podobne wyniki uzyskano dla dwóch rodzajów folii degradowanych w glebie (B). Szacowana szybkość absorpcji wody przez kopolimery zawierające 20% PEG10000 i 20% mPEG5000 nie różniła się znacząco od wartości szacowanych w środowisku wodnym. Te zwilżalne terpolimery wykazały podobne wchłanianie wody, zarówno po pierwszym dniu (około 1,5%), jak i po 12 tygodniach inkubacji (około 6%).

Ponadto stwierdzono, że absorpcja wody w glebie dla pozostałej grupy próbek jest do siebie bardzo podobna. Podczas procesu degradacji absorpcja wody zwiększała się powoli z około 1% po pierwszym dniu do 4% po 12 tygodniach. Nie stwierdzono więc, aby w tym wypadku zmierzone wartości wchłaniania wody były silnie skorelowane z zwilżalnością powierzchni folii polimerowych.



Rys. 4.2.1.2. Procentowa utrata wagi próbek terpolimeru w: A) - wodzie (W), B) - glebie (S) i C) - osadzie czynnym (AS)

Wartości spadku w wagi badanych próbek podczas inkubacji w różnych środowiskach przedstawione zostały na (**Rys. 4.2.1.2.**). Największy spadek wagi po 12 tygodniach degradacji w AS zaobserwowano dla terpolimerów zawierających około 20% PEG (odpowiednio ponad 50% i prawie 40% dla kopolimerów zawierających odpowiednio mPEG5000 i PEG10000). Warto zauważyć, że LA/GL/20% mPEG5000 wykazał najwyższy spadek masy po degradacji w środowisku wodnym i glebowym (w obu przypadkach około 30%). Wyniki te są związane z ich dobrą zwilżalnością i zaobserwowaną zdolnością do absorpcji wody. Terpolimer LA/GL/20% PEG10000 rozkładał się znacznie wolniej w glebie i wodzie, w którym to przypadku stwierdzono spadek masy w obu ośrodkach niższy niż 10%. Warto zauważyć, że dość nieoczekiwanie spadek masy dla wszystkich badanych próbek w środowisku wodnym i w glebie był praktycznie identyczny.

Ponadto wykazano, że spadek wartości średnich mas cząsteczkowych był w zgodzie z zaobserwowanym stopniem spadku masy próbek (**Tab. 4.2.1.1.**). Niezależnie od składu terpolimerów najszybszy spadek średnich mas cząsteczkowych miał miejsce w osadzie czynnym. W ciągu 12 tygodni wszystkie badane próbki wykazały spadek średniej masy cząsteczkowej do 20 – 30% średniej masy początkowej M_{0w} . Jednak ten spadek, w przeciwieństwie do utraty masy próbki, praktycznie nie był zależny od zawartości bloku PEG w tych terpolimerach. Średnie zmiany masy cząsteczkowej terpolimerów LA/GL/PEG10000 i LA/GL/mPEG5000 były podobne w warunkach wodnych i glebowych; zgodnie z oczekiwaniami okazały się jednak niższe w porównaniu ze zmianami masy cząsteczkowej w osadzie czynnym. Obniżenie się masy cząsteczkowej w wodzie i glebie po 12 tygodniach inkubacji próbki zawierającej PEG10000 i mPEG5000 było prawie takie samo, osiągając odpowiednio 40 i 50% w porównaniu z wartością początkową. Pomiar mas cząsteczkowych pozostałych próbek wykazały spadek na poziomie 70% początkowej średniej masy cząsteczkowej. Tutaj, podobnie jak zmiany wagi próbek, nie stwierdzono, że spadek masy cząsteczkowej jest zależny od ilości PEG w kopolimerze.

Tab. 4.2.1.2. Zmiany składu terpolimerów [% wag.] podczas procesu degradacji

Czas degradacji [Tydzień]	LA/GL/10%PEG4600			LA/GL/20%PEG4600			LA/GL/10% <i>m</i> PEG5000			LA/GL/20% <i>m</i> PEG5000			LA/GL/10%PEG 10000			LA/GL/20%PEG10000		
	LA	GL	PEG	LA	GL	PEG	LA	GL	PEG	LA	GL	PEG	LA	GL	PEG	LA	GL	PEG
WODA																		
0	79.0	12.1	8.9	72.9	11.1	16.0	79.1	12.0	8.9	72.3	11.1	16.6	78.8	12.0	9.2	72.7	12.4	15.9
3	78.9	12.7	8.4	73.8	11.5	14.7	79.0	12.7	8.3	79.5	11.9	8.6	78.7	12.3	9.0	74.0	12.5	13.5
6	78.9	12.8	8.3	73.9	11.9	14.2	78.9	12.9	8.2	79.7	12.2	8.1	78.9	12.3	8.8	74.4	12.9	12.8
9	79.1	13.3	7.6	74.0	12.0	14.0	78.9	13.1	8.0	80.2	12.3	7.5	79.0	12.4	8.6	75.1	13.0	11.9
12	79.2	13.4	7.4	74.7	12.3	13.0	79.8	13.3	6.9	83.0	12.7	4.3	79.2	12.6	8.2	76.9	13.6	9.5
GLEBA																		
0	79.0	12.1	8.9	72.9	11.1	16.0	79.1	12.0	8.9	72.3	11.1	16.6	78.8	12.0	9.2	72.7	12.4	15.9
3	78.7	12.7	8.6	73.2	11.5	15.4	79.5	12.2	8.3	78.3	12.0	9.7	78.9	12.1	9.0	73.1	12.6	14.3
6	78.7	12.7	8.6	73.6	11.9	14.5	79.5	12.3	8.2	79.3	12.5	8.2	78.9	12.2	8.9	74.5	12.7	12.8
9	78.8	12.8	8.4	74.0	11.9	14.1	79.7	12.3	8.0	79.5	12.8	7.7	79.0	12.2	8.8	74.9	12.9	12.2
12	79.0	12.9	8.1	74.5	12.2	13.4	79.8	12.4	7.7	80.3	12.9	6.8	79.1	12.3	8.7	75.5	13.5	12.0
OSAD CZYNNY																		
0	79.0	12.1	8.9	72.9	11.1	16.0	79.1	12.0	8.9	72.3	11.1	16.6	78.8	12.0	9.2	72.7	12.4	15.9
3	79.1	12.0	7.9	74.0	11.3	14.6	82.4	12.5	7.3	78.1	11.7	10.2	81.2	12.2	8.0	76.9	12.6	10.5
6	80.4	13.0	6.6	76.3	11.6	12.1	82.7	12.6	7.0	79.5	11.8	8.7	82.3	12.4	7.4	78.4	12.7	8.9
9	80.8	13.2	6.0	76.9	11.9	11.1	84.8	12.8	6.0	81.5	11.8	6.7	83.5	12.4	7.1	79.7	13.0	7.3
12	81.5	13.4	5.1	77.6	12.0	10.4	83.3	13.1	4.6	84.2	12.0	3.8	80.4	12.6	7.0	80.9	13.2	5.8

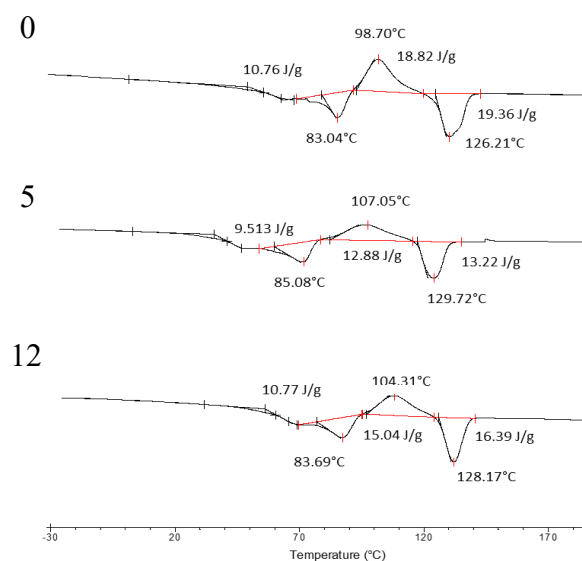
Tab. 4.2.1.2. podsumowuje zmiany w składzie badanych terpolimerów podczas degradacji we wszystkich środowiskach. Podczas degradacji próbek, niezależnie od środowiska, w którym były inkubowane, powoli zwiększała się wartość stosunku jednostek laktydylowych i glikolidylowych do jednostek PEG. Zmiany te były szczególnie zauważalne podczas procesu degradacji w osadzie czynnym. Najszybszy spadek zawartości jednostek PEG, niezależnie od ośrodka degradacji, zanotowano dla folii formowanych z terpolimerów diblokowych zawierających większą ilość PEG (LA/GL/20% mPEG5000). Najbardziej prawdopodobną przyczyną tego zjawiska jest proces hydrolizy jednego z wiązań estrowych blisko końca bloku PLGA, co spowodowało utworzenie oligomerów zawierających, oprócz długiego bloku PEG, niewielką ilość laktydylu i glikolidylu. W konsekwencji zjawisko łatwego wymywania takich oligomerów przez wodę powoduje obniżenie ilości grup eterowych w PEG. Przy wyższych stężeniach bloku mPEG w terpolimerze, co jest związane ze skróceniem bloku laktydyl-glikolidylowego, wzrosło prawdopodobieństwo tworzenia rozpuszczalnych w wodzie oligomerów. W próbkach utworzonych z LA/GL/20% terpolimerów mPEG5000, po 12 tygodniach udział jednostek PEG zmalał z pierwotnej ilości około 17% do około 4% podczas degradacji w środowisku wodnym (woda i osad czynny).

W przypadku degradacji w glebie stwierdzono, że spadek ten był nieco niższy, ale końcowa zawartość jednostek PEG wynosiła tylko około 7%. W przypadku pozostałych próbek formowanych z terpolimerów o strukturze trójblokowej konieczna była jednoczesna hydroliza dwóch wiązań estrowych w obu blokach bocznych – PLGA. Oczywiście prawdopodobieństwo wystąpienia takiego zjawiska w tych próbkach jest znacznie niższe, a zatem proces ten okazał się wyraźnie wolniejszy. W środowisku wodnym, spadek zawartości PEG był w tym przypadku także szybszy niż w przypadku dezintegracji w glebie, co jest związane z łatwiejszą elucją produktów degradacji.

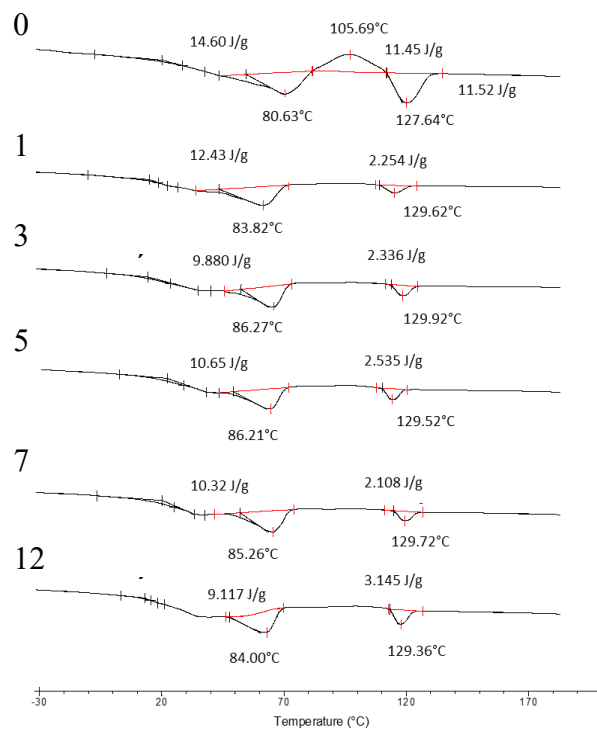
Na podstawie wyników pomiarów DSC, stwierdzono, że podczas procesu degradacji nie zachodzi zjawisko wzrostu stopnia krystaliczności badanych próbek, co ma najczęściej miejsce podczas degradacji wielu kopolimerów L-laktydu. Zmiany te były dla większości próbek nieznaczne (**Rys. 4.2.1.3. – 4.2.1.5.**).

Brak tworzenia się fazy krystalicznej podczas degradacji potwierdziły również badania wykonane z pomocą szerokokątnej dyfrakcji rentgenowskiej (WAXD) **Rys. 4.2.1.6.** We wszystkich testowanych próbkach, nie znaleziono występowania oczywistych faz krystalicznych. Dyfraktogramy zarówno przed degradacją jak po 12 tygodniach inkubacji w wodzie lub glebie nie wykazywały charakterystycznych dla fazy

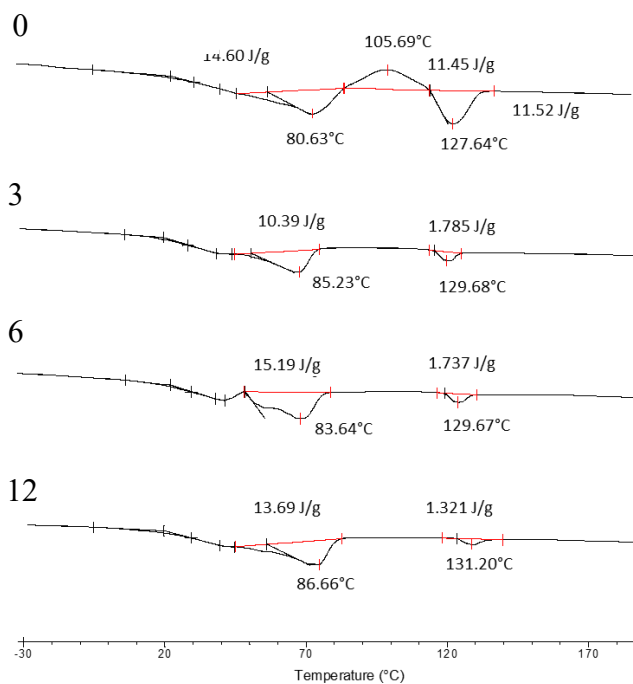
krystalicznej poli(L-laktydu) sygnałów. Widoczne jest praktycznie tylko wyraźne amorficzne tło (halo). Można jedynie dopatrzeć się śladowych sygnałów przy kącie 2θ około $16,5^\circ$ mogących wskazywać na istnienie drobnych krystalitów, ale ich liczba jest znikoma. Dzięki braku wzrostu krystalizacji wraz z stopniem degradacji próbek, nie występuje gwałtowne wyhamowanie tego procesu, co ma bezpośrednie przełożenie na uzyskanie oczekiwanego równomiernego profilu uwalniania środka aktywnego z tego typu matrycy. Zmiany temperatury zeszklenia podczas degradacji były również nieznaczne.



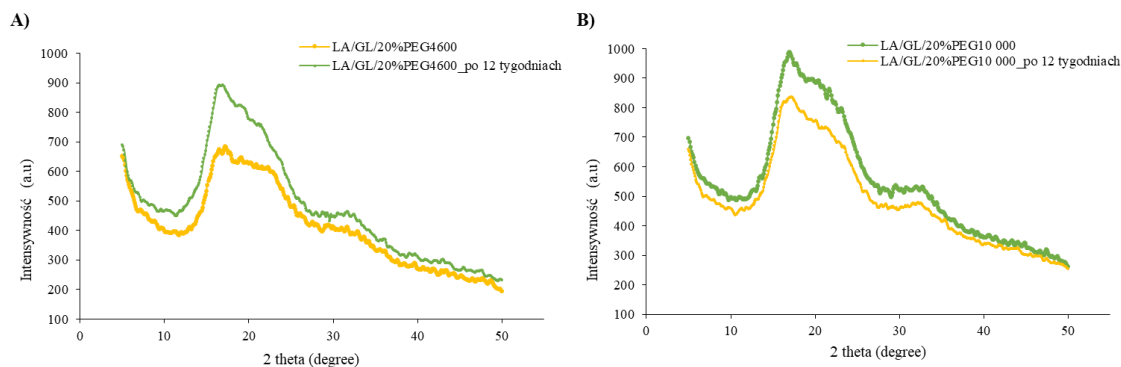
Rys. 4.2.1.3. Termogramy DSC (I przebieg) terpolimeru LA/GL/20% PEG4600, przed degradacją, po 5 tygodniach i 12 tygodniach degradacji w wodzie



Rys. 4.2.1.4. Termogramy DSC (I przebieg) terpolimeru LA/GL/20% PEG10000 przed i po 1,3,5,7 oraz 12 tygodniach w wodzie

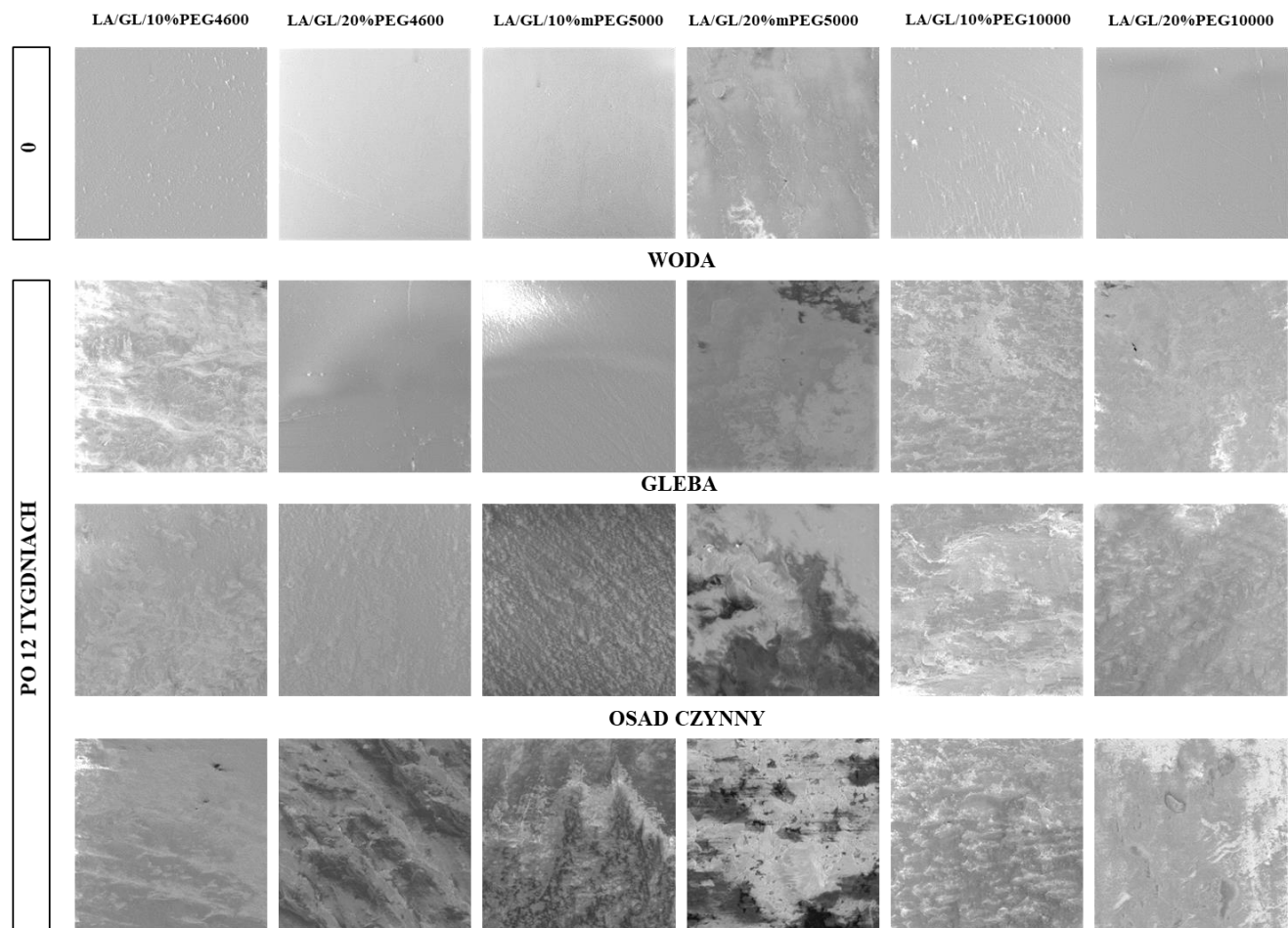


Rys. 4.2.1.5. Termogramy DSC (I przebieg) terpolimeru LA/GL/20% PEG10000 przed i po 3,6 oraz 12 tygodni degradacji w glebie



Rys. 4.2.1.6. Profile szerokokątowej dyfrakcji promieni X zarejestrowane dla badanych próbek; **A)** LA/GL/20% PEG 4600, **B)** LA/GL/20% PEG 10 000, przed degradacją i po 12 tygodniach degradacji prowadzonej w glebie

Podczas przebiegu procesu degradacji próbek polimerowych, zwłaszcza zachodzącego w glebie i osadzie czynnym, zaobserwowano szybko postępującą silną erozję powierzchniową obserwowaną za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM). Na początku degradacji powierzchnia krążków polimerowych była dość gładka i nieporowata; jednak z czasem zaobserwowano pogłębiający się postęp w erozji powierzchni, coraz bardziej widoczny w postaci nieregularnych defektów takich jak; kanały, kratery czy głębokie spękania (szczeliny, rozłamy).



Rys. 4.2.1.7. Zmiany powierzchni próbek folii po każdym okresie ekspozycji na medium degradacyjne, skaningowy mikroskop elektronowy (SEM) ($200 \times 200 \mu\text{m}$)

Załączone zdjęcie pokazuje najbardziej reprezentatywne zmiany erozji powierzchniowej próbek po 12 tygodniach degradacji (**Rys. 4.2.1.7.**). Zgodnie z oczekiwaniami intensywność erozji powierzchniowej próbek w zależności od rodzaju medium malała w następującej kolejności: osad czynny > gleba > woda. Próbkę polimerową zanurzoną w wodzie ulegają głównie degradacji hydrolitycznej, co jest możliwe dzięki penetracji cząsteczek wody do matrycy polimerowej i przebiega w wyniku hydrolizy wiązań estrowych w łańcuchach polimerowych. Ten rodzaj degradacji ma mniejszy wpływ na zmiany morfologii powierzchni próbki. W przypadku degradacji prowadzonej w glebie i osadzie czynnym aktywność mikroorganizmów jest nieporównywalnie silniejsza, a zatem degradacja enzymatyczna w tym wypadku jest odpowiedzialna za obserwowaną silną erozję powierzchniową. Podobne spadki średniej masy cząsteczkowej w wypadku degradacji prowadzonej w wodzie i glebie świadczą o tym, że w wypadku mechanizmu tej drugiej oprócz działania enzymów zachodzi jednak również w dużym stopniu degradacja na drodze hydrolitycznej. Oba mechanizmy degradacji występują silnie w wypadku degradacji prowadzonej w obecności osadu czynnego.

4.2.2. Uwalnianie herbicydów z terpolimerów

Szybkość uwalniania środka aktywnego z matrycy polimerowej zależy od wielu czynników, w tym fizykochemicznej natury polimeru, warunków otaczającego środowiska i właściwości substancji aktywnej (np. masa cząsteczkowa, rozpuszczalność w wodzie, oddziaływanie z matrycą). W przypadku otrzymanych nośników szybkość ich erozji i degradacji jest zasadniczym czynnikiem odpowiedzialnym za przebieg badanego uwalniania wybranych herbicydów.

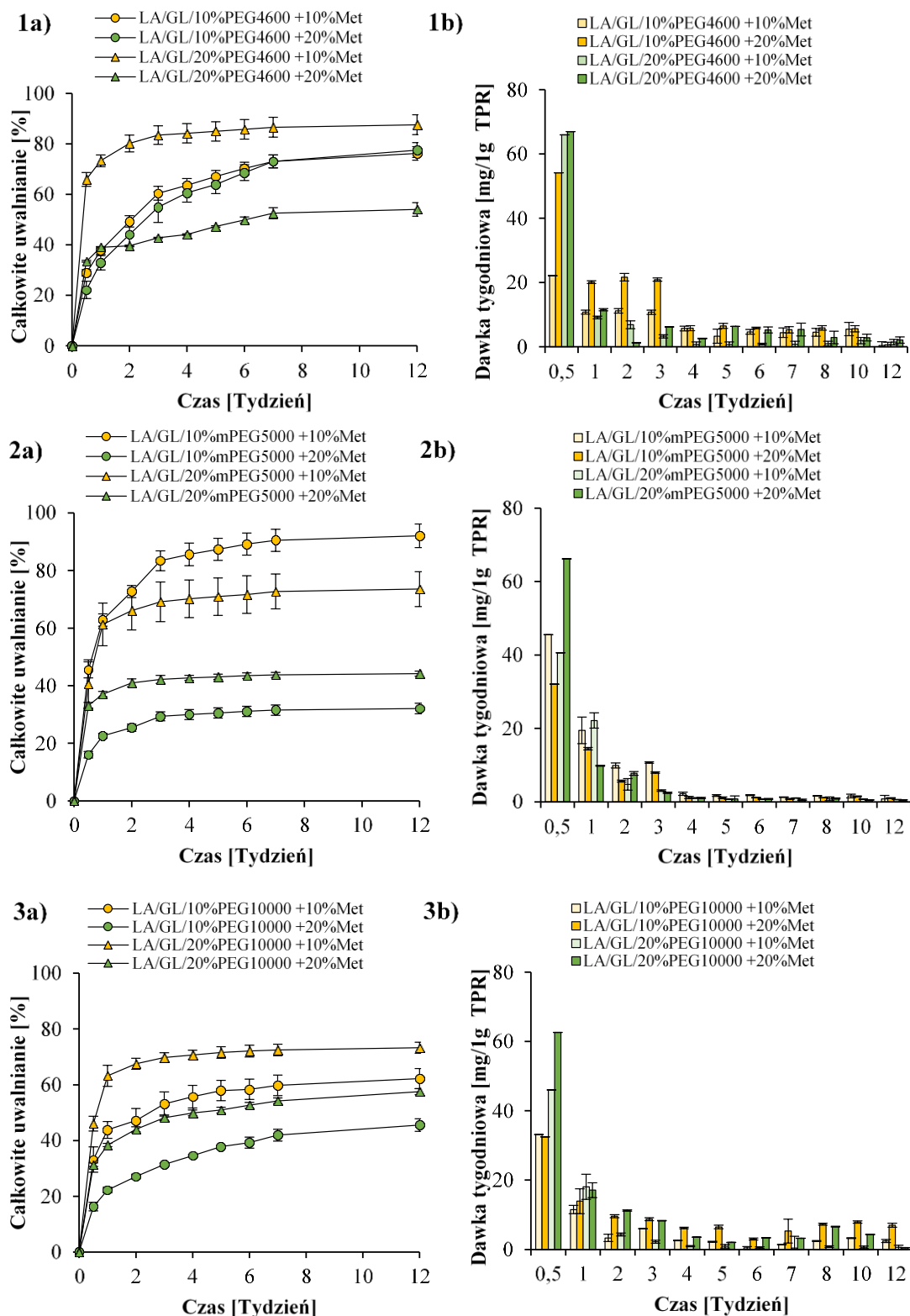
Na początku procesu uwalnianie substancji czynnych z PLGA następuje poprzez tzw. „*burst effect*”, czyli gwałtowne uwalnianie dużych ilości czynnika. Efekt ten może być bardzo interesujący w zastosowaniach, w których duże dawki herbicydu są szczególnie potrzebne we wczesnych okresach intensywnego wzrostu chwastów. Z punktu widzenia ochrony środowiska początkowe gwałtowne uwalnianie jest niepożądanym zjawiskiem, które powoduje wymywanie nadmiaru uwolnionego czynnika do gleby i środowiska. Dla celów rolniczych tempo uwalniania agrochemikaliów powinno być optymalne w okresie wegetacji chwastów, to znaczy powinno trwać kilka miesięcy jednocześnie z czasem trwania uprawy. W tym kontekście ważne jest zaprojektowanie nośnika polimerowego, który będzie w stanie

uwalniać herbicydy w optymalnych zminimalizowanych dawkach, które będą wystarczające do zahamowania wzrostu niepożądanych chwastów. Na początku herbicydy są uwalniane z dużą szybkością, co spowodowane jest zasadniczo bezpośrednim wymywaniem tej substancji z powierzchni nośnika. W późniejszych etapach tempo uwalniania tego związku zależy głównie od jego możliwości dyfuzji i wymywania przez obecne i tworzące się w wyniku erozji kanały i mikropory matrycy, wzrostu natężenia zjawiska osmozy, jak i stopnia degradacji i rozpadu samej matrycy. Zjawiska te są oczywiście bezpośrednio związane z procesem chłonięcia wody i degradacji polimerowej matrycy wywołanej czynnikami hydrolitycznymi i/lub enzymatycznymi. W przedstawionych badaniach, jako modelowe herbicydy wybrano dwa powszechnie stosowane doglebowo, różniące się diametralnie rozpuszczalnością w wodzie; metazachlor i pentadimetalinę.

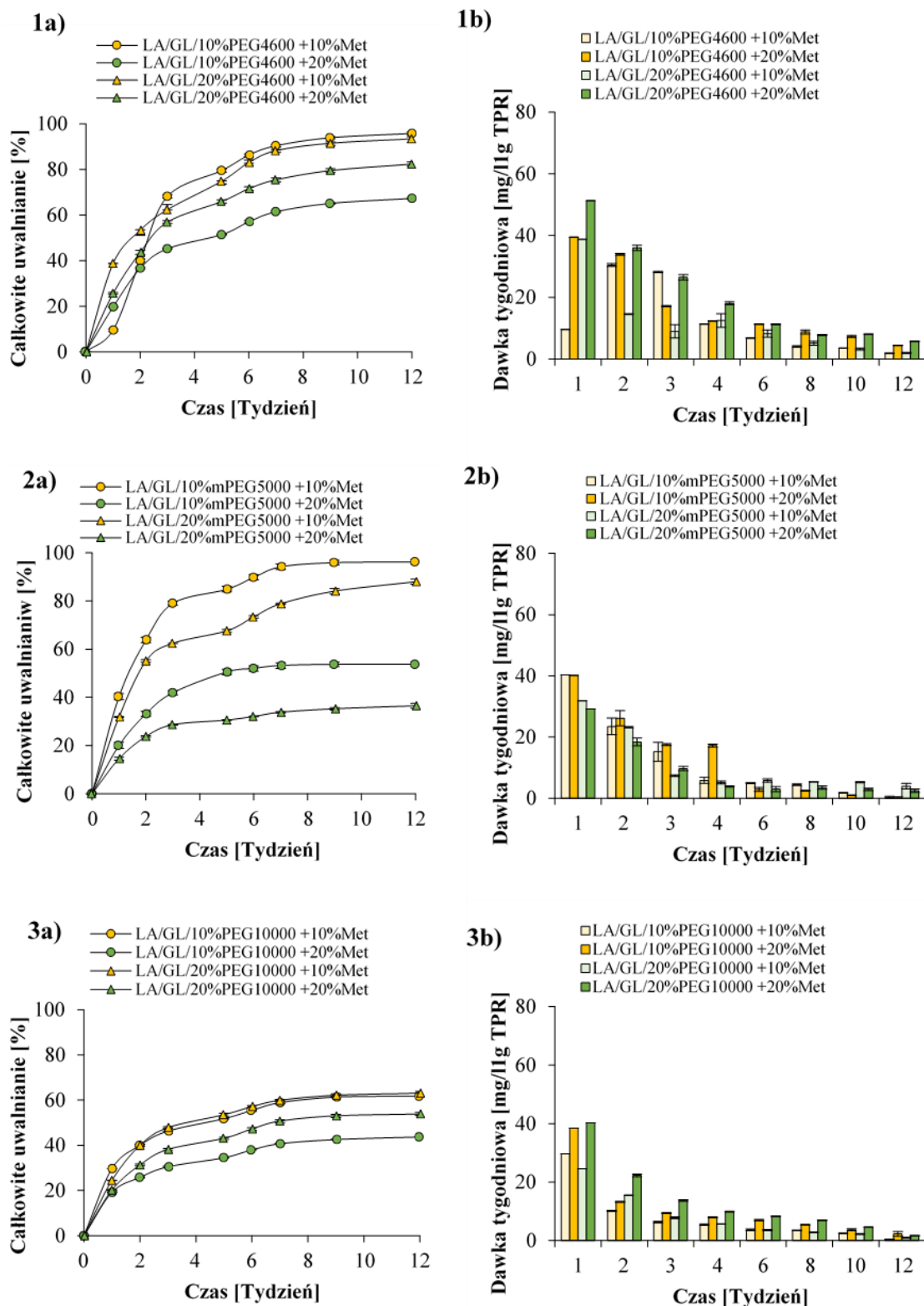
4.2.2.1. Uwalnianie metazachloru

Uzyskane wyniki badań uwalniania metazachloru wykazały bardzo dużą rolę jaką w tym procesie gra zjawisko wypłukiwania-dyfuzji tego związku z matrycy z powodu relatywnie dobrej rozpuszczalności jego w wodzie. Szybkość uwalniania tego herbicydu w trakcie całego badanego okresu, zarówno w wodzie (**Rys. 4.2.2.1.1.**), jak i glebie (**Rys. 4.2.2.1.2.**) okazała się zmienna. W ciągu pierwszych 2 tygodni, w wypadku stosowania nośników zawierających 20% wag. herbicydu, metazachlor jest uwalniany z dużą szybkością zarówno w glebie, jak i wodzie. Efekt wypłukania był szczególnie widoczny w przypadku nośników zawierających większą zawartość hydrofilowego bloku (20% PEG), niezależnie od jego rodzaju. Zgodnie z oczekiwaniami szybkość uwalniania metazachloru do wody zmniejszała się w czasie i po początkowym gwałtownym uwalnianiu, między 2 a 4 tygodniem osiągała wartość około 20mg/1g terpolimeru. Dalsze uwalnianie było na poziomie 5mg/1g terpolimeru dla każdej z badanych matryc. Porównując początkowe uwalnianie metazachloru uwalnianego do wody i gleby, warto zauważyć, że w przypadku uwalniania do gleby efekt ten nie był tak silny. Jest to bardzo obiecująca właściwość, szczególnie w wypadku zastosowania tego typu systemu dla celów agrochemicznych. Możliwe jest więc obniżenie ekotoksyczności prowadzonego z tego typu systemem zabiegu agrotechnicznego, co udowodniono w późniejszych badaniach. Terpolimery otrzymane z PEG 4600 i mPEG 5000 i zawierające 10% metazachloru po 12 tygodniach uwolniły prawie całą ilość zdyspergowanego w nich herbicydu. Jednocześnie nieoczekiwanie stwierdzono, że szybkość uwalniania z matrycy

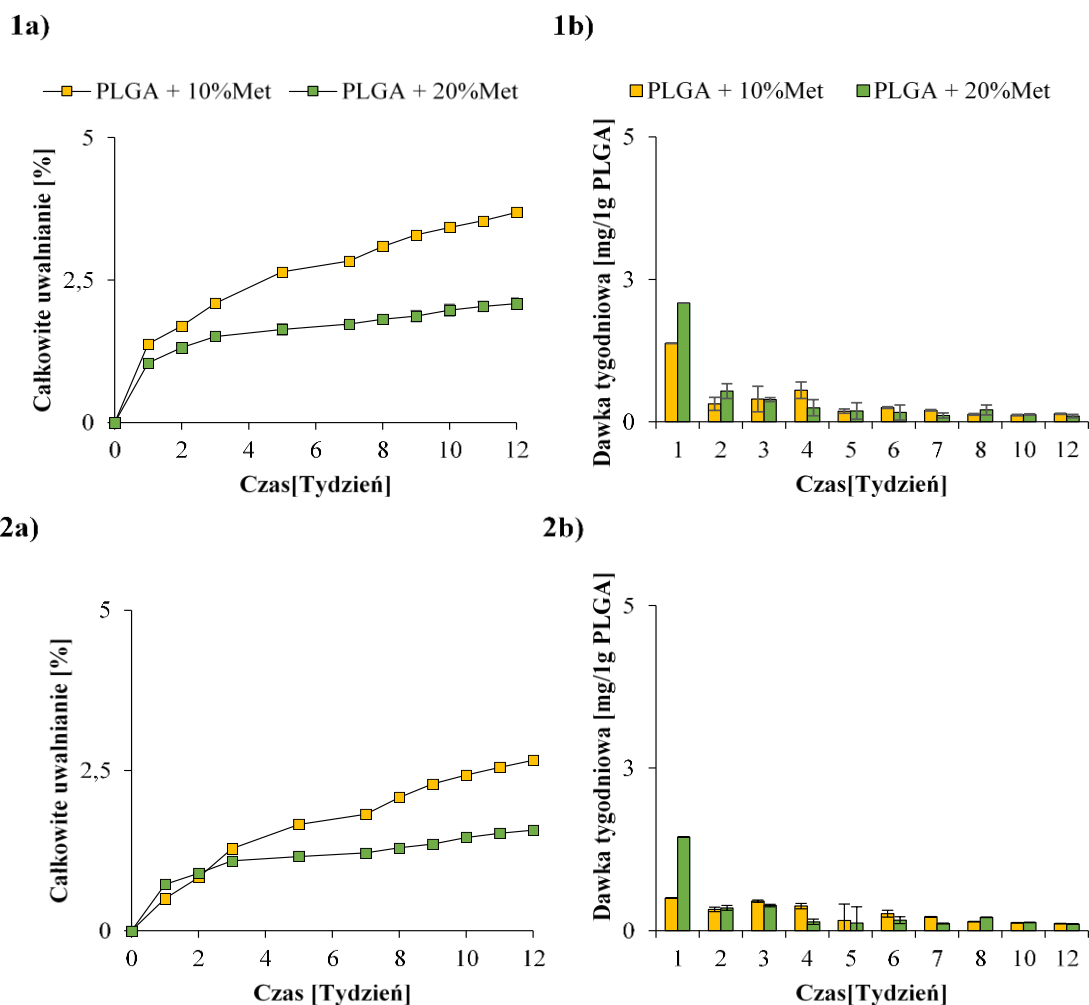
metazachloru w wodzie w porównaniu do analogicznego badania uwalniania prowadzonego w glebie jest niższa dla każdego zastosowanego nośnika. Wynika z tego, że na tempo uwalniania metazochloru w badanych układach silnie wpływa obecność enzymów, powodujących intensywną erozję powierzchniową próbek. W wypadku matryc zawierających 20% metazochloru, poza pierwszym okresem związanym z efektem gwałtownego uwalniania substancji aktywnej, po okresie dwóch tygodni nie zaobserwowano znacznego zwiększenia uwalnianej dawki. Z tego powodu po 12 tygodniach nośniki formowane z terpolimerów zawierających 20% metazachloru uwolniły herbicyd na poziomie od około 30 do 70% ich całkowitej początkowej ilości. Dla próbek zawierających 20% metazochloru postęp degradacji i erozji matrycy nie uległ zasadniczym zmianom i przebiegał podobnie, jak w przypadku próbek o mniejszej zawartości tego związku. W wypadku terpolimerów otrzymanych z PEG10000 otrzymano podobne wyniki. Znaczenie stopnia hydrofilowości matrycy w procesie uwalniania herbicydów w badanych warunkach można zaobserwować analizując zachowanie analogicznego systemu uwalniania, formowanego z kopolimeru L-laktydu i glikolidu o tym samym stosunku komonomerów, niezawierającego jednak hydrofilowego bloku PEG. Jeśli nośnik jest hydrofobowym polimerem (jak w przypadku kopolimeru PLGA – (**Tab. 4.2.1.**)), obserwowana szybkość uwalniania metazachloru w badanych warunkach jest kilkadziesiąt razy mniejsza. Całkowita ilość uwolnionego herbicydu dla takiego systemu w trakcie okresu 12 tygodni nie przekracza 3% jego masy początkowej, a dawki tygodniowe są poniżej 1mg/1g nośnika (**Rys. 4.2.1.10.**).



Rys. 4.2.2.1.1. Całkowite uwalnianie i tygodniowe dawki uwalniania metazachloru (Met) z terpolimerów w wodzie w ciągu 12 tygodni. Rys. 1a, 2a i 3a pokazują całkowite uwalnianie herbicydu załadowanego w ilości 10 i 20% wagowych z mieszanin: LA/GL/10%PEG4600 i LA/GL/20%PEG4600 (1a), LA/GL/10% mPEG5000 i LA/GL/20% mPEG5000 (2a) oraz LA/GL/10% PEG10000 i LA/GL/20% PEG10000 (3a). Rys. 1b, 2b i 3b pokazują tygodniowe dawki herbicydu uwalnianego z tych samych terpolimerów



Rys. 4.2.2.1.2. Całkowite uwalnianie i tygodniowe dawki uwalniania metazachloru (Met) z terpolimerów w glebie w ciągu 12 tygodni. Rys. 1a, 2a i 3a pokazują całkowite uwalnianie herbicydu załadowanego w ilości 10 i 20% wagowych z mieszanin: LA/GL/10%PEG4600 i LA/GL/20%PEG4600 (1a), LA/GL/10% mPEG5000 i LA/GL/20% mPEG5000 (2a) oraz LA/GL/10% PEG10000 i LA/GL/20% PEG10000 (3a). Rys. 1b, 2b i 3b pokazują tygodniowe dawki herbicydu uwalnianego z tych samych terpolimerów



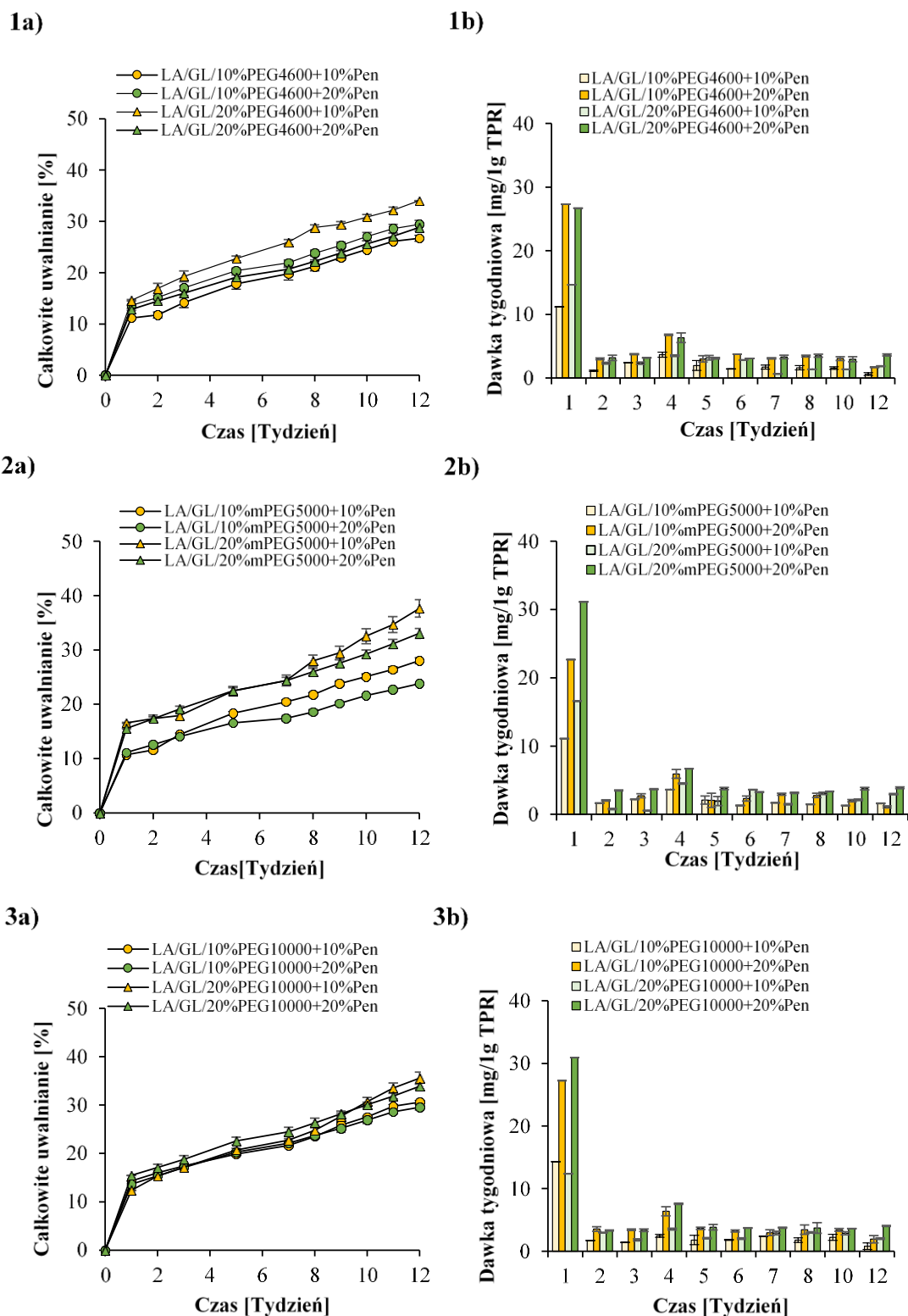
Rys. 4.2.2.1.3. Całkowite uwalnianie metazachloru (Met) z dodatkiem 10 i 20% z kopolimeru PLGA w wodzie (1a) i w glebie (2a) oraz tygodniowe dawki uwalniania w wodzie (1b) i w glebie (2b)

4.2.2.2. Uwalnianie pendimetaliny

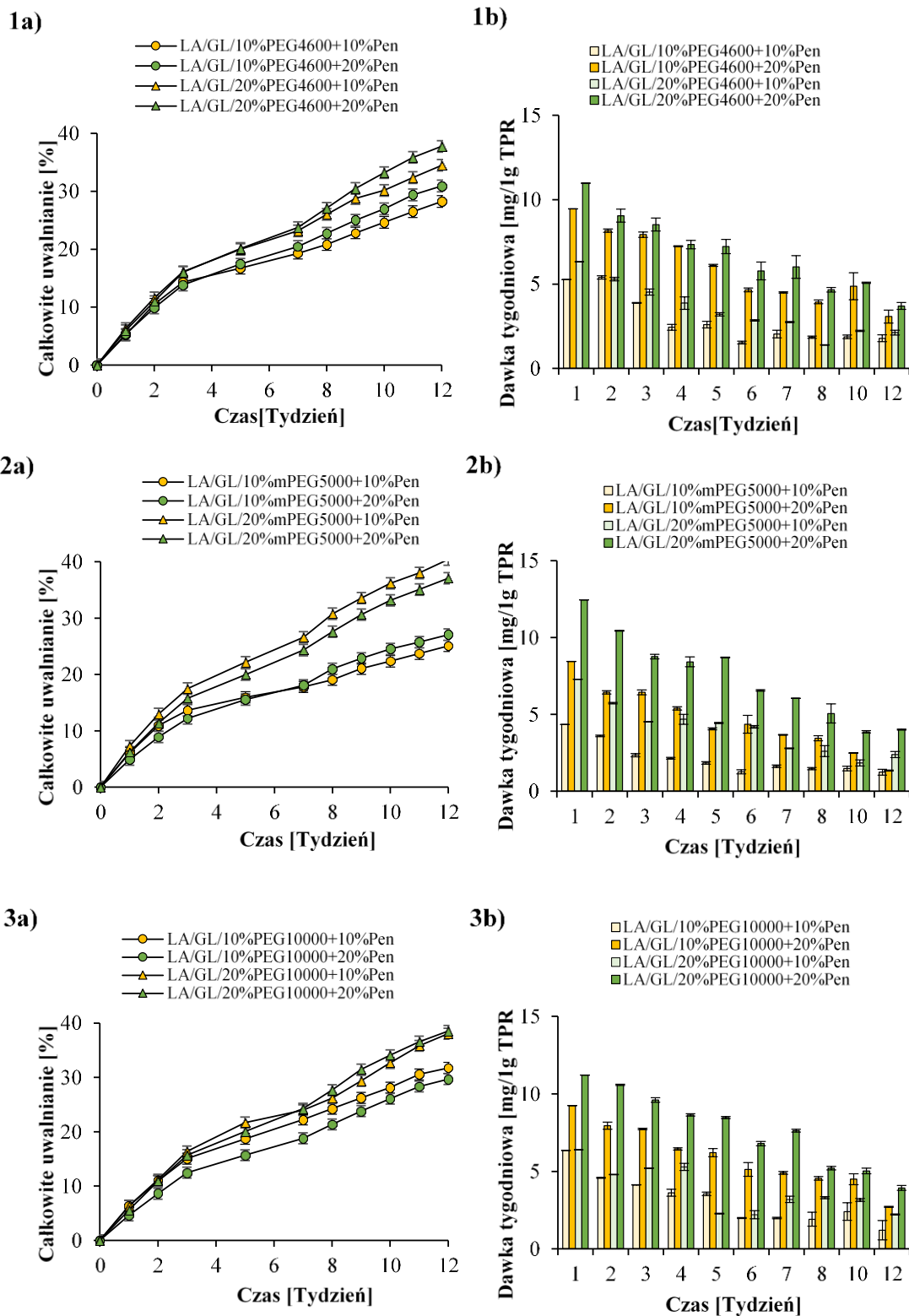
Przebieg procesu uwalniania pendimetaliny przedstawiono na **Rys. 4.2.2.2.1.** i **Rys. 4.2.2.2.2.** Generalnie tempo uwalniania tego praktycznie nierozpuszczalnego w wodzie herbicydu jest znacznie wolniejsze od szybkości uwalniania metazachloru. Początkowo, w okresie około dwóch pierwszych tygodni uwalniania pendimetaliny obserwowany jest gwałtowny skok uwalniania tego związku, a następnie w kolejnych tygodniach herbicyd ten jest stopniowo uwalniany głównie w wyniku biodegradacji terpolimerowej matrycy. W ciągu pierwszych 2 tygodni terpolimery zawierające 20% pendimetaliny pozwoliły na uwolnienie tego związku do wody, w dawkach tygodniowych na poziomie 20 – 30mg/1g matrycy, później dawki te stopniowo spadały i nie przekraczały 10mg/1g nośnika. W wypadku uwalniania do gleby, obserwowany początkowy gwałtowne uwalnianie herbicydu był wyraźnie mniejszy.

Porównując skumulowaną ilość uwalnianego metazachloru i pendimetaliny, można zaobserwować, że w okresie prowadzonych badań (12 tygodni) w wypadku uwalniania tej ostatniej nie zaobserwowano wystąpienia silnego spowolnienia uwalniania tego czynnika (faza plateau), jak to miało miejsce w większości wypadków uwalniania metazachloru. Uwalnianie pendimetaliny było ciągle w fazie wzrostu, również po okresie 12 tygodni. W okresie badania stwierdzono, że pomiędzy 2 a 12 tygodniem średnie tygodniowo uwalniane dawki tego herbicydu są bardzo zbliżone. Całkowite procentowe uwalnianie pendimetaliny zarówno do wody, jak i gleby po 12 tygodniach nie przekroczyło jednak 40% jego całkowitej ilości wprowadzonej do matrycy. W wypadku stosowania tego herbicydu, uwalniane dawki zależały od jego początkowej zawartości w nośniku i w tym wypadku zawartością tego herbicydu w matrycy można regulować wielkość uwalnianej dawki dziennej.

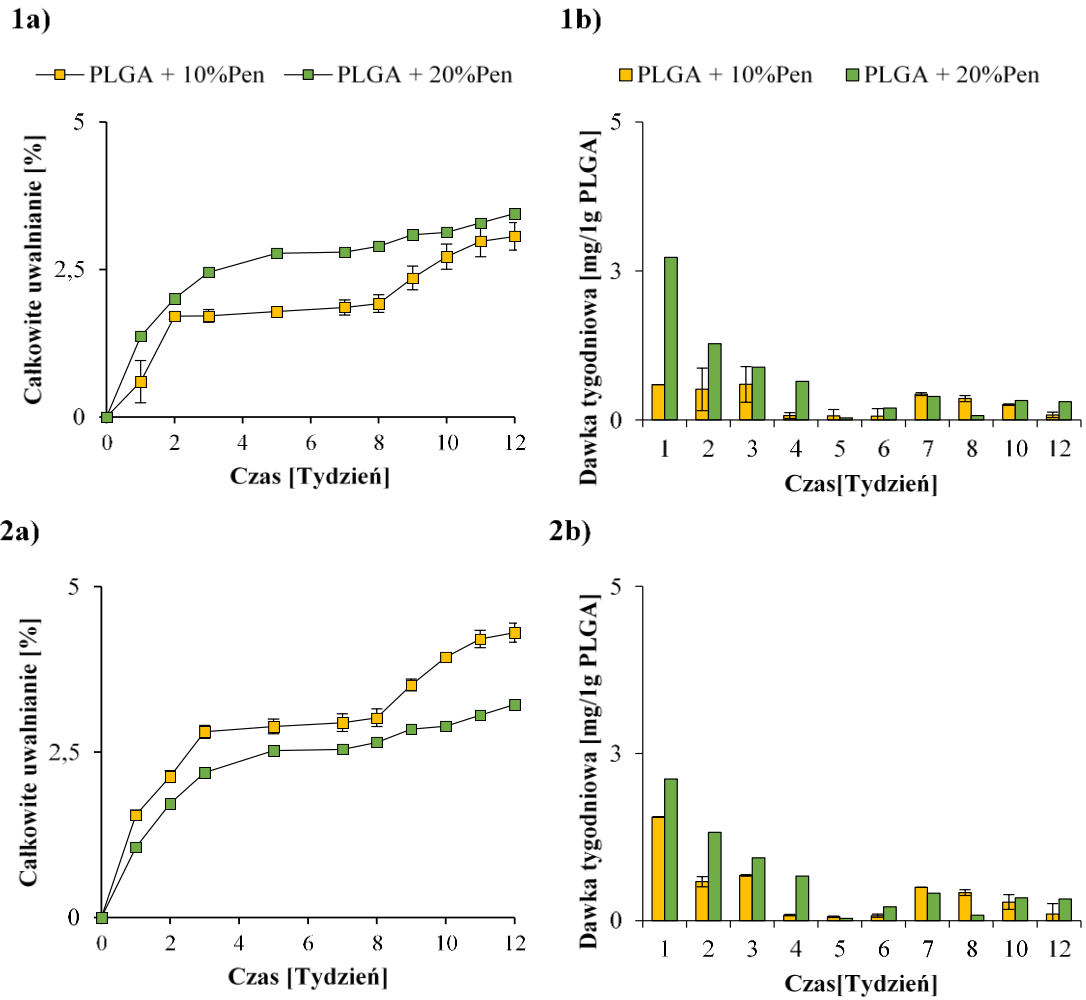
Obserwowane różnice w profilach uwalniania metazachloru i pendimetaliny spowodowane są różnicami między ich właściwościami fizykochemicznymi. Głównym czynnikiem odpowiedzialnym za niższą szybkość uwalniania pendimetaliny są wspomniane znaczne różnice w rozpuszczalności w wodzie (metazachlor 450 mg/L; pendimetalina 0,33 mg/L). W wypadku uwalniania pendimetaliny proces uwalniania zależny jest praktycznie jedynie od tempa rozpadu nośnika polimerowego, ponieważ proces wymywania tego związku jest znikomy, zmiany morfologii powierzchni nośnika nie mają większego znaczenia. W konsekwencji uwalnianie tego związku jest znacznie powolniejsze w porównaniu do analogicznego procesu uwalniania metazachloru. Z tego powodu, gdy badane układy uwalniają ten trudno rozpuszczalny herbicyd do gleby, efekt związany z procesami erozji powierzchni jest niewidoczny, a uwalnianie herbicydu przebiega bardzo równomiernie przez cały czas trwania badania (**Rys. 4.2.2.2.3.**). Tygodniowe dawki uwolnionego herbicydu przez większość okresu badania były praktycznie stałe. Oczywiście w tym przypadku istotna jest jednak ciągle zwiększona hydrofilowość matrycy wywołana obecnością bloku PEG, która nie tylko pozwala na penetrację wody – przez to przyspiesza proces hydrolizy, ale także pozwala enzymom na wnikanie do wnętrza nośnika, powodując potęgowanie efektu degradacji hydrolitycznej. W przypadku, gdy otoczka polimerowa jest wykonana z hydrofobowego kopolimeru PLGA, proces uwalniania tego herbicydu w warunkach polowych był praktycznie niezauważalny, ponieważ postęp degradacji, jak i erozji kopolimeru w tym wypadku był wielokrotnie wolniejszy (**Rys. 4.2.2.2.4.**).



Rys. 4.2.2.2.1. Całkowite uwalnianie i tygodniowe dawki uwalniania **pendimetaliny (Pen)** z terpolimerów **w wodzie** w ciągu 12 tygodni. Rys. 1a, 2a i 3a pokazują całkowite uwalnianie herbicydu załadowanego w ilości 10 i 20% wagowych z mieszanin: LA/GL/10% PEG4600 i LA/GL/20% PEG4600 (1a); LA/GL/10% mPEG5000 i LA/GL/20% mPEG5000 (2a) oraz LA/GL/10% PEG10000 i LA/GL/20% PEG10000 (3a). Rys. 1b, 2b i 3b pokazują tygodniowe dawki herbicydu uwalnianego z tych samych terpolimerów



Rys. 4.2.2.2.2. Całkowite i tygodniowe dawki uwalniania **pendimetaliny (Pen)** z terpolimerów w glebie w ciągu 12 tygodni. Rys. 1a, 2a i 3a pokazują całkowite uwalnianie herbicydu załadowanego w ilości 10 i 20% wagowych z mieszanin: LA/GL/10% PEG4600, LA/GL/20%PEG4600 (1a), LA/GL/10%PEG5000 i LA/GL/20%PEG5000 (2a) oraz LA/GL/10%PEG10000 i LA/GL/20%PEG10000 (3a). Rys. 1b, 2b i 3b pokazują tygodniowe dawki herbicydu uwalnianego z tych samych terpolimerów

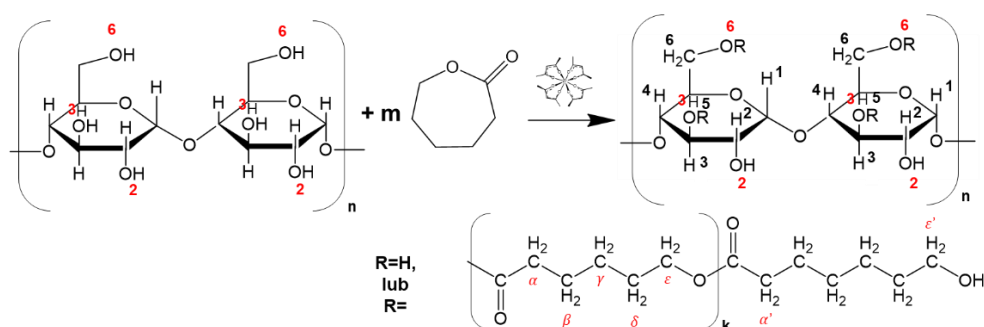


Rys. 4.2.2.2.3. Całkowite uwalnianie **pendimetaliny (Pen)** z dodatkiem 10 i 20% , z kopolimeru PLGA w wodzie (1a) i w glebie (2a) oraz tygodniowe dawki uwalniania w wodzie (1b) i w glebie (2b)

4.3. Szczepienie dekstryny i maltodekstryny z ϵ -kapolaktonem

W kolejnym etapie badań postanowiono w formowaniu matrycy wykorzystać łatwo dostępne i relatywnie tanie biodegradowalne polimery naturalne – oligosacharydy. Przyjęto najprostszy sposób wprowadzania ich do kompozycji tworzącej matrycę – poprzez zmieszanie z wcześniej wybranymi wykazującymi optymalne właściwości terpolimerami poli(L-laktyd-*ko*-glikolid)-*blok*-poli(tlenek etylenu) (PLGA-PEG-PLGA). W ten sposób możliwe jest obniżenie kosztów wytwarzania matrycy przy jednoczesnym zwiększeniu jej podatności na degradację wywołaną enzymami obecnymi w glebie. Założono, że powinno to również poprawić możliwość regulacji czasu degradacji i profilu uwalniania wybranych herbicydów. Wybranymi polimerami naturalnymi nie mogły być jednak oligosacharydy niemodyfikowane, ze względu na ich relatywnie dobrą rozpuszczalność w wodzie, jak i zbyt szybki proces degradacji w glebie. Polimery te nie są mieszalne z alifatycznymi poliestrami. Z tego powodu konieczne stało się przygotowanie mieszanin polimerowych wcześniej zbadanych terpolimerów z oligosacharydami odpowiednio modyfikowanymi. Aby uzyskać zadawalającą mieszalność, oraz poprawić kompatybilność tych dwóch typów polimerów wymagane było przeprowadzenie modyfikacji oligosacharydów poprzez naszczepianie łańcuchów polimerowych kompatybilnych z alifatycznymi poliestrami. Po wstępnych testach wybrano, jako oligosacharydy – dekstryny, które modyfikowano poprzez reakcję grup OH dekstryn z ϵ -kapolaktonem. Testowano również kopolimeryzację tych oligosacharydów z L-laktydem i cyklicznymi węglanami, lecz otrzymane wydajności i stopień podstawienia ich grup hydroksylowych nie były zachęcające do dalszych badań z ich zastosowaniem. Podczas reakcji szczepienia dekstryny lub maltodekstryny stosowano zróżnicowane nadmiarowe ilości kapolaktonu, w stosunku do ilości stechiometrycznej, oraz różne czasy reakcji (**Schemat 4.3.1.**, **Tab. 4.3.1.**). Jako skuteczny i nietoksyczny katalizator prowadzonej reakcji wybrano acetyloacetonian cyrkonu (IV). Wybrano ten związek, ponieważ jak wykazano wcześniej nie jest on specjalnie wrażliwy na jakiegokolwiek zanieczyszczenia lub ślady wody i ma skłonność do obojętności na działanie różnych chemikaliów w niskich temperaturach, co umożliwia prowadzenie polimeryzacji ROP monomerów bez konieczności ich specjalnego oczyszczania, nawet w obecności kwasów organicznych [262, 263]. Uzyskano produkty o różnym, dość wysokim stopniu podstawienia grup hydroksylowych łańcucha oligosacharydowego, a także o różnej zawartości kaproilu i długości szczepionych łańcuchów kaproilowych

(**Tab. 4.3.1.**) We wszystkich przeprowadzonych reakcjach szczepienia dekstryny i maltodekstryny uzyskano wysoką konwersję ϵ -kapolaktonu, powyżej 90%. Postęp reakcji, skład kopolimeru i stopień podstawienia mierzono z pomocą widm ^1H NMR (**Rys. 4.3.1.**) Uzyskane widma zsyntezowanych kopolimerów szczepionych PCL/dekstryny i PCL/maltodekstryny były bardzo zbliżone do wcześniej prezentowanych widm skrobi szczepionej z poli(ϵ -kapolaktonem) [264, 265] oraz dekstrynie szczepionej L-laktydem w regionach sygnałów grup przypisanych jednostkom dekstryny [266]. Ułatwiło to przypisanie otrzymanych sygnałów widma ^1H NMR (brak było doniesień literaturowych przedstawiających widma dekstryn szczepionych kapolaktonem). Po przeanalizowaniu literatury opisującej badania NMR oligosacharydów, szczepionych dekstryn i skrobi, a także uzyskanych wyników własnych, przypisano sygnały poszczególnym grupom i jednostkom tworzącym łańcuch, zasadniczo zgodnie z przyporządkowaniem prezentowanym w większości podobnych, wcześniej prowadzonych badań [267, 270]. Uzyskane widma NMR dekstryny-*graft*-PCL i maltodekstryny-*graft*-PCL z odpowiednim przypisaniem sygnałów przedstawiono na **Rys. 4.3.1.** Sygnały CH_2 jednostek kapolaktonowych są obecne w zakresie δ 1,2–4 ppm i sugerują, że nastąpiła oczekiwana polimeryzacja z otwarciem pierścienia ϵ -kapolaktonu (CL). Sygnały rezonansowe protonów dekstryny i maltodekstryny obserwuje się w postaci stosunkowo małych, szerokich pików w regionie δ 2,9–3,8 i 4,4–5,6 ppm. Przedstawione na zamieszczonych rysunkach oznakowanie H_1 – H_6 oznacza protony grup CH i CH_2 dekstryny, a symbole greckie wskazują protony w jednostce CL. Oczywiście jest, że piki H_2 , H_4 dekstryny obserwowano przy $\delta = 3,0$ – $3,2$ ppm, podczas gdy piki H_3 , H_5 i H_6 dekstryny przy $\delta = 3,4$ – $3,7$ ppm. Hydroksylowe protony dekstryny (OH_2 , OH_3 i OH_6) przypisano sygnałom przy $\delta = 4,3$ – $5,2$ ppm. Anomeryczny wodór H_1 prezentował sygnał przy $\delta = 5,3$ – $5,6$ ppm.

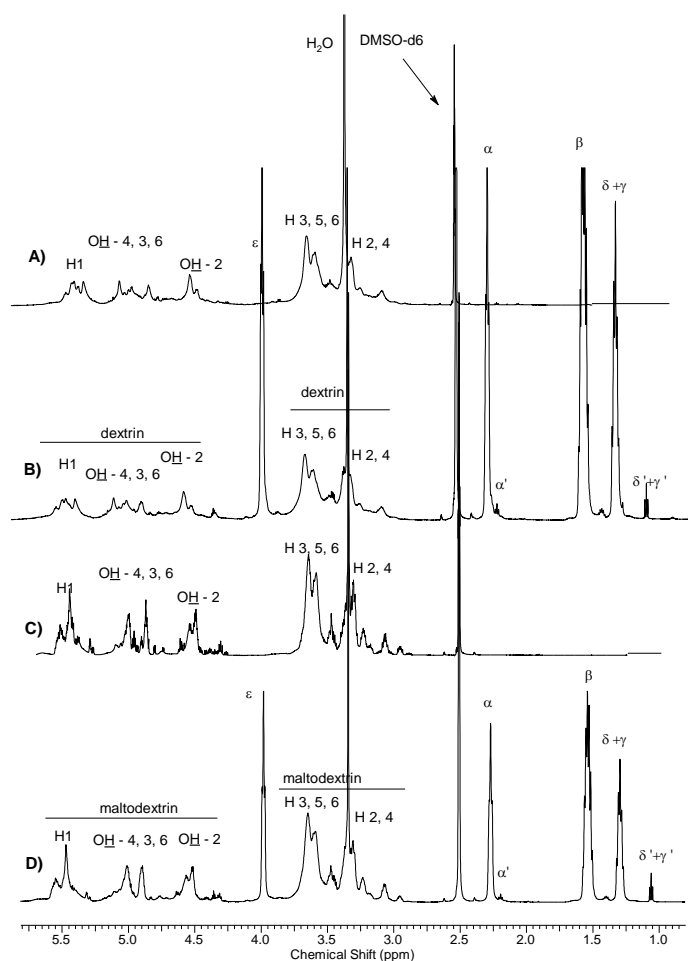


Schemat 4.3.1. Przebieg przeprowadzonej reakcji szczepienia dekstryn ϵ -kapolaktonem, oznaczenie grup zgodne z oznaczeniem odpowiadających sygnałów na widmach ^1H NMR

Analogicznie do wcześniej opisanej reakcji szczepienia dekstranu ϵ -kaprolaktonem [271] określono względny procentowy udział wagowy pierścienia glukopiranozyłowego w otrzymanych kopolimerach, korzystając z poniższego równania, będącego nieco zmodyfikowaną wersją równania zamieszczonego wcześniej dla szczepionego dekstranu [271]:

$$R_{dex} = \frac{162 I(H1)}{162 I(H1) + \frac{114}{2} I(\epsilon)} \times 100 \text{ wt. \%}$$

Gdzie; R_{dex} - procentowy stosunek wagowy dekstryny/CL, $I(H1)$ - wartości całek anomerycznego wodoru dekstryny, dobrze oddzielone od innych sygnałów protonowych (3,2–3,7 ppm) w widmie uzyskanym z ^1H NMR i $I(\epsilon)$ - wartości całek sygnału protonów polikaprolaktonu grupy ϵ CH_2



Rys. 4.3.1. Widma ^1H NMR: **A)** Dekstryny, **B)** dekstryny-*g*-PCL z zawartością dekstryny – 31% wag., **C)** maltodekstryny i **D)** maltodekstryny-*g*-PCL z zawartością maltodekstryny – 38% wag.

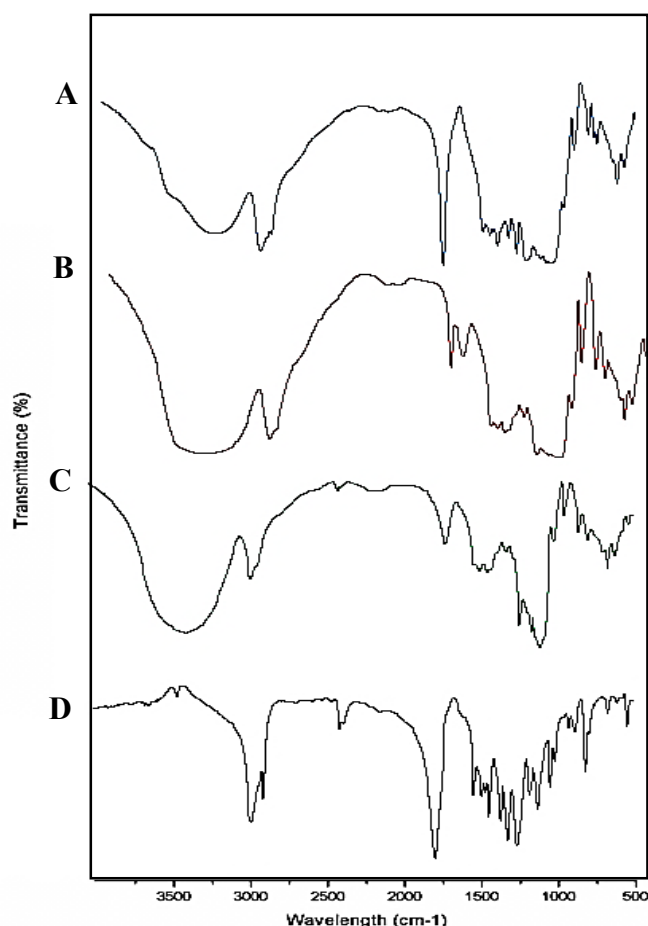
Tab. 4.3.1. Warunki reakcji szczepienia i charakterystyka końcowych kopolimerów

Lp.	Czas reakcji [h]	Stosunek wagowy Dekstryna/CL w mieszaninie reakcyjnej	Konwersja kaprolaktonu [% wag.]	Średnia długość łańcucha polikaprolaktonu [Jed. Cap]	Stosunek wagowy R _{dex} Dekstryna/PCL w kopolimerze [% wag.]
1	48	50:50	96	231	75
2	48	30:70	94	152	70
3	72	25:75	97	140	58
4	48	15:85	93	104	46
5	72	10:90	96	96	31
		Stosunek wagowy Maltodekstryna/CL w mieszaninie reakcyjnej			Stosunek wagowy R _{dex} Maltodekstryna/PCL w kopolimerze [% wag.]
6	48	30:70	97	96	38
7	48	25:75	96	97	23
8	48	15:85	96	98	26
9	72	10:90	97	94	20

Pogrubiona czcionka wskazuje kopolimery, które zostały wybrane jako składnik utworzonych mieszanin

Zawartość wagowa dekstryny w otrzymanych kopolimerach zawierała się między 75% a 32%, była zależna od wyjściowego składu mieszaniny reakcyjnej. Pomimo dużego stopnia przereagowania ϵ -kaprolaktonu, rzeczywista zawartość dekstryny w finalnym kopolimerze była zawsze większa o co najmniej 20% od startowej zawartości dekstryny w mieszaninie reakcyjnej. Wskazuje to, że znaczna część zastosowanego kaprolaktonu polimeryzowała tworząc niezwiązany z oligosacharydem homopolikaprolakton. Ten utworzony homopolimer usuwano z produktów reakcji przez ekstrakcję chlorkiem metylenu, a ewentualne pozostałości policukrów i niskopodstawionych produktów wmywano wodą. W czystym produkcie zaobserwowane sygnały NMR końcowych grup CH₂ łańcucha kaproilowego pozwalają oszacować średnią ich długość. Zaskakujące było to, że średnia długość bloku kaproilu była nieco mniejsza dla kopolimerów z maltodekstryną (**Tab. 4.3.1., próbki 6–9**) niż dla kopolimerów dekstryny (**Tab. 4.3.1., próbki 1–3**), chociaż zawartość segmentów kaproilowych była w kopolimerach maltodekstryny większa. Stopień przyłączenia łańcuchów kaproilowych do jednostek sacharydowych jest w tym wypadku znacznie większy, co wskazuje, że reakcja grup hydroksylowych maltodekstryny była bardziej wydajna niż reakcja z dekstryną. Przyczyna tego zjawiska była związana z przebiegiem samej reakcji kopolimeryzacji. W reakcji prowadzonej w stopie, maltodekstryna ulegała w dużym stopniu rozpuszczeniu w kaprolaktonie. W wypadku kopolimeryzacji kaprolaktonu z relatywnie dużą ilością

dekstryny, w warunkach reakcji znaczna część stosowanych oligosacharydów nie ulegała rozpuszczeniu podczas całego procesu. Reakcja zachodziła więc w tym przypadku głównie na granicy faz zawiesiny reakcyjnej, a wzrost tych łańcuchów przebiegał głównie na pierwszorzędowej grupie OH jednostek sacharydowych. W ten sposób uzyskano stosunkowo długie łańcuchy zaszczipionego polikaprolaktonu. Wraz ze wzrostem ilości ϵ -kapolaktonu w mieszaninie reakcyjnej liczba szczepionych jednostek kaproilu rosła tylko nieznacznie, ale wyznaczona średnia długość bloku kaproilu znacznie się zmniejszała. Wskazuje to, że w tych warunkach, wraz z wzrostem szczepionych jednostek kaproilowych rośnie liczba podstawianych grup hydroksylowych pierścieni glukopiranozylowych w kopolimerze, a tym samym ilość szczepionych łańcuchów PCL. Widma FTIR otrzymanego kopolimeru dekstryny-g-PCL, dekstryny i polikaprolaktonu PCL pokazano na **Rys. 4.3.2.** Widmo IR dekstryny opisano szczegółowo wcześniej [267, 272]. Główną różnicą między widmem kopolimeru dekstryna-g-PCL (**Rys. 4.3.2., A**) a widmem niemodyfikowanej dekstryny (**Rys. 4.3.2., C**) jest obecność sygnału przy około 1750 cm^{-1} - grupy estrowej związanej z obecnością łańcucha PCL. Ten sygnał jest typowy dla widm poli(ϵ -kapolaktonu) (**Rys. 4.3.2., D**, około 1760 cm^{-1}). W widmach IR kopolimerów szczepionych, również tych o dużej zawartości dekstryn intensywność sygnału pochodzącego od hydroksylowych grup dekstryny (3400 cm^{-1}) w porównaniu do niemodyfikowanej uległa zmniejszeniu (**Rys. 4.3.2., B**). Badanie FTIR potwierdza zatem również, że dekstryna w prowadzonej reakcji pełniła z sukcesem rolę makroinicjatora polimeryzacji ϵ -kapolaktonu. Wzrost łańcuchów kaproilowych przebiegał na grupach OH oligosacharydów w wyniku czego otrzymywano kopolimery szczepione.

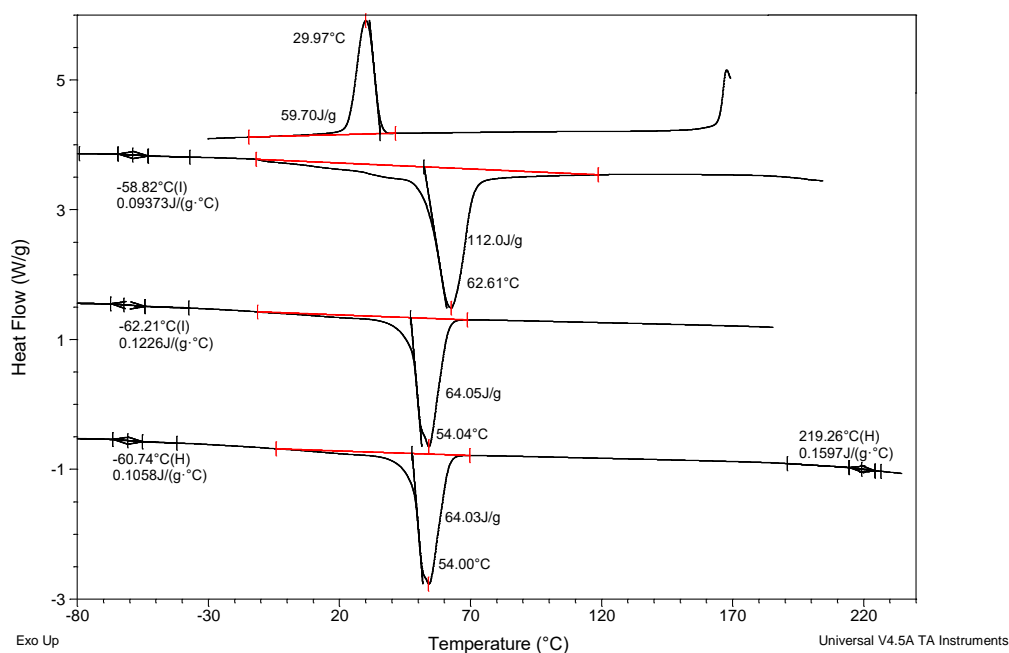


Rys. 4.3.2. Widma FTIR homopolimerów i kopolimeru szczepionego; **A)** - dekstryna-g-PCL (zawartość dekstryny -31% wag.); **B)**-dekstryna-g-PCL (zawartość dekstryny - 70% wag.); **C)**- dekstryna natywna; **D)**- homopolimer PCL

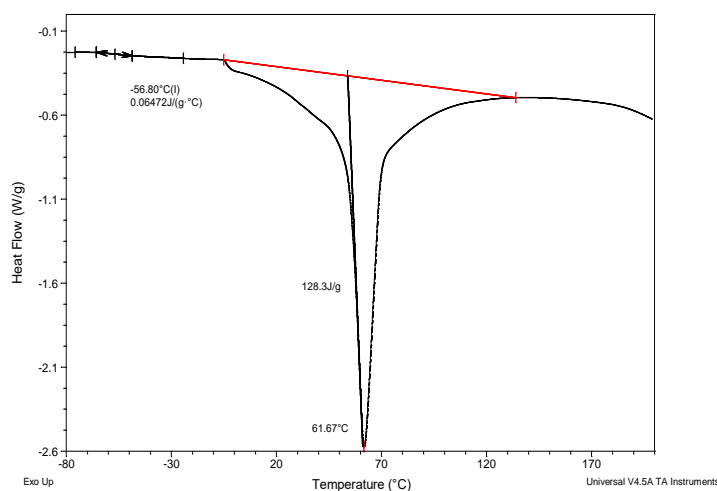
Analizę termiczną kopolimerów dekstryna-g-PCL przeprowadzono metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej. Wybrane reprezentatywne termogramy pokazano na **Rys. 4.3.3.** i **4.3.4.** Homopolimer ϵ -kapolaktonu charakteryzuje się temperaturę topnienia T_m fazy krystalicznej około 72°C , podczas gdy endoterma topnienia T_m kopolimeru dekstryna-g-PCL występuje przy temperaturach niższych i mieści się w dość szerokim zakresie $59 - 64^\circ\text{C}$. Przyczyną tego zjawiska jest najprawdopodobniej różna długość łańcuchów PCL (różna masa molowa) zaszczipionych na dekstrynie, co wiąże się z możliwością tworzenia domen krystalicznych o różnym stopniu uporządkowania i wielkości [273]. Ciepło topnienia zależy od proporcji jednostki kaproilowe/dekstryna i rośnie, co oczywiste, wraz z jej wzrostem. Na termogramach syntezowanych kopolimerów oznaczona temperatura zeszklenia związana jest z obecnością łańcuchów kaproilowych i jest ona bardzo podobna (od -58°C do -62°C) do temperatury zeszklenia homopolimeru ϵ -kapolaktonu (około -61°C). Na termogramach

otrzymanych kopolimerów szczepionych nie zaobserwowano temperatury zeszklenia związanej z obecnością łańcucha dekstryn.

O skuteczności prowadzonej kopolimeryzacji świadczy również zmiana własności otrzymanego produktu w porównaniu do wyjściowej dekstryny czy maltodekstryny. Otrzymane kopolimery, w odróżnieniu do wyjściowych niemodyfikowanych dekstryn były praktycznie nierozpuszczalne w wodzie i wykazywały silne pęcznienie w chloroformie, a część z nich ulegała nawet całkowitemu rozpuszczeniu w tym związku.



Rys. 4.3.3. Termogramy DSC szczepionego kopolimeru dekstryna-g-PCL



Rys. 4.3.4. Termogramy DSC szczepionego kopolimeru maltodekstryna-g-PCL

4.3.1. Właściwości mieszanin PLGA-PEG-PLGA/dekstryna-g-PCL i PLGA-PEG-PLGA/maltodekstryna-g-PCL

Przeprowadzone i opisane wcześniej badania pozwoliły na wykonanie serii biodegradowalnych mieszanin polimerowych, przeznaczonych do formowania matryc uwalniających herbicydy. Przygotowano serię mieszanin zawierających jako składniki; kopolimery szczepione dekstryny i maltodekstryny z poli(ϵ -kaprolaktonem) o różnym stopniu podstawienia (wybrano kopolimery dekstryny o $R_{dex} = 70\%$ wag. i 31% wag. i maltodekstryny o $R_{dex} = 38\%$ wag. i 20% wag.) i terpolimer L-laktydu/glikolidu/glikolu polietylenowego. Mieszanki otrzymano przez rozpuszczanie szczepionej dekstryny, oraz terpolimeru PLGA-PEG-PLGA w chloroformie przy różnym stosunku mas składników, odpowiednio jak; 70 : 30, 50:50 i 30:70. W przypadkach trudności z całkowitym rozpuszczeniem dodawano do roztworu małe ilości (około 5 – 10% obj.) DMSO. Po całkowitym wolnym odparowaniu rozpuszczalnika otrzymywano folie polimerowe. Folie z mieszaniny zawierające ponad 50% wag. modyfikowanej dekstryny były bardzo kruche i wykazywały zbyt słabe właściwości mechaniczne, aby móc znaleźć dalsze zastosowanie. Właściwości pozostałych mieszanin porównano z właściwościami analogicznej mieszaniny formowanej z udziałem niemodyfikowanej dekstryny lub maltodekstryny. Skład otrzymanych mieszanin i podstawowe ich charakterystykę przedstawiono w **Tab. 4.3.1.1.**

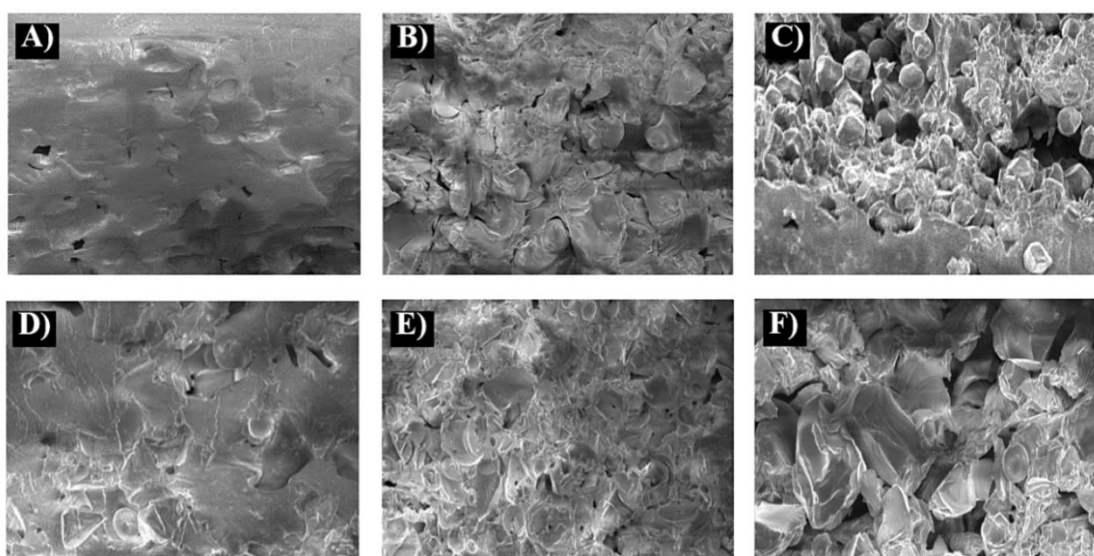
Tab. 4.3.1.1. Skład i właściwości termiczne mieszanin polimerów zastosowanych w badaniu

Lp.	Skład mieszanin	Stosunek wagowy składników mieszanin	Stosunek masowy LA: GL: PEG: DEX: CAP [Jed.]	T _g [°C]	T _m [°C]	ΔH [J/g]
0	LA/GA/PEG	100	78:12:10:0:0	37	82; 125	3; 19
1D	(LA/GA/PEG) + (D-g-PCL; R _{dex} =70 wt.%)	70:30	55:8:7:21:9	15	78; 123	7; 12
2D	(LA/GA/PEG) + (D-g-PCL; R _{dex} =70 wt.%)	50:50	40:5:5:36:13	18	80; 125	3; 8
10D	(LA/GA/PEG) + (D-g-PCL; R _{dex} =31 wt.%)	70:30	55:8:7:9:21	22	81; 128	3; 6
11D	(LA/GA/PEG) + (D-g-PCL; R _{dex} =31 wt.%)	50:50	40:5:5:15:35	21	81; 126	2; 9
OD1	(LA/GA/PEG) + D.NIEMODYFIKOWANA	70:30	55:8:7:30:0	21	130	1
OD2	(LA/GA/PEG) + D. NIEMODYFIKOWANA	50:50	40:5:5:50:0	20	127	1
1M	(LA/GA/PEG) + (M-g-PCL; R _{dex} = 38 wt.%)	70:30	55:8:7:11:19	21	81; 125	6; 19
2M	(LA/GA/PEG) + (M-g-PCL; R _{dex} = 38 wt.%)	50:50	40:6:5:19:30	20	80; 122-130	4; 11
11M	(LA/GA/PEG) + (M-g-PCL; R _{dex} = 20 wt.%)	50:50	40:6:5:10:39	24	80; 124-131	4; 11
OM1	(LA/GA/PEG) + M.NIEMODYFIKOWANA	70:30	55:8:7:30:0	25	127-132	7
OM2	(LA/GA/PEG)+ M. NIEMODYFIKOWANA	50:50	40:6:4:50:0	25	125-132	7

Gdzie: T_g - zeszklenie, T_m - temperatura topnienia fazy krystalicznej, ΔH - endoterma topnienia fazy krystalicznej, stosunek wagowy jednostek monomerów w mieszaninach obliczono teoretycznie na podstawie stosunku wagowego zastosowanych składników, skład formowanej mieszaniny określono na podstawie analizy widm ¹H NMR.

Rys. 4.3.1.1. przedstawia reprezentatywne obrazy morfologii przełomu folii formowanych z otrzymanych mieszanin polimerowych, uzyskane podczas obserwacji skaningowym mikroskopem elektronowym (SEM). Zaobserwowano, że w wypadku gdy zastosowano kompozycję 11D zawierającą 50% wagowych szczepionego dekstryny-polikaprolaktonu z R_{dex} = 70%, próbka utworzonej mieszaniny była praktycznie jednorodna (**Rys. 4.3.1.1., A**). W przypadku mieszanin zawierających dekstrynę zmodyfikowaną większą ilością polikaprolaktonu (R_{dex} = 31%) powstała niekompatybilność faz, objawiająca się obecnością znacznych luk pomiędzy matrycą PLGA-PEG-PLGA, a zmodyfikowanymi ziarnami dekstryny (**Rys. 4.3.1.1., B**). Zjawisko to świadczy o ograniczonej mieszalności obu komponentów. Jego przyczyną są prawdopodobnie różnice w ilości jednostek kaproilowych w szczepionej dekstrynie, powodujące podobne problemy jakie występują podczas formowania mieszanin polilaktydu i polikaprolaktonu. W wypadku kompozycji utworzonej z niemodyfikowanej dekstryny i poliestroeteru uzyskano mieszaninę składników niekompatybilnych i praktycznie niemieszających się, o czym świadczy duża jego niejednorodność

z wyraźnie widoczną dwufazową strukturą zawierającą kuliste cząstki dekstryny (**Rys. 4.3.1.1, C**). Mieszaniny otrzymane w kompozycjach ze zmodyfikowaną maltodekstryną, nawet o wysokiej zawartości szczepionego polikaprolaktonu ($R_{dex} = 20\%$ wag.) są natomiast jednorodne (**Rys. 4.3.1.1, D i E**). W wypadku kompozytu, formowanego z udziałem niemodyfikowanej maltodekstryny i alifatycznego poliestroeteru, sacharyd tworzy odrębną typową fazę [273], składającą się z pojedynczych odrębnych cząstek o różnych rozmiarach i kształtach (**Rys. 4.3.1.1, F**). Brak odpowiedniej modyfikacji dekstryny lub maltodekstryny powoduje brak kompatybilności i mieszalności tych składników.



Rys. 4.3.1.1. Obrazy SEM próbek folii (przełom) wykonanej z mieszanin, powiększenie x 800, **A**) próbka 2D (LA/GA/PEG + D-g-PCL50:50; $R_{dex} = 70\%$ wag.); **B**) próbka 11D (LA/GA/PEG + (D-g-PCL); 50:50 $R_{dex} = 31\%$ wag.); **C**) próbka OD2 (LA/GA/PEG + D. niemodyfikowana) 50:50; **D**) próbka 2M (LA/GA/PEG + M-g-PCL; $R_{dex} = 38\%$ wag.) 50:50, **E**) próbka 11M (LA/GA/PEG + M-g-PCL; $R_{dex} = 20\%$ wag.) 50:50 i **F**) próbka OM2 (LA/GA/PEG + M. niemodyfikowana) 50:50.

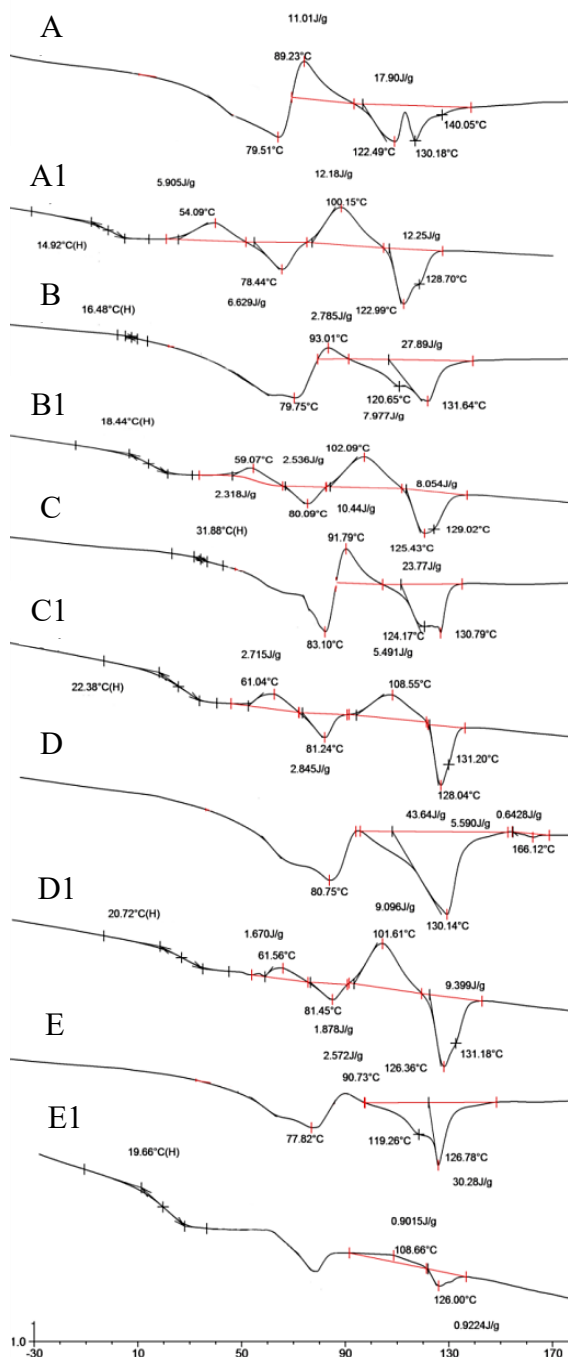
Uzyskane termogramy DSC formowanych mieszanin (**Rys. 4.3.1.2.**) były zasadniczo podobne do termogramów terpolimerów PLGA-PEG-PLGA. Wykazują one jedynie nieco niższą temperaturę zeszklenia, która zależy od składu i wynosi od 15°C do 22°C dla mieszanin szczepionej dekstryny i od 20°C do 24°C dla zawierających szczepioną maltodekstrynę.

Ze względu na obecność ciepła topnienia faz krystalicznych i silnej entalpii relaksacji, dość trudno jest zaobserwować i omówić efekty termiczne przebiegające w temperaturach powyżej 40°C , gdzie teoretycznie powinna być obserwowana temperatura zeszklenia modyfikowanej dekstryny. Pomimo dodatkowych zabiegów cieplnych, zmian szybkości grzania, na otrzymywanych termogramach DSC nie

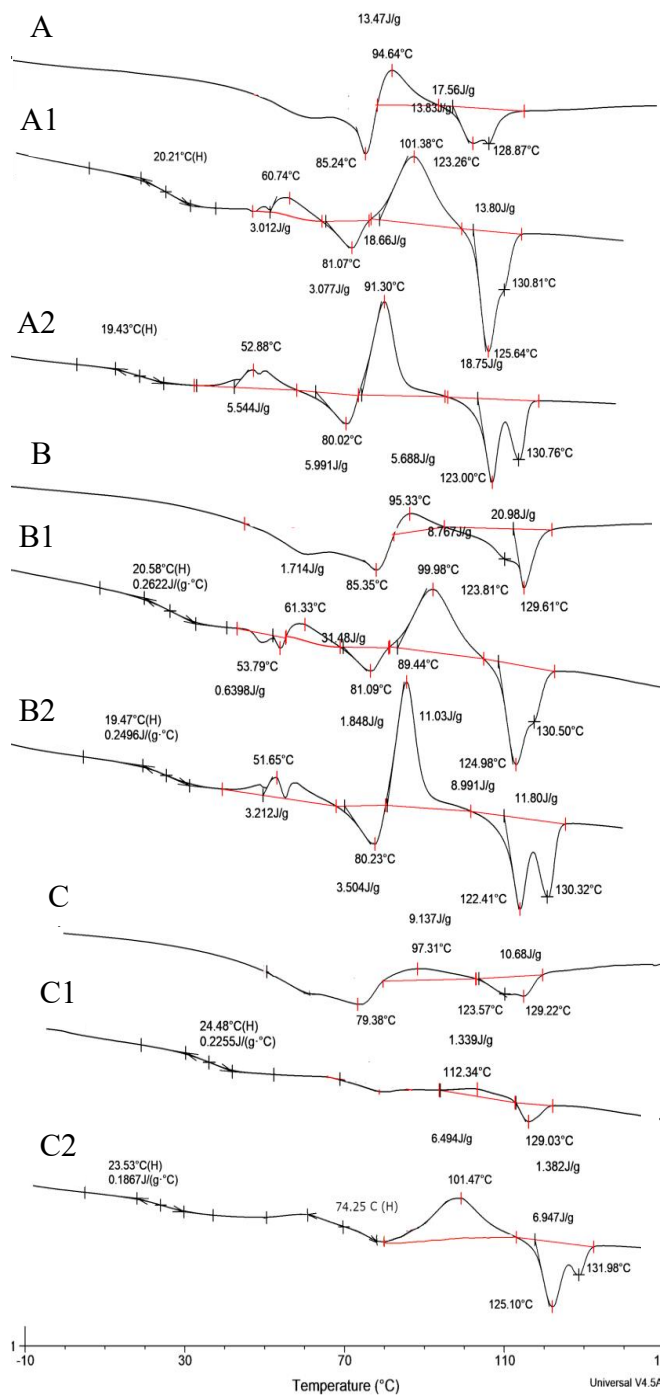
uzyskano wyraźnych sygnałów związanych z obecnością fazy krystalicznej zastosowanych oligosacharydów (**Rys. 4.3.1.3.**). Zaobserwowano tylko jedną temperaturę zeszklenia dla wszystkich mieszanin. Zjawisko to wydaje się potwierdzać wcześniejsze wnioski dotyczące ich mieszalności, należy jednak pamiętać, że temperatury zeszklenia dekstryny i maltodekstryny są często bardzo trudne do zaobserwowania. Na wszystkich termogramach występowały endotermie, które przypisano jako efekt tworzenia semikrystalicznych domen bloków laktydylowych kopolimeru PLGA-PEG-PLGA. Faza ta ulegała stopieniu w temperaturach w zakresie od 122°C do 133°C. Ze względu na jednoczesną obecność wspomnianej wcześniej silnej endotermie związanej ze zjawiskiem relaksacji, na podstawie uzyskanego termogramu DSC pierwszego przebiegu nie było możliwe określenie temperatury topnienia mogących istnieć ewentualnych domen uporządkowanych bloków kaproilu lub PEG. Termogramy uzyskane po amorfizacji próbek przed badaniem (II przebieg DSC) wykazały obok entalpii krystalizacji i topnienia uporządkowanych mikrobloków laktydylowych, obecność niewielkiej egzotermie krystalizacji (w temperaturze około 60°C) i odpowiadającej jej endotermie topnienia w temperaturze około 80°C (3 – 6 kJ/g). Te zaobserwowane efekty cieplne najprawdopodobniej związane są z obecnością uporządkowanych domen zbudowanych z jednostek kaproilowych zaszczipionych na dekstrynie. Jednak ze względu na dużą szerokość i kształt tego sygnału nie można wykluczyć udziału w nim również wpływu domen pochodzących z uporządkowania bloków PEG. W praktyce egzoterma dla terpolimerów PLGA-PEG-PLGA występuje w tym samym zakresie temperatur 70 – 85°C. Termogramy mieszanin z niemodyfikowaną dekstryną pokazują tylko jedną strefę krystalizacji i topnienia przypisaną do bloków laktydylowych. Aby wyjaśnić źródło pojawiających się endoterm w mieszaninach zawierających szczepioną maltodekstrynę, przeprowadzono dodatkowe pomiary DSC w warunkach przejścia III. Pomiar ten prowadzono przy stosunkowo niskiej prędkości ogrzewania 10°C/min na wcześniej rekrytalizowanych próbkach. Otrzymane termogramy pokazano na **Rys. 4.3.1.3.**

Rzeczywiście, wszystkie termogramy przedstawionych mieszanin zawierających szczepioną maltodekstrynę wykazują istnienie zjawiska krystalizacji i topnienia domen, które odpowiadają istnieniu uporządkowanej fazy PEG i kaproilu (dwa sygnały egzotermie krystalizacji w temperaturze około 52 – 55°C i endotermie topnienia w temperaturze około 80°C), a także bloków laktydylowych (endotermie silnej krystalizacji w zakresie 90 – 100°C i egzotermie topnienia w zakresie temperatur od

122°C do 132°C). Mieszanki zawierające niemodyfikowaną maltodekstrynę wykazują tylko obecność jednej fazy krystalicznej przypisanej do uporządkowanej domenie mikrobloków laktydylowych. Podsumowując, wyniki DSC potwierdziły wcześniejsze wnioski uzyskane z obserwacji morfologii formowanych mieszanin (na podstawie zdjęć SEM).



Rys. 4.3.1.2. Termogramy DSC mieszanin PLGA-PEG-PLGA/dekstryna-g-CL, **A**) 1D przebieg I, **A1**) 1D przebieg II, **B**) 2D przebieg I, **B1**) 2D przebieg II, **C**) 10D przebieg I, **C1**) 10D przebieg II, **D**) 11D przebieg I, **D1**) 11D przebieg II, **E**) OD2 przebieg I, **E1**) OD2 przebieg II.

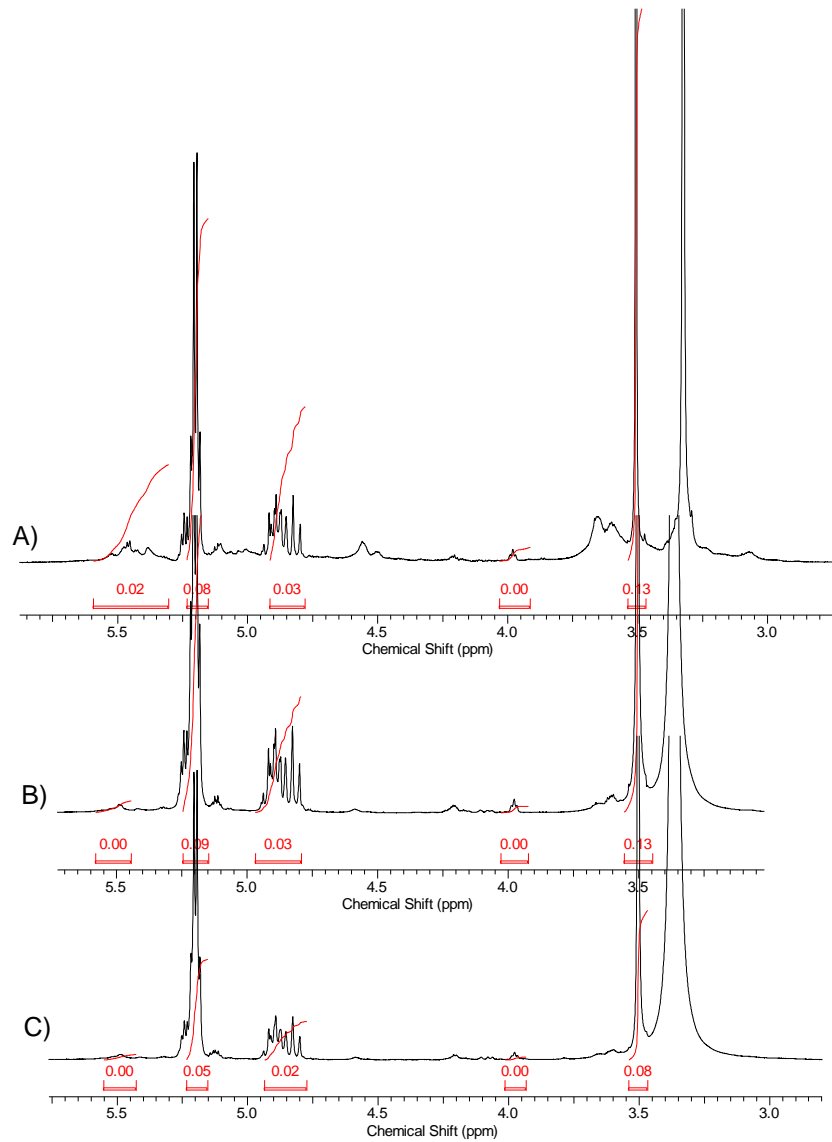


Rys. 4.3.1.3. Termogramy DSC mieszanin PLGA-PEG-PLGA/maltodekstryna-g-CL, **A)** 1M przebieg I, **A1)** 1M przebieg II, **A2)** 1M przebieg III, **B)** 2M przebieg I, **B1)** 2M przebieg II, **B2)** 2 M przebieg III, **C)** OM2 przebieg I, **C1)** OM2 przebieg II, **C2)** OM2 przebieg III

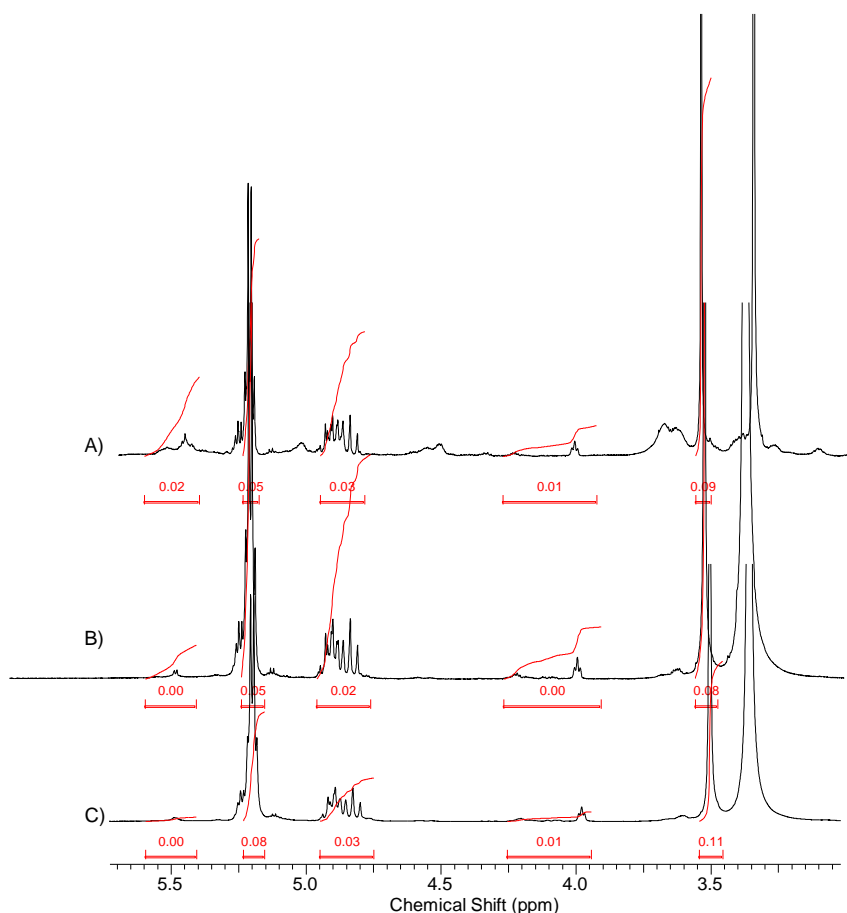
4.3.2. Degradacja mieszanin polimerowych

Na podstawie analizy widm $^1\text{H NMR}$ (**Rys. 4.3.2.1. i 4.3.2.2.**), intensywności sygnałów związanych z grupami CH jednostek laktydylowych (5,2 ppm), CH_2 glikolidylowych (4,75 – 4,95 ppm), $\text{CH}_2\text{-O-}$ kaproilowych (3,9 – 4,25 ppm), grupy CH_2 łańcucha PEG (3,5 ppm) i protonów grup anomerycznych sacharydu (5,4 – 5,6 ppm), oszacowano skład wyjściowej mieszaniny i zmiany jej składu zachodzące podczas degradacji w glebie. Zmiany składu próbki mieszaniny polimerowej podczas obserwowanej degradacji były silnie skorelowane ze spadkami masy. Stwierdzono, że w ciągu pierwszych 2 tygodni badań degradacji ulegała głównie szczepiona dekstryna lub maltodekstryna. Szybka utrata masy próbek w początkowej fazie procesu degradacji wynikała z uwolnienia produktów degradacji tych właśnie związków. Stąd najwyższy ubytek masy odnotowano dla mieszanin zawierających 50% wag. dekstryny (próbki 2D i 11D) lub maltodekstryny (2M i 11M).

W następnych tygodniach inkubacji próbek w glebie zaobserwowano już tylko kilku procentową utratę masy szczepionej dekstryny i maltodekstryny w mieszance. Wraz ze spadkiem ilości dekstryn zaobserwowano również spadek sekwencji kaproilowych naszczepionych na oligosacharydach, lecz w trakcie tego procesu zawartość kaproilu w próbkach rosła. W przypadku mieszaniny 2D początkowy stosunek masowy dekstryny do kaproilu wynosił około 3,9, a po 6 tygodniach i 12 tygodniach odpowiednio 0,82 i 0,75. Podobne zjawisko stwierdzono dla wszystkich mieszanin zawierających szczepione łańcuchy boczne dekstryny i łańcuch kaproilu o stosunkowo dużej średniej długości (100 – 150 jednostek). Nieznaczną różnicę w charakterystyce degradacji zaobserwowano dla mieszanin ze szczepioną maltodekstryną. Na przykład, początkowy stosunek wagowy maltodekstryny do kaproilu mieszaniny 2M wynosił 0,75, odpowiednio 0,6 i 0,43, po 6 tygodniach i 12 tygodniach. Zaobserwowane zjawisko najprawdopodobniej związane jest z tym, że w trakcie degradacji wypłukiwaniu z matrycy ulegały zasadniczo fragmenty oligosacharydów o małej masie zawierające niewielką liczbę łańcuchów kaproilowych, a te zapewne ulegały również równoległemu procesowi odszczepiania od łańcuchów polocukrowych i kumulacji w próbce. Trzeba jednak zauważyć, że po 6 tygodniach inkubacji wszystkie badane mieszanki, niezależnie do składu wyjściowego, uzyskiwały zasadniczo bardzo podobną kompozycję, dlatego późniejsze etapy degradacji były podobne dla wszystkich badanych próbek (**Rys. 4.3.2.3.**).



Rys. 4.3.2.1. Widma ^1H NMR mieszanin 1D (DMSO D_6); **A)** przed degradacją, **B)** po 6 tygodniach inkubacji w glebie, **C)** po 12 tygodniach inkubacji w glebie



Rys. 4.3.2.2. Widma ^1H NMR 1M mieszaniny (DMSO D6); **A)** przed degradacją, **B)** po 6 tygodniach inkubacji w glebie, **C)** po 12 tygodniach inkubacji w glebie

Zawartość (% wag.) Jednostek dekstryny, laktydylu, glikolidylu, kaproilu i PEG w mieszanke obliczono zgodnie z równaniami S1, S2, S3, S4 i S5.

$$C_{\text{dex}}(\text{wt.}\%) = \frac{162 \times I(H1)}{162x I(H1) + \frac{114}{2} x I(\epsilon) + 144 x I(La) + \frac{116}{2} x I(Gl) + \frac{4200}{95.5 \times 4} x I(CH_2)} \times 100 \quad (\text{S1})$$

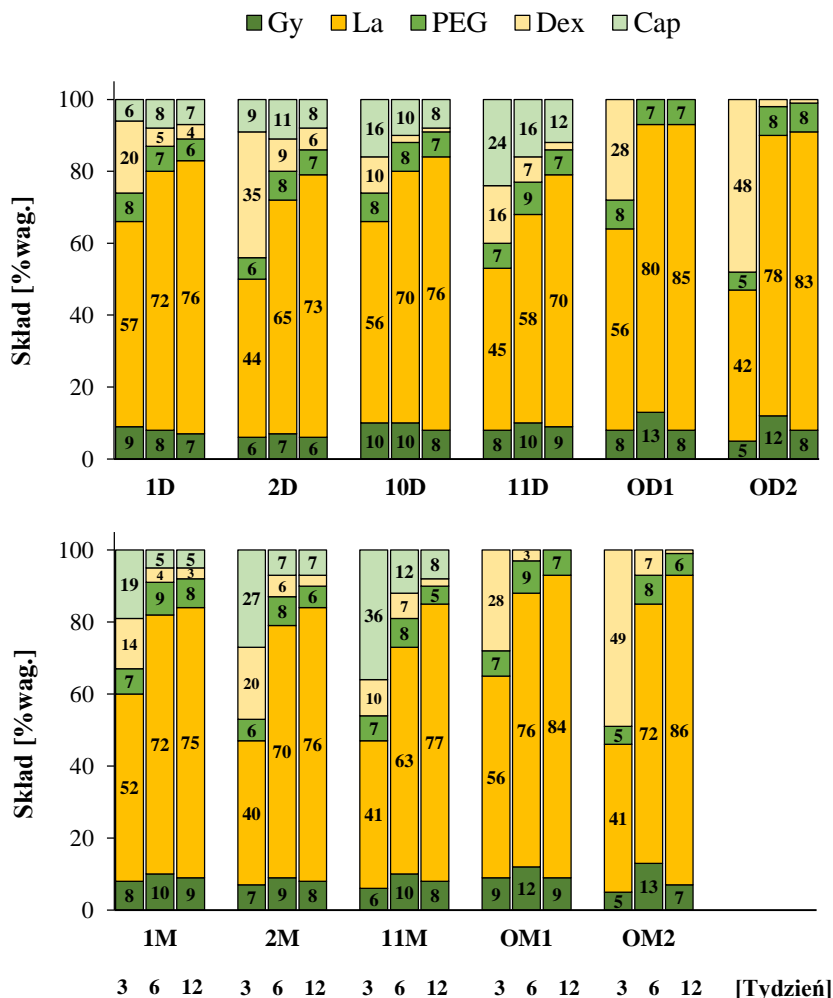
$$C_{\text{Cap}}(\text{wt.}\%) = \frac{\frac{114}{2} x I(\epsilon)}{162x I(H1) + \frac{114}{2} x I(\epsilon) + 144 x I(La) + \frac{116}{2} x I(Gl) + \frac{4200}{95.5 \times 4} x I(CH_2)} \times 100 \quad (\text{S2})$$

$$C_{\text{LA}}(\text{wt.}\%) = \frac{144 x I(La)}{162x I(H1) + \frac{114}{2} x I(\epsilon) + 144 x I(La) + \frac{116}{2} x I(Gl) + \frac{4200}{95.5 \times 4} x I(CH_2)} \times 100 \quad (\text{S3})$$

$$C_{\text{GL}}(\text{wt.}\%) = \frac{\frac{116}{2} x I(Gl)}{162x I(H1) + \frac{114}{2} x I(\epsilon) + 144 x I(La) + \frac{116}{2} x I(Gl) + \frac{4200}{95.5 \times 4} x I(CH_2)} \times 100 \quad (\text{S4})$$

$$C_{\text{PEG}}(\text{wt.}\%) = \frac{\frac{4200}{95.5 \times 4} \times I(\text{CH}_2)}{162 \times I(\text{H1}) + \frac{114}{2} \times I(\epsilon) + 144 \times I(\text{La}) + \frac{116}{2} \times I(\text{Gl}) + \frac{4200}{95.5 \times 4} \times I(\text{CH}_2)} \times 100 \quad (\text{S5})$$

Gdzie: C_{dex} , Cap, LA, GL, PEG - procentowy stosunek wagowy jednostek dekstryny, kaproilu, laktydylu, glikolidylu lub glikolu polietylenowego, $I(\text{H}_1)$ - wartości całek protonów anomerycznych grup dekstryny, $I(\epsilon)$ - wartości całki kapronu ϵ grupy CH_2 , $I(\text{LA})$ - wartości całek grup laktydylowych CH , $I(\text{GL})$ - wartość całek grup glikolidylowych CH_2 , $I(\text{CH}_2)$ - wartość całek grup CH_2 grup PEG

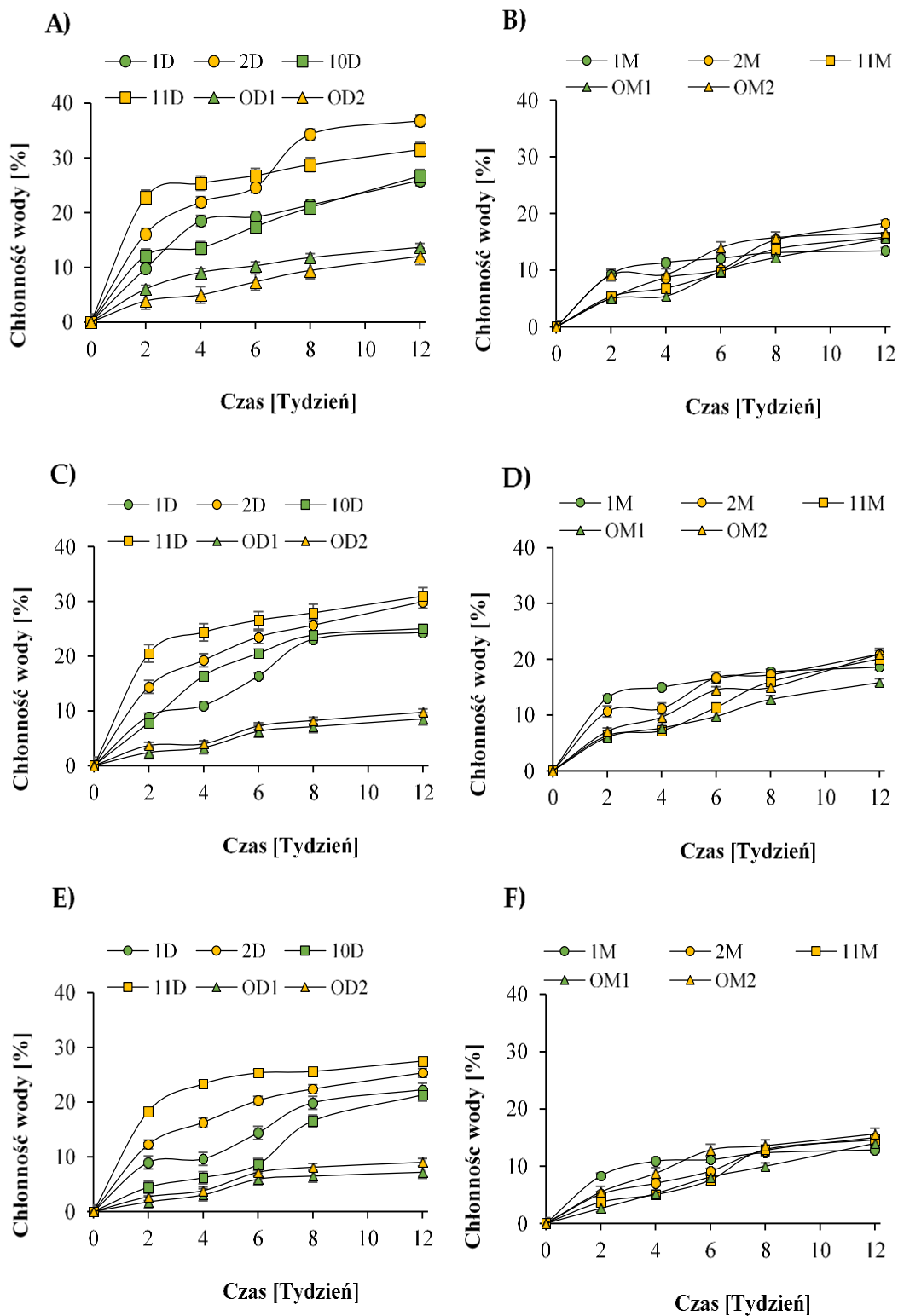


Rys. 4.3.2.3. Zmiany składu mieszanin podczas procesu degradacji przeprowadzonego w glebie (% wag) (Oszacowane na podstawie pomiaru ^1H NMR).

Folie wykonane z mieszanin zawierających niemodyfikowaną dekstrynę w dużych ilościach sięgających 50% wag. po 6 tygodniach degradacji w glebie praktycznie nie zawierały tego oligosacharydu w swoim składzie.

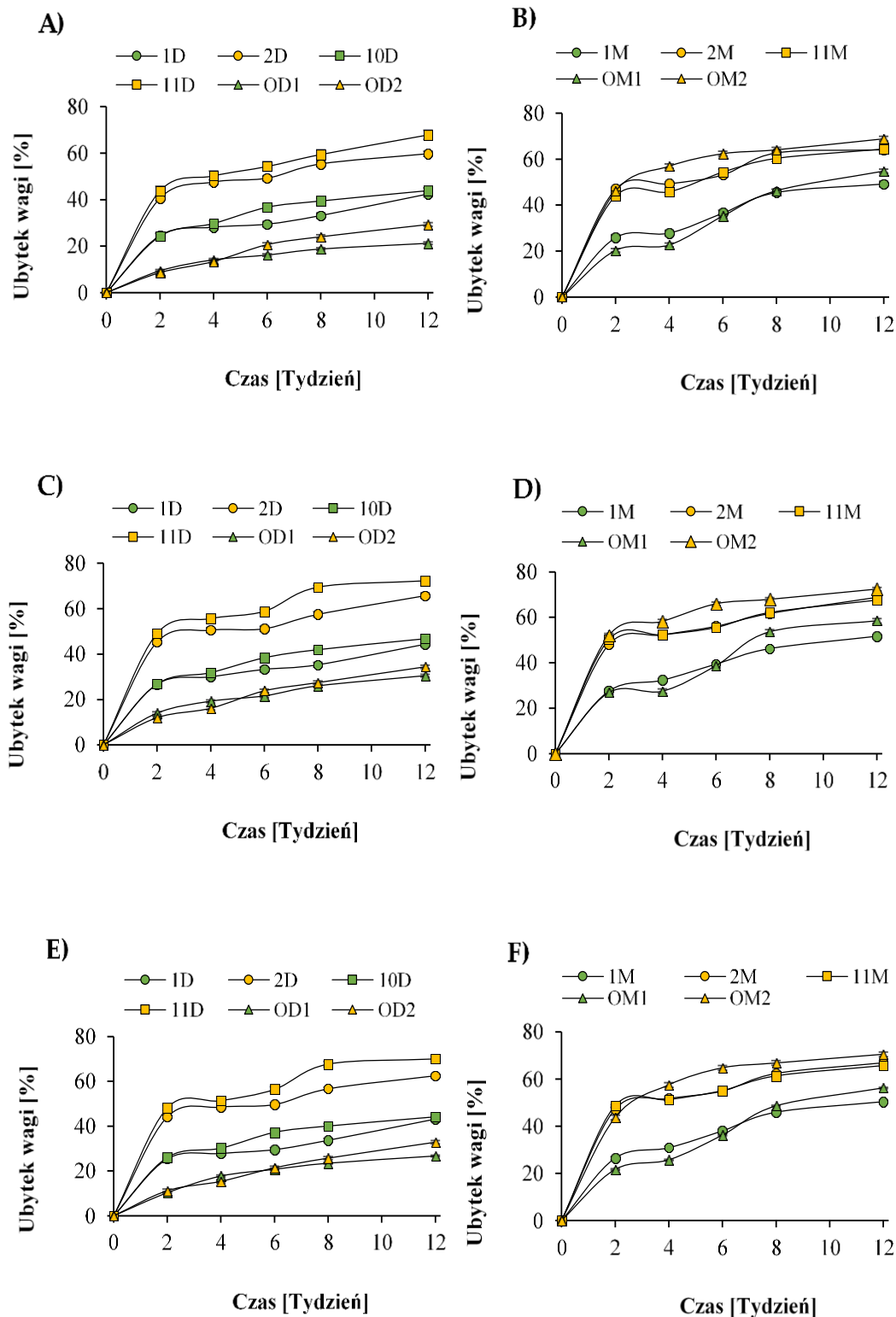
Jak można było przewidzieć, ilość zabsorbowanej wody była zasadniczo związana ze środowiskiem degradacji (**Rys. 4.3.2.4.**). Próbkę zanurzone w wodzie w miarę postępu degradacji i erozji powierzchni charakteryzowały się stopniowym wzrostem zawartości wody. Najwyższą zawartość wody (około 37% wagowych)

uzyskano w próbkach filmów utworzonych z mieszanin 2D zawierających szczepioną dekstrynę w najwyższej ilości. Najniższą chłonność stwierdzono w próbkach zawierających niemodyfikowane dekstryny, oraz o najniższej zwilżalności wykonanych z mieszanin o najwyższej zawartości terpolimeru. Podobne wyniki uzyskano dla filmów utworzonych z mieszanin (PLGA-PEG-PLGA/maltodekstryna-g-CL); jednak chłonność wody była w tym wypadku znacznie niższa (około 10%). Zaobserwowana zmniejszona absorpcja wody przez te mieszaniny jest zapewne związana z wyższą zawartością hydrofobowych jednostek kaproilowych.

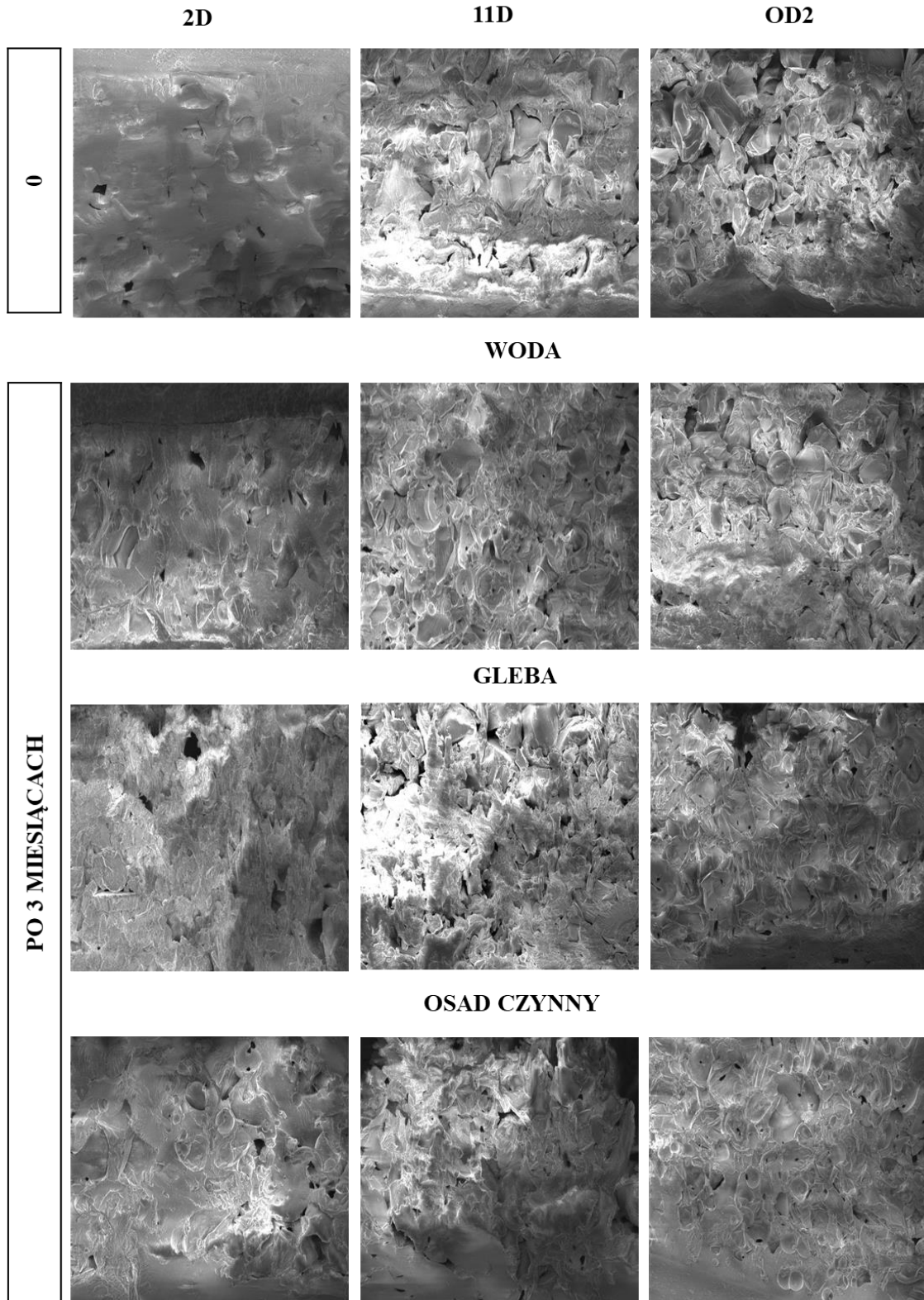


Rys. 4.3.2.4. Chłonność wody przez próbki 1D; 2D; 10D; 11D; OD1; OD2 tj. mieszanin LA/GA/PEG + dekstryna-g-PCL oraz przez próbki 1M; 2M; 11M; OM1; OM2 tj. mieszanin LA/GA/PEG + maltodekstryna-g-PCL w wodzie A) i B), w glebie C) i D) oraz w osadzie czynnym E) i F)

Rys. 4.3.2.5. przedstawia utratę masy badanych próbek podczas inkubacji w różnych mediach. Jak już wspomniano, obserwowana szybka utrata masy próbek w początkowej fazie degradacji (2 – 3 tygodnie) odpowiadała szybkiej degradacji i wymywaniu szczepionej dekstryny lub maltodekstryny. Po tym czasie tempo utraty masy próbek było znacznie niższe. Po 12 tygodniach degradacji największy spadek masy (o około 60 – 70%) zaobserwowano w osadzie czynnym dla mieszanin składających się z LA/GA/PEG i D-g-PCL o R_{dex} 70% wag. w stosunku 50:50 (próbka 2D) i dla LA/GA/PEG i D-g-PCL; R_{dex} 31% wag. w stosunku 50:50 (próbka 11D). Wyniki te są zgodne z charakterystyką absorpcji wody i ich zwilżalnością. Próbki zawierające większą ilość laktydylu (1D i 10D z około 56% wag. jednostek laktydylowych) uległy degradacji znacznie wolniej niż próbki 2D i 11D zawierające mniej tych jednostek (około 41 – 45% wag. jednostek laktydylowych). Po 12 tygodniach utrata masy próbek osiągnęła w tym wypadku tylko około 40%. Co ciekawe, stopień degradacji w osadzie czynnym był bardzo zbliżony do stopnia degradacji w glebie. Tutaj największą utratę masy odnotowano dla próbek 11D i 2D, która osiągnęła spadek do około 60 – 70% masy startowej. Przebieg erozji i wpływ na morfologię powierzchni próbek śledzono z pomocą SEM, część z otrzymanych zdjęć przedstawiono na **Rys. 4.3.2.6.** Zmiany morfologiczne powierzchni polimeru zależały od składu i środowiska inkubacji. Analiza obrazów mikroskopowych wykazała, że największe zmiany w morfologii wystąpiły w przypadku próbek inkubowanych w środowisku aktywnego osadu, a nieco mniejszy stopień erozji odnotowano w przypadku próbek zdegradowanych w glebie. Zgodnie z założeniem erozja powierzchni zachodziła głównie w mediach zawierających enzymy. Efekt ten jest szczególnie widoczny dla próbek mieszaniny zawierających 50% zmodyfikowanej dekstryny z $R_{dex} = 31\%$ wag. (**Rys. 4.3.2.6.**). Wskazuje to, że próbki te były najbardziej podatne na degradację enzymatyczną. Podobne mieszaniny zawierające niemodyfikowaną dekstrynę również wykazywały silne zmiany, ale głównie ze względu na szybkie wymywanie tego oligosacharydu, na co wskazuje kształt zmian – regularne wgłębienia powstające po usunięciu ziaren dekstryny (**Rys. 4.3.2.6., próbka OD2**).



Rys. 4.3.2.5. Procentowa utrata wagi próbek: 1D; 2D; 10D; 11D; OD1; OD2 tj. mieszanin LA/GA/PEG + dekstryna-g-PCL oraz próbek 1M; 2M; 11M; OM1; OM2 tj. mieszanin LA/GA/PEG + maltodekstryna-g-PCL w wodzie **A**) i **B**), w glebie **C**) i **D**) oraz w osadzie czynnym **E**) i **F**)



Rys. 4.3.2.6. Obrazy SEM degradacji (przekrój, powiększenie x 500) 2D (LA/GA/PEG + D-g-PCL; $R_{dex} = 70\%$ wag.) 50:50; 11D (LA/GA/PEG + D-g-PCL; $R_{dex} = 31\%$ wag.) 50:50 i OD2 (LA/GA/PEG + D. niemodyfikowana 50:50 (100 μ m))

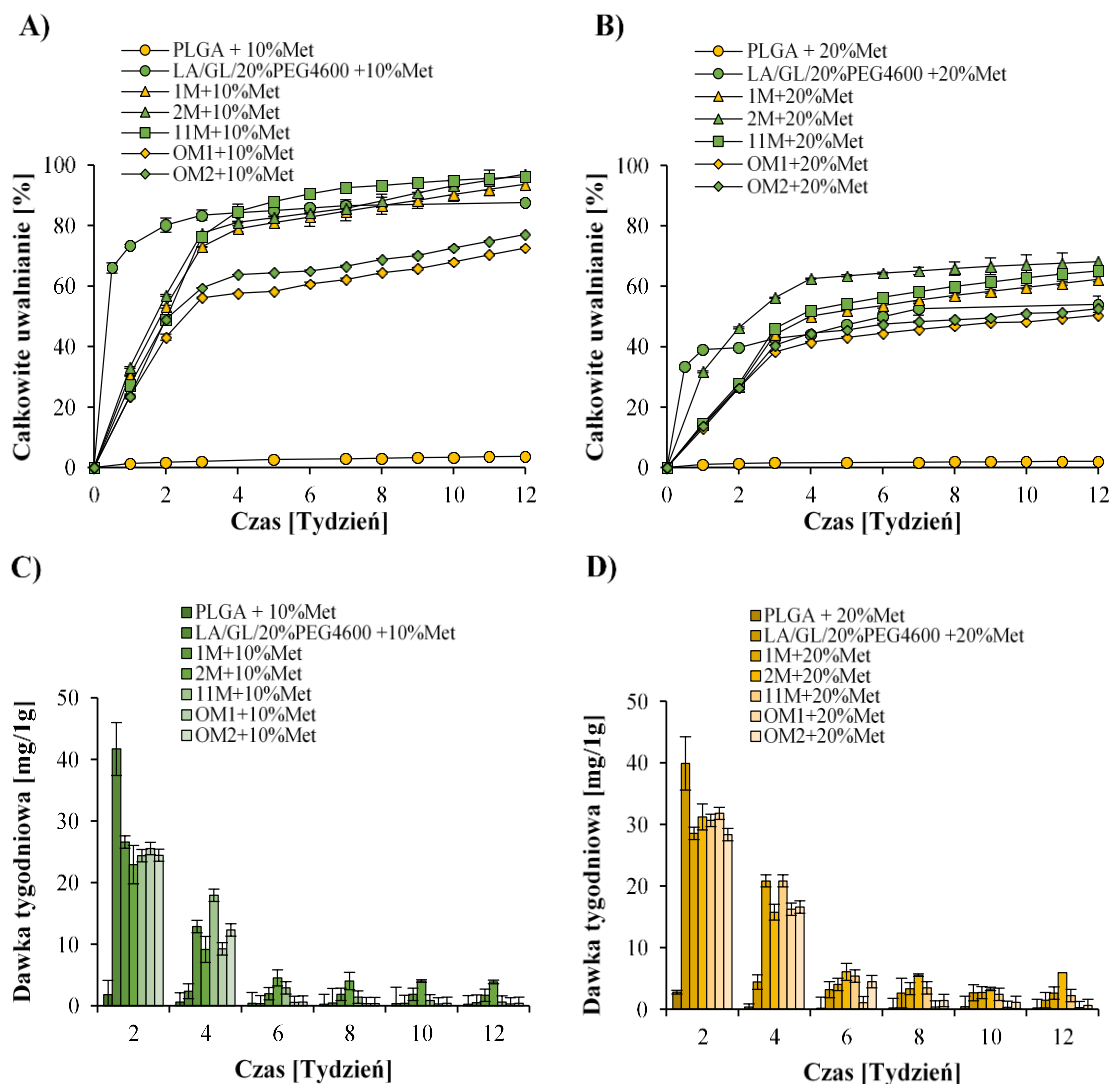
4.3.3. Uwalnianie herbicydów z matryc wykonanych z mieszanin polimerowych

4.3.3.1. Uwalnianie metazachloru

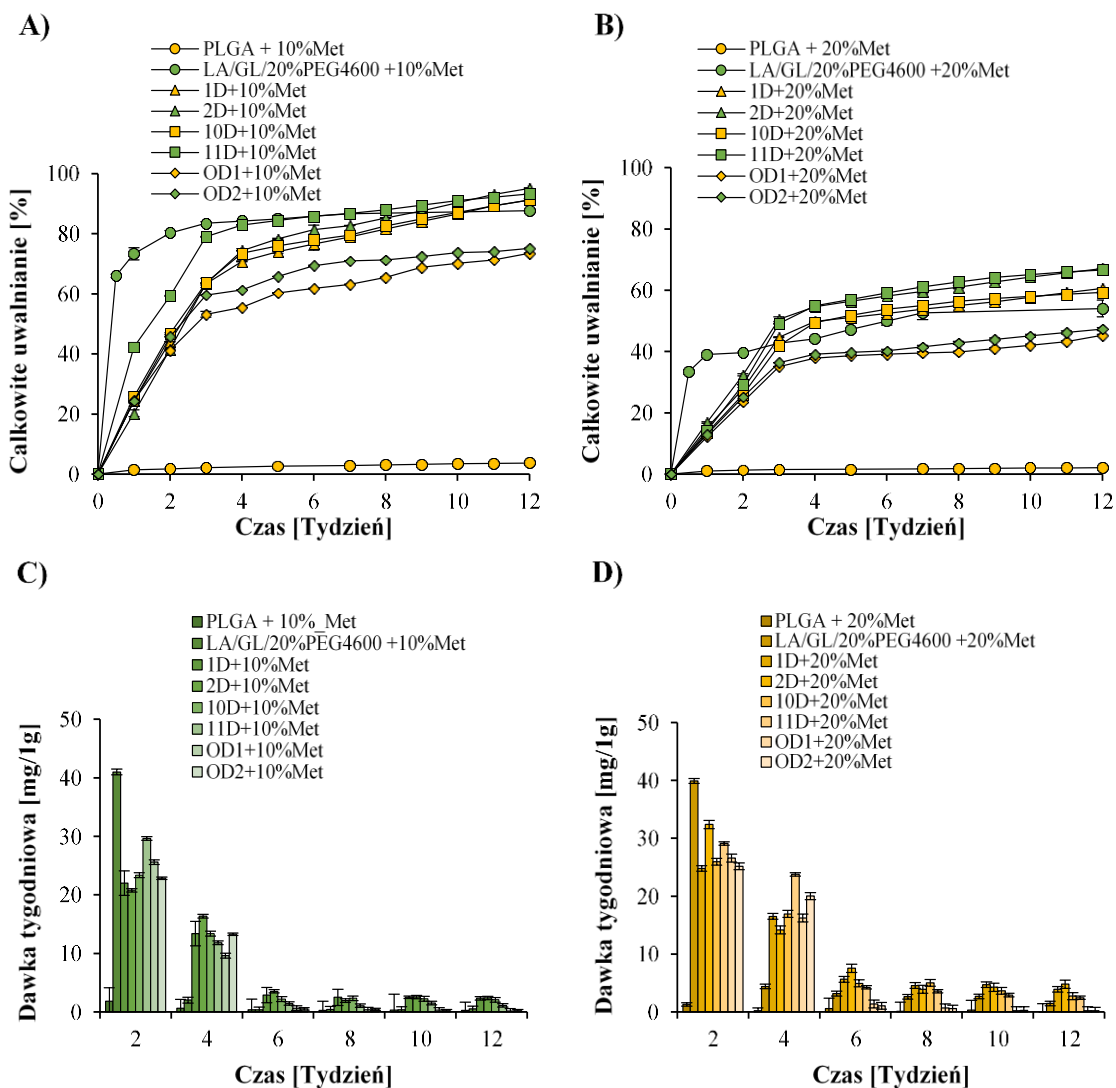
W zastosowaniach rolniczych szybkość uwalniania substancji czynnych powinna być dopasowana do zmian i okresów wegetacyjnych chronionych roślin. Optymalna dawka uwalnianego do gleby herbicydu powinna być względnie stała przez cały sezon wegetacyjny, a po tym okresie jego pozostałości powinny być niewielkie, w ilościach nieszkodliwych dla środowiska. Badany przebieg uwalniania metazochloru do wody i gleby przedstawiają zamieszczone rysunki (**Rys. 4.3.3.1.1.** – **Rys. 4.3.3.1.4.**). Początkowo wysoka szybkość uwalniania herbicydu jest spowodowana bezpośrednim wymyciu substancji czynnych z powierzchni polimeru; później jest wynikiem procesów dyfuzji i osmozy przebiegających przez mikropory i kanały tworzące się w wyniku erozji matrycy. W zależności od podatności matrycy na degradację proces ten może mieć nawet zasadnicze znaczenie dla przebiegu uwalniania substancji zdyspergowanej w matrycy.

W niniejszym eksperymencie „*burst effect*” wszystkich testowanych herbicydów trwał relatywnie krótko, jedynie przez około 1 tydzień od rozpoczęcia eksperymentu. Ponieważ metazachlor ma względnie dobrą rozpuszczalność w wodzie, w przypadku mieszaniny zawierającej terpolimer PLGA-PEG-PLGA i dekstryna-*graft*-PCL lub maltodekstryna-*graft*-PCL, zaobserwowano tendencję do uwalniania większych dawek metazachloru zarówno w glebie, jak i wodzie przez pierwsze 2 – 3 tygodnie. Gwałtowne początkowe uwalnianie było najbardziej zauważalne dla nośników utworzonych z mieszanin zawierających zmodyfikowane oligosacharydy. Dla tego układu, na szybkość uwalniania metazachloru bezpośrednio wpływała zawartość herbicydu w nośniku. Porównując efekt uwalniania metazachloru uwalnianego do wody i gleby, warto zauważyć, że w wodzie efekt ten był znacznie silniejszy niż w glebie. Bardzo interesujące wyniki uzyskano właśnie w trakcie uwalniania metazochloru z badanych matryc do gleby. W wypadku matryc zawierających 10% wag. tego herbicydu uzyskano przez 12 tygodni praktycznie całkowite uwolnienie tego związku w stałych tygodniowych dawkach wynoszących około 10 mg z 1 g zastosowanego kompozytu, natomiast mieszaniny zawierające 20% metazachloru wykazały również podobny profil, uzyskano w czasie 12 tygodni uwolnienie około 90% całości herbicydu, w jednakowych blisko dwukrotnie wyższych dawkach tygodniowych wynoszących około 18 g z 1 g kompozytu (**Rys. 4.3.3.1.3.** i **Rys. 4.3.3.1.4.**). Tak dobre profile uwalniania uzyskano zarówno

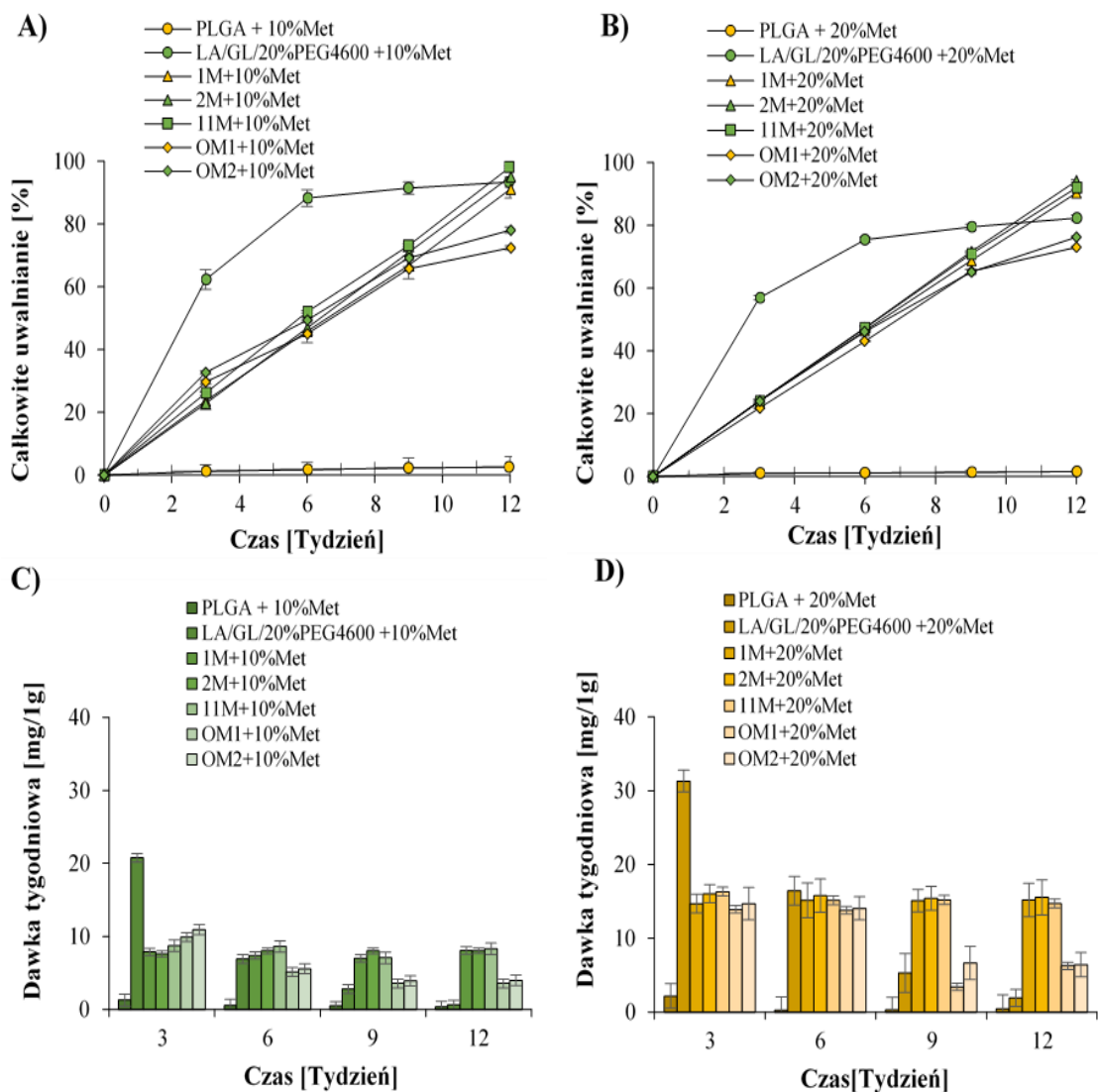
w wypadku zastosowania mieszanin zawierających szczepioną dekstrynę, jak i maltodekstrynę.



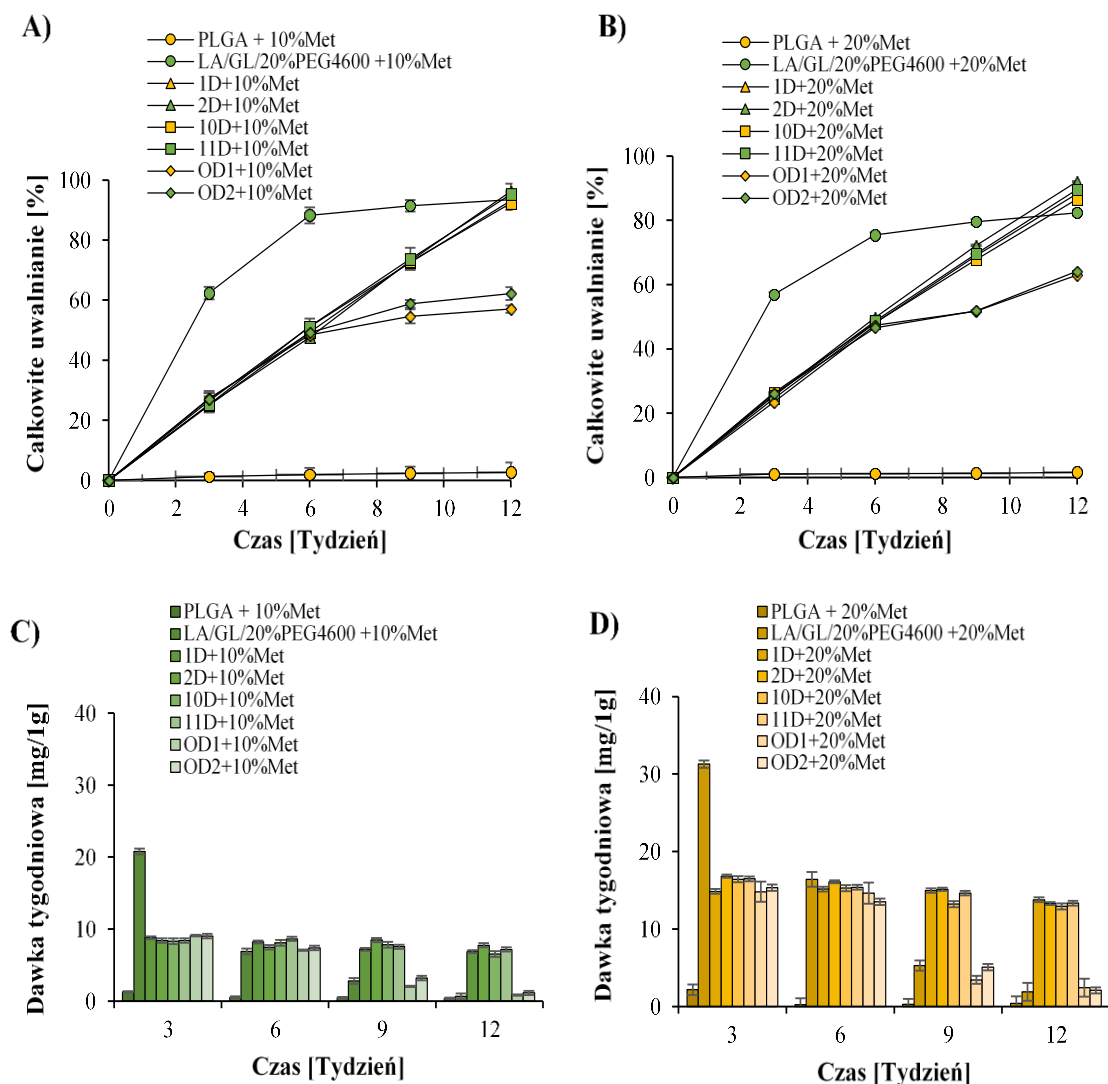
Rys. 4.3.3.1.1. Całkowite uwalnianie metazachloru (Met) w wodzie **A** – z dodatkiem 10% Met; **B** – z dodatkiem 20% Met) oraz tygodniowe dawki (**C** - z dodatkiem 10% Met; **D** - z dodatkiem 20% Met) z kopolimeru PLGA, terpolimeru LA/GL/20%PEG4600 oraz mieszanin LA/GA/PEG + M-g-PCL



Rys. 4.3.3.1.2. Całkowite uwalnianie metazachloru (Met) w wodzie **A** – z dodatkiem 10% Met; **B** – z dodatkiem 20% Met) oraz tygodniowe dawki (**C** - z dodatkiem 10% Met; **D** - z dodatkiem 20% Met) z kopolimeru PLGA, terpolimeru LA/GL/20%PEG4600 oraz mieszanin LA/GA/PEG + D-g-PCL



Rys. 4.3.3.1.3. Całkowite uwalnianie metazachloru (Met) w glebie **A** – z dodatkiem 10% Met; **B** – z dodatkiem 20% Met) oraz tygodniowe dawki (**C** - z dodatkiem 10% Met; **D** - z dodatkiem 20% Met) z kopolimeru PLGA, terpolimeru LA/GL/20%PEG4600 oraz mieszanin LA/GA/PEG + M-g-PCL

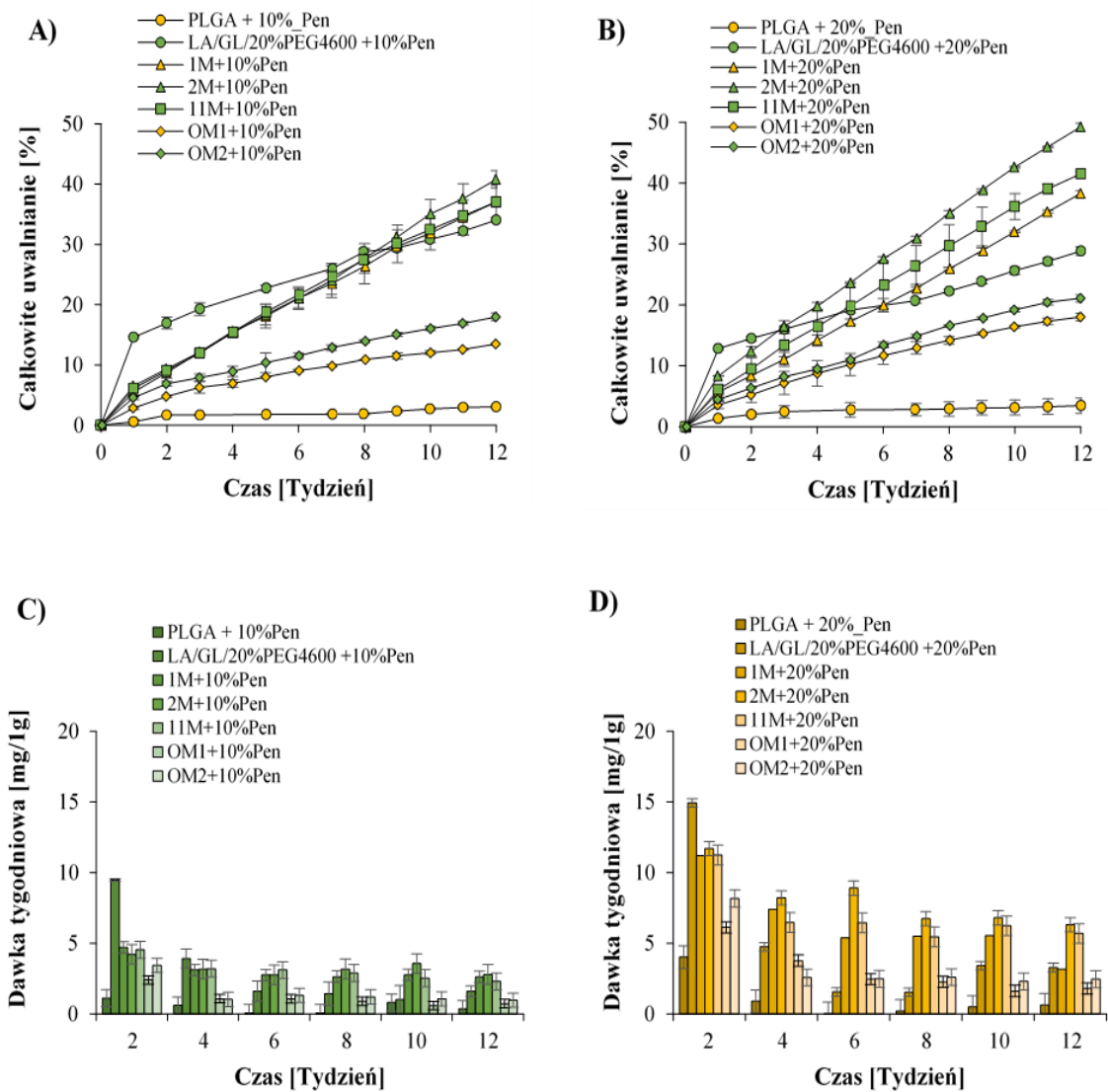


Rys. 4.3.3.1.4. Całkowite uwalnianie metazachloru (Met) w glebie **A** – z dodatkiem 10% Met; **B** – z dodatkiem 20% Met) oraz tygodniowe dawki (**C** - z dodatkiem 10% Met; **D** - z dodatkiem 20% Met) z kopolimeru PLGA, terpolimeru LA/GL/20%PEG4600 oraz mieszanin LA/GA/PEG + D-g-PCL

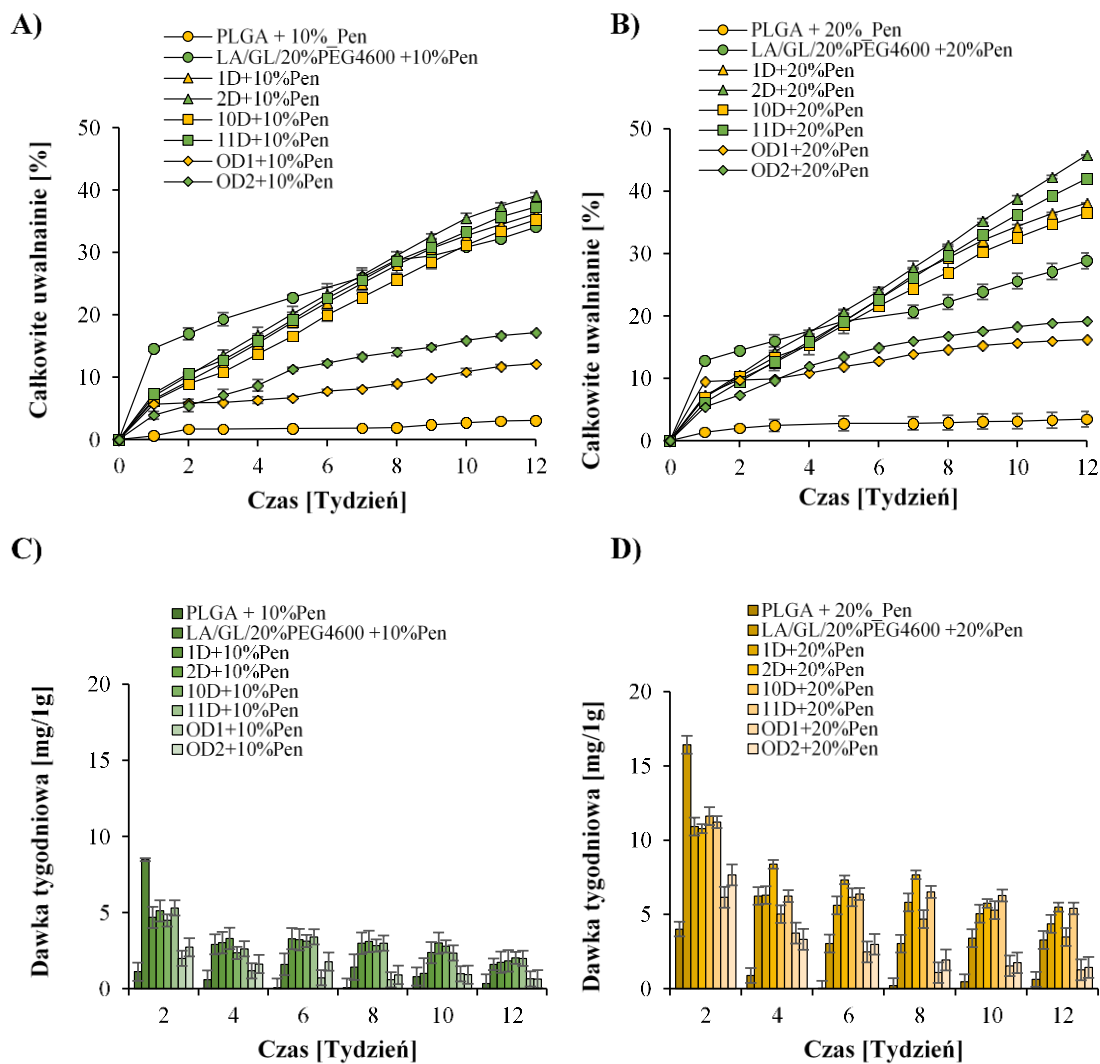
4.3.3.2. Uwalnianie pendimetaliny

Szybkość uwalniania pendimetaliny ze wszystkich mieszanin w wodzie była znacznie niższa niż w przypadku wspomnianego wyżej herbicydu. W czasie 4 miesięcy około 30 – 40% i 25 – 45% całości herbicydu obecnego w nośnikach – odpowiednio dla mieszanin zawierających 10% i 20% herbicydu uległo uwolnieniu do środowiska (**Rys. 4.3.3.2.1.** – **Rys. 4.3.3.2.2.**). Całkowity procent uwalniania pendimetaliny do gleby w ciągu 12 tygodni wynosił mniej niż 55% jego całkowitej ilości (**Rys. 4.3.3.2.3.** – **Rys. 4.3.3.2.4.**). Spowodowane to było słabą rozpuszczalnością w wodzie tego herbicydu.

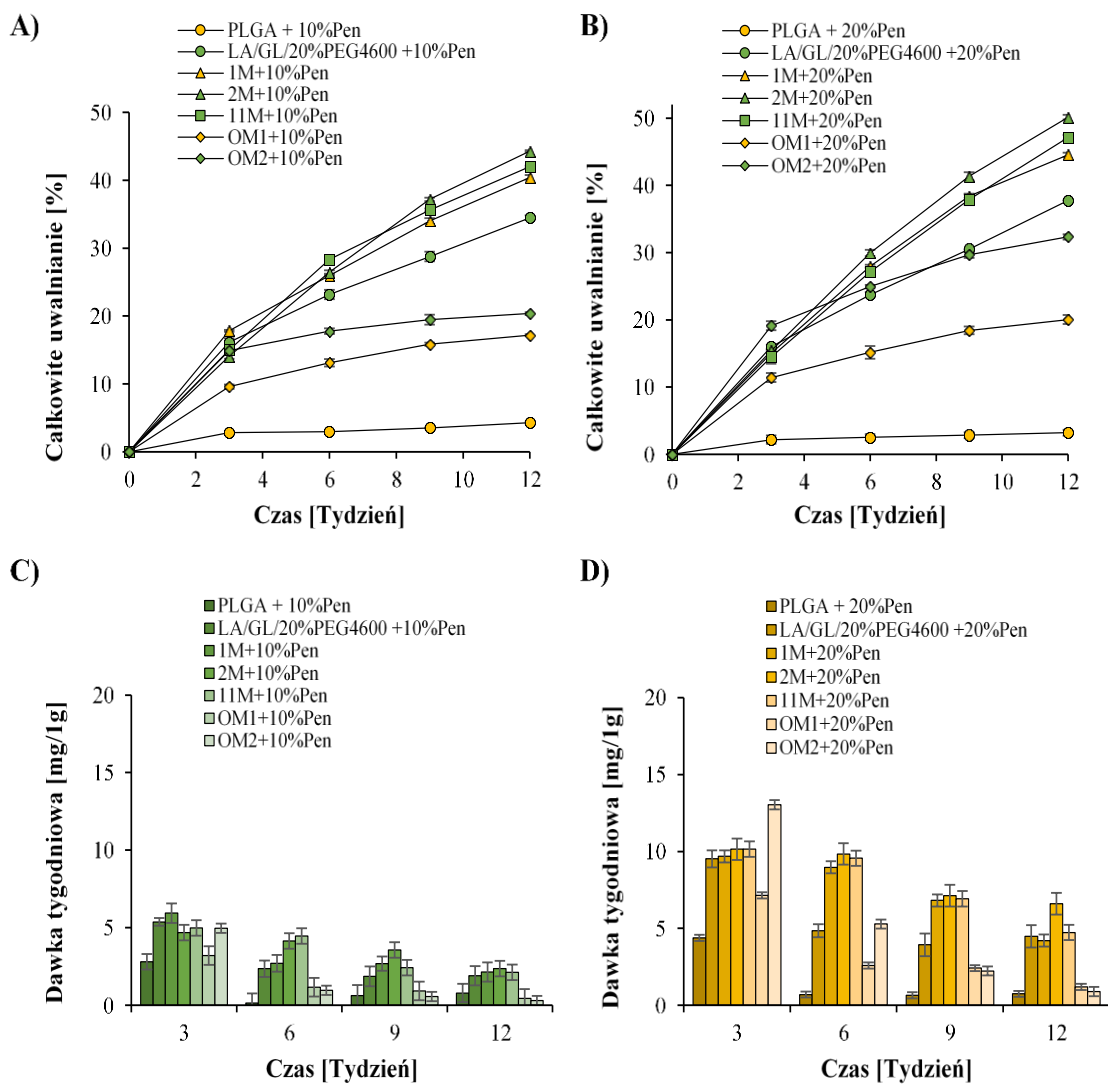
Transport herbicydu w tym wypadku zależał głównie od tempa i przebiegu degradacji matrycy.



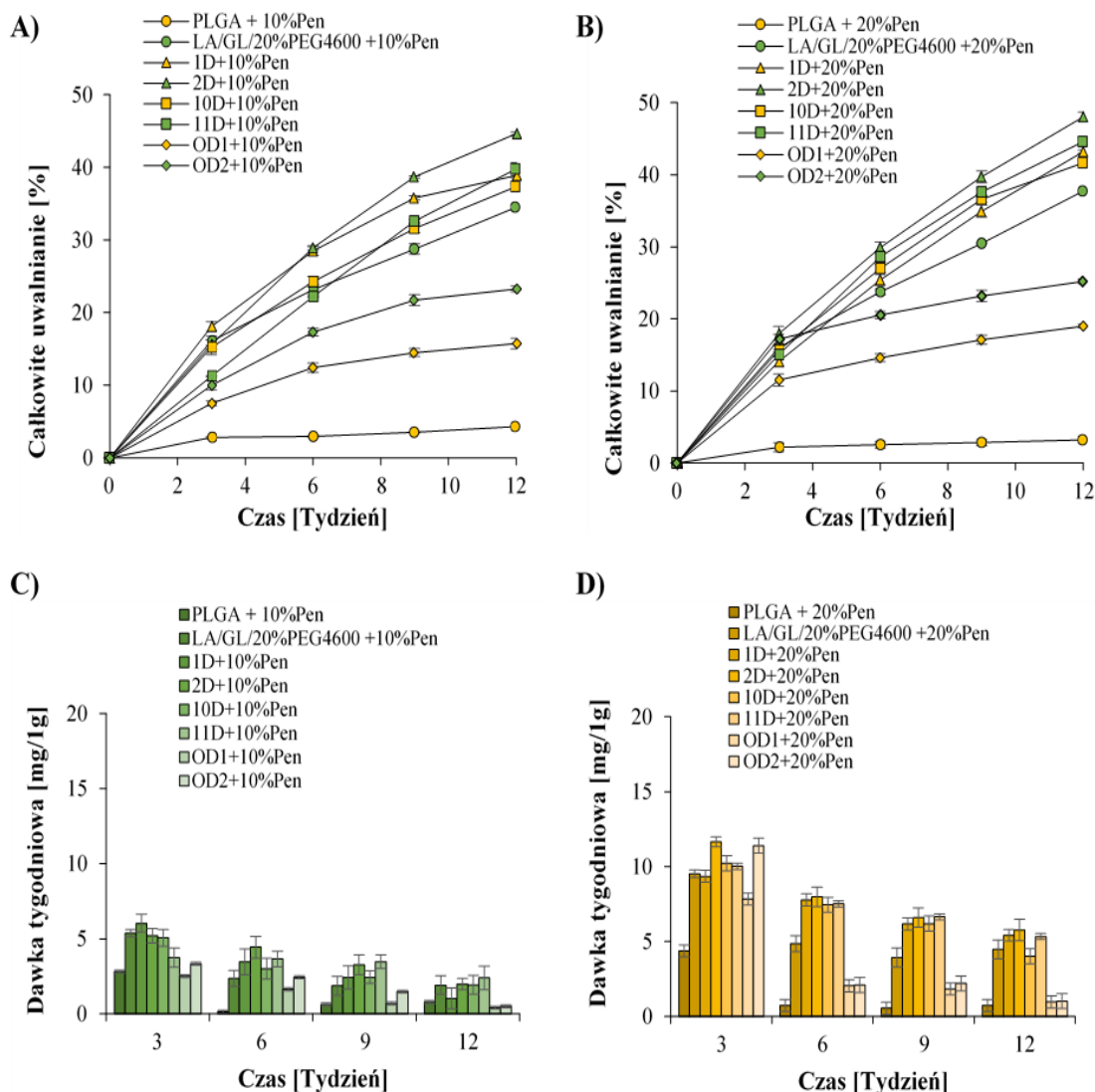
Rys. 4.3.3.2.1. Całkowite uwalnianie **pendimetaliny (Pen)** w wodzie **A** – z dodatkiem 10% Pen; **B** – z dodatkiem 20% Pen) oraz tygodniowe dawki (**C** - z dodatkiem 10% Pen; **D** - z dodatkiem 20% Pen) z kopolimeru PLGA, terpolimeru LA/GL/20%PEG4600 oraz mieszanin LA/GA/PEG + M-g-PCL



Rys. 4.3.3.2.2. Całkowite uwalnianie **pendimetaliny (Pen)** w wodzie **A** – z dodatkiem 10% Pen; **B** – z dodatkiem 20% Pen) oraz tygodniowe dawki (**C** - z dodatkiem 10% Pen; **D** - z dodatkiem 20% Pen) z kopolimeru PLGA, terpolimeru LA/GL/20%PEG4600 oraz mieszanin LA/GA/PEG + D-g-PCL



Rys. 4.3.3.2.3. Całkowite uwalnianie **pendimetaliny (Pen)** w glebie **A** – z dodatkiem 10% Pen; **B** – z dodatkiem 20% Pen) oraz tygodniowe dawki (**C** - z dodatkiem 10% Pen; **D** - z dodatkiem 20% Pen) z kopolimeru PLGA, terpolimeru LA/GL/20%PEG4600 oraz mieszanin LA/GA/PEG + M-g-PCL



Rys. 4.3.3.2.4. Całkowite uwalnianie **pendimetaliny (Pen)** w glebie **A** – z dodatkiem 10% Pen; **B** – z dodatkiem 20% Pen) oraz tygodniowe dawki (**C** - z dodatkiem 10% Pen; **D** - z dodatkiem 20% Pen) z kopolimeru PLGA, terpolimeru LA/GL/20%PEG4600 oraz mieszanin LA/GA/PEG + D-g-PCL

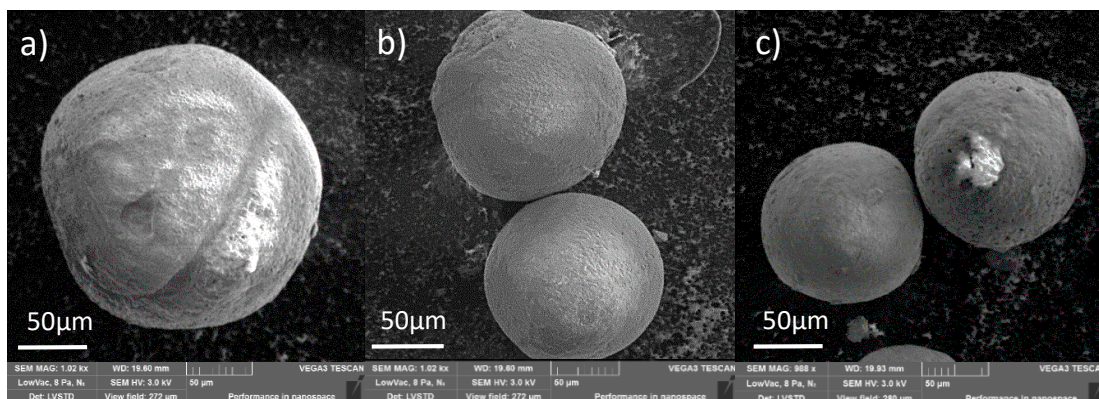
Porównanie skumulowanej dawki uwalnianego metazachloru i pendimetaliny wykazało, że w wypadku pentametaliny faza plateau nie została osiągnięta. Średnie tygodniowe uwalniane dawki tych herbicydów nawet po 12 tygodniach, były bardzo zbliżone do dawek uwalnianych w początkowych tygodniach. Głównym czynnikiem przyczyniającym się do występowania omawianego efektu podczas uwalniania pentametaliny jest jej rozpuszczalność w wodzie. Dla mieszaniny przygotowanej z oligosacharydami niezmodyfikowanymi dla obu testowanych herbicydów, uwalnianie było znacznie niższe we wszystkich przypadkach. W przypadku metazachloru wartości uwalniania były niższe o około 20% i o 30% dla

pendimetaliny). Modyfikacja analizowanych sacharydów wpływa na poprawę profilu uwalniania, co jest szczególnie zauważalne podczas uwalniania herbicydu w glebie. Tygodniowe szybkości uwalniania zarówno metazachloru, jak i pendimetaliny były stałe przez okres 12 tygodni.

4.4. Mikrosfery formowane z mieszanin polimerowych PLGA-PEG-PLGA/dekstryna-graft-PCL i PLGA-PEG-PLGA/maltodekstryna-graft-PCL

Ze względu na bardzo zachęcające wyniki wcześniej przedstawionych badań kinetyki uwalniania modelowych herbicydów postanowiono wykorzystać te materiały polimerowe w formowaniu mikrosfer. Mikrosfery zawierające herbicydy są formą dogłębowego systemu uwalniania mogącą być łatwo aplikowaną w zabiegach polowych w postaci zawiesiny wodnej. Postanowiono również sprawdzić, czy ta forma nośnika spowoduje przyspieszenie uwalniania substancji czynnej do gleby (zwiększenie powierzchni właściwej nośnika) i czy również pozwoli na zachowanie uwalniania stałej dawki herbicydu do gleby praktycznie przez okres 12 – 16 tygodni, podobnie jak zaobserwowano to w badaniach uwalniania z matrycy w formie cienkich folii. Postanowiono wykonać tego typu nośniki modelowych herbicydów zarówno z terpolimeru PLGA-*blok*-PEG-*blok*-PLGA (terpolimer otrzymany z udziałem 20% w. PEG 4600, patrz: **Tab. 4.2.1, wiersz 1a**), jak i wybranych opisanych wcześniej mieszanin polimerowych terpolimerów PLGA-PEG-PLGA z szczepionymi polikaprolaktonem dekstrynami o składzie wagowym: LA:GL:PEG:DEX:CAP jak 40:5:5:36:13 (zawierających szczepioną dekstrynę, **Tab. 4.3.1.1, wiersz 2D**), oraz jak 40:6:5:19:30 (zawierających szczepioną maltodekstrynę, **Tab. 4.3.1.1., wiersz 2M**). Materiały te wybrano na podstawie wcześniej przedstawionych wyników uwalniania obu herbicydów do gleby.

Opracowana i zastosowana metoda formowania mikrosfer pozwoliła na przygotowanie z dobrą powtarzalnością mikrocząstek o stosunkowo regularnym kulistym kształcie, dość gładkiej i jednorodnej powierzchni i stosunkowo wąskim rozkładzie wymiarów średnic (**Rys. 4.4.1.**). W przypadku mikrosfer otrzymanych z terpolimeru PLGA-PEG-PLGA największy (prawie 80%) udział liczbowy wykazała frakcja mikrosfer o wielkości od 225µm do 275µm natomiast dla mikrosfer otrzymanych z mieszanin polimerowych PLGA-PEG-PLGA/dekstryna-graft-PCL (dalej oznaczany TER/dekstryna) i PLGA-PEG-PLGA/maltodekstryna-graft-PCL (dalej oznaczany TER/maltodekstryna) największy udział stanowiła frakcja mikrosfer o średnicy w przedziale od 125µm do 150µm (**Rys. 4.4.2.**).



Rys. 4.4.2. Obrazy SEM uzyskanych mikrosfer: A) Terpolimer, B) TER/dekstryna
C) TER/maltodekstryna (powiększenie x 1000)

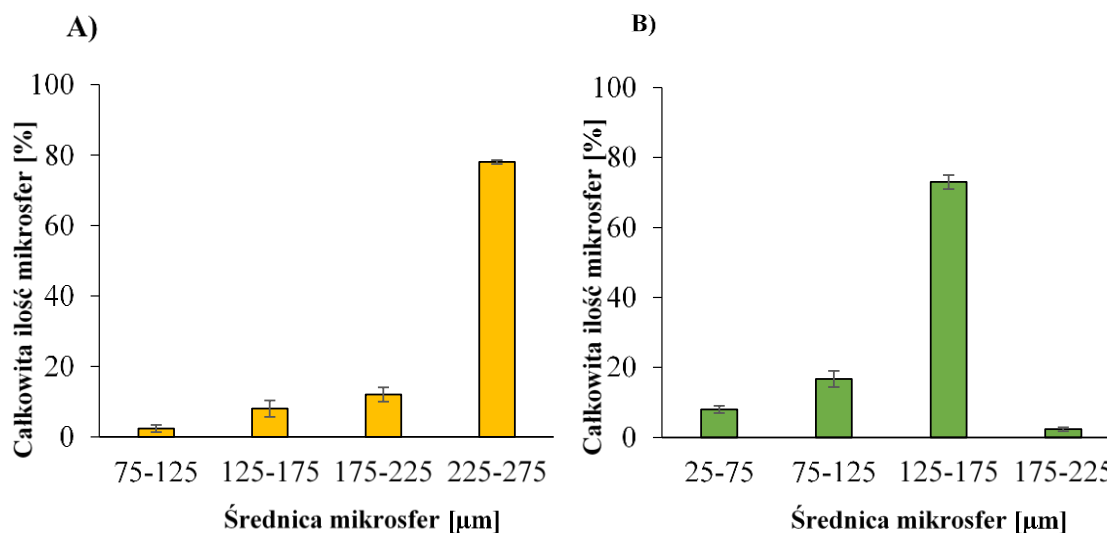
Na przebieg procesu uwalniania ma wpływ zarówno rozmiar cząstek matrycy, jak i rzeczywisty ładunek substancji czynnej [274]. Wydajność enkapsulacji pendimetaliny i metazachloru przedstawiono w **Tab. 4.4.1**. Rzeczywista zawartość wagowa herbicydów w mikrosferach wynosiła od 15% do 17% całkowitej masy mikrocząsteczek (przy założonej 20%).

Tabela 4.4.1. Oznaczanie zawartości metazachloru/pendimetaliny w mikrosferach

Nazwa próbki	Herbicyd	M^0_{H/M_P} [%]	M^e_{H/M_P} [%]
TERPOLIMER	Metazachlor	20	16
	Pendimetalina	20	15
TER/maltodekstryna	Metazachlor	20	17
	Pendimetalina	20	17
TER/dekstryna	Metazachlor	20	16
	Pendimetalina	20	15

M^0_{H/M_P} - przyjęty procent herbicydów w mikrosferach

M^e_{H/M_P} - eksperymentalny procent herbicydów w mikrosferach

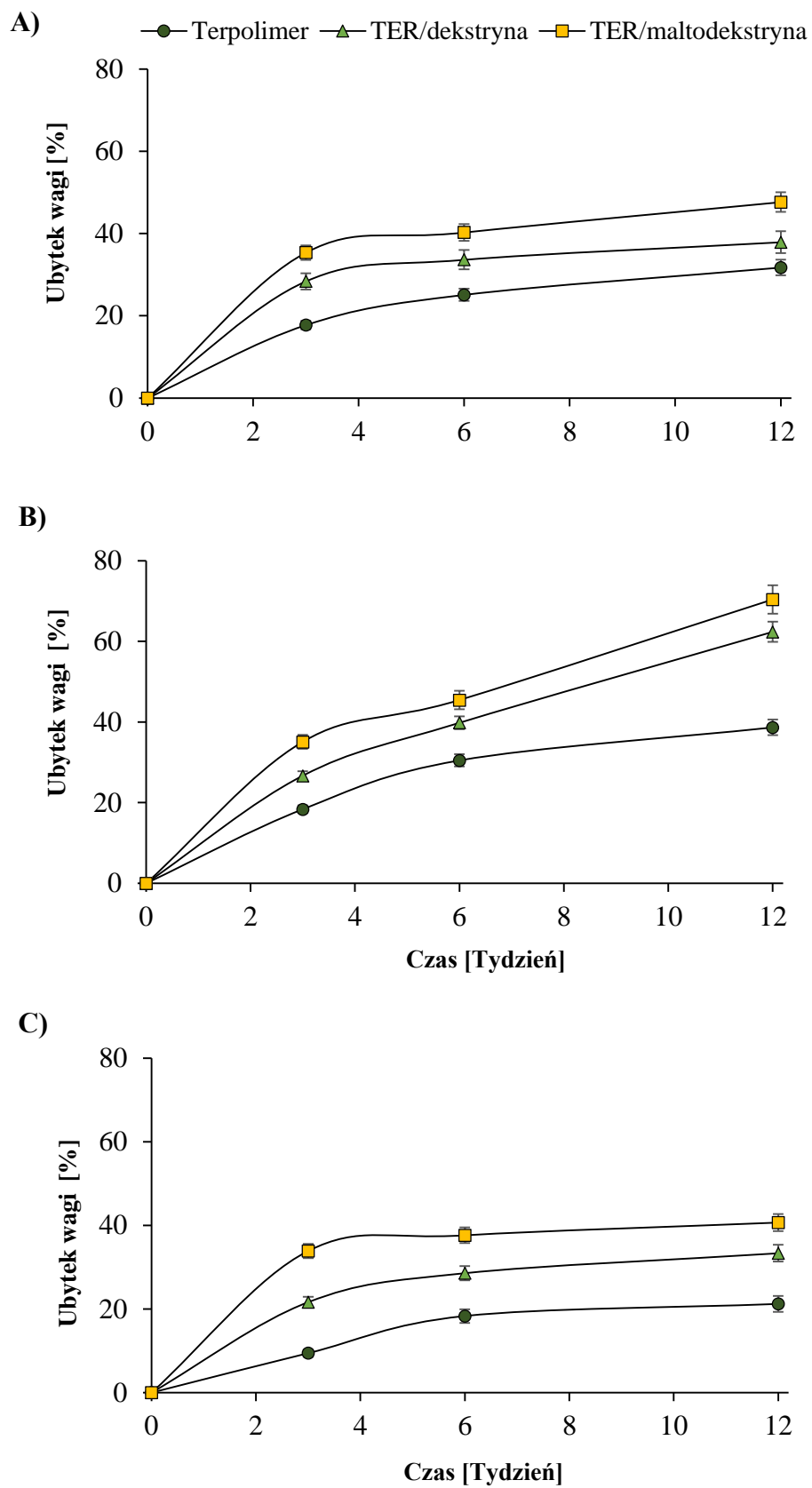


Rys.4.4.2. Rozkład średnic mikrosfer obciążonych herbicydami dla **A)** Terpolimeru i **B)** TER/dekstryna (analogiczne wyniki uzyskano dla TER/maltodekstryna)

4.4.1. Degradacja mikrosfer

Badania degradacji mikrosfer przeprowadzono w wodzie, glebie i osadzie czynnym. Zgodnie z oczekiwaniami, wraz z wzrostem czasu prowadzonej degradacji zaobserwowano rosnącą utratę masy próbek (**Rys. 4.4.1.1.**). Warto jednak zauważyć, że w każdym ośrodku występowała ta sama kolejność szybkości utraty masy mikrosfer: TER/maltodekstryna > TER/dekstryna > Terpolimer. Porównanie przebiegu tego procesu we wszystkich mediach wykazało, że najwyższy stopień utraty masy próbki zaobserwowano w osadzie czynnym po 12 tygodniach degradacji utrata masy była w następującej kolejności: TER/maltodekstryna (~70%)>TER/dekstryna (>60%) > Terpolimer (prawie 40%).

Stwierdzono, że gleba jest podłożem, w którym wystąpił najniższy stopień utraty masy próbki. Jest to spowodowane niską wilgotnością gleby i ograniczonym kontaktem z wodą. W związku z tym ograniczona ruchliwość wody nie pozwala na jej dystrybucję w mieszaninach polimerów, a rozpuszczanie i wymywanie mieszanin o niskiej masie cząsteczkowej ulega silnemu spowolnieniu.



Rys. 4.4.1.1. Procentowa utrata masy mikrosfer Terpolimer; TER/dekstryna i TER/maltodekstryna
A) - w wodzie, B) - w osadzie czynnym, C) - w glebie

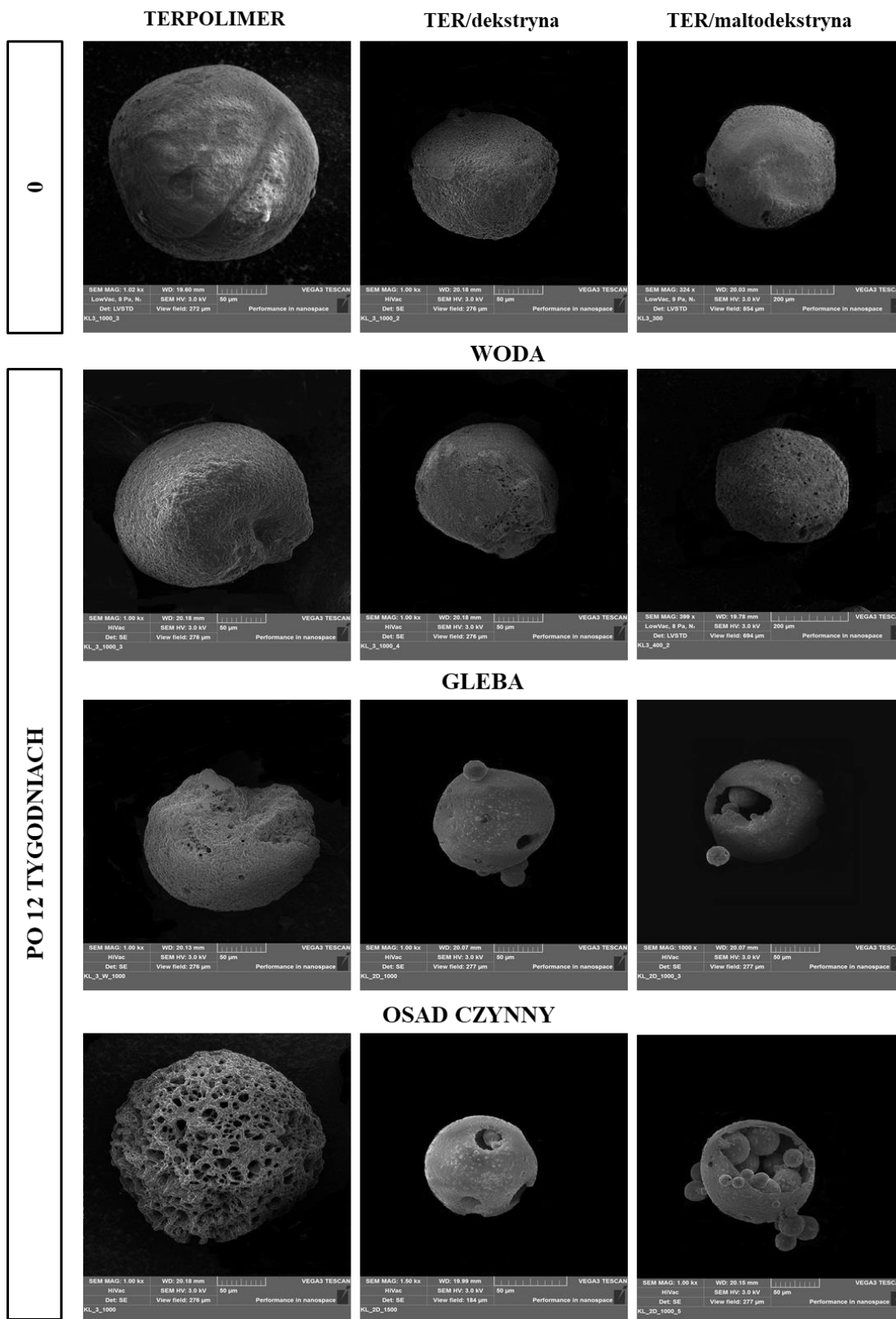
Ten aspekt jest korzystny z punktu widzenia ochrony agrochemicznej i środowiskowej, ponieważ umożliwia powolną degradację mikrosfer, a zatem stopniowe uwalnianie substancji czynnych, takich jak herbicydy w ciągu dłuższego czasu – kilku tygodni. Niezależnie od zastosowanego podłoża, mikrosfery TER/maltodekstryna okazały się najbardziej podatne na degradację. Prawie 50% początkowej masy tego nośnika ulegało degradacji w ciągu 3 miesięcy. Największa szybkość spadku masy mikrosfer TER/maltodekstryna wynika prawdopodobnie z jej największej podatności na wilgoć, co jest związane z obecnością szczepionej maltodekstryny o niskiej masie cząsteczkowej, która w trakcie degradacji uwalnia się w postaci małych cząsteczek pochodnych bardzo łatwo rozpuszczalnych w wodzie. Natomiast wśród badanych mikrosfer, mikrosfery z Terpolimeru jako najbardziej hydrofobowe i najmniej podatne na działanie enzymów okazały się najbardziej odpornym materiałem na degradację. Matryce z TER/maltodekstryna w większości spełniają więc kryteria systemów kontrolowanego uwalniania herbicydów, ponieważ po uwolnieniu herbicydów ulegają praktycznie całkowitej degradacji w czasie sezonu wegetacyjnego uprawianych roślin, a produkty degradacji służą nie tylko jako źródło dostępnego węgla dla mikroorganizmów, ale także poprawiają stan gleby.

Erozję powierzchniową mikrosfer inkubowanych w wodzie, glebie i osadzie czynnym monitorowano za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM). Początkowe obrazy wszystkich mikrosfer wykazały, że powierzchnia zwykłego Terpolimeru miała najbardziej jednorodny charakter w porównaniu z powierzchnią innych mieszanin zawierających polimery na bazie dekstryny lub maltodekstryny (**Rys. 4.4.1.2.**).

Analiza obrazów SEM wykazała niejednoznaczny wpływ erozji powierzchniowej mikrosfery. Stopień erozji powierzchni zależał od rodzaju środowiska, w którym inkubowano mikrosfery. Zgodnie z oczekiwaniami, osad czynny miał największy wpływ na degradację powierzchniową wszystkich mikrosfer. W środowisku w tym występowała największa aktywność mikrobiologiczną [275]. Odzwierciedleniem silnej degradacji enzymatycznej jest stopniowo silnie rosnąca erozja powierzchni mikrofer inkubowanych w tym środowisku. W przypadku czystej wody dominuje mechanizm degradacji hydrolitycznej ze względu na łatwą ruchliwość cząsteczek wody w matrycy polimerowej, podczas gdy degradacja enzymatyczna połączona z hydrolizą jest kluczowym mechanizmem rozpadu próbek w osadzie czynnym i glebie. W przypadku mikrosfer opartych na maltodekstrynie i dekstrynie zaobserwowano bardziej heterogeniczne

zmiany na powierzchni, w tym większe pęknięcia, rozszczepienia i cięcia. Analiza obrazów SEM w czasie degradacji wykazały, że uzyskane mikrosfery zbudowane z mieszanin polimerowych miały złożoną strukturę. Zawierały we wnętrzu mniejsze mikrosfery (**Rys. 4.4.1.2.**). Niestety nie udało się stwierdzić przyczyny tego efektu. Jest on zapewne związany z autosegregacją składników mieszaniny polimerowej zachodząca podczas formowania mikrocząstek. W wypadku degradacji mikrocząstek niezawierających szczepionych polimerów, mikrosfera ulega silnej wgłębnej erozji, w wyniku wymywania produktów degradacji tworząc przestrzenną strukturę porowatą.

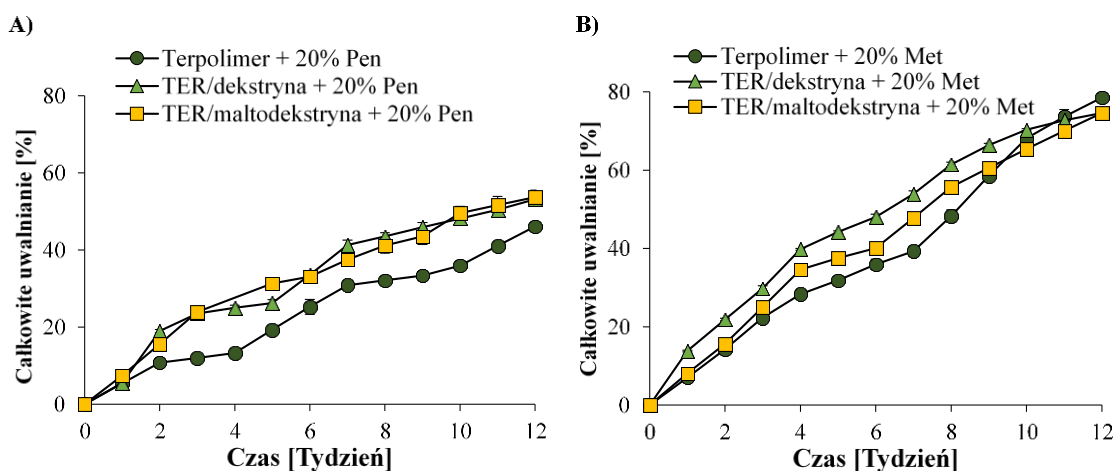
Porównując przebieg degradacji badanych mikrosfer z degradacją analogicznych co do składu filmów wykazano, że po 12 tygodniach niezależnie od środowiska degradacji, utrata masy zarówno mikrosfer, jak i filmów była podobna (Terpolimer, TER/dekstryna i TER/maltodekstryna), chociaż zaobserwowano różnice w samym profilu tego zjawiska.



Rys. 4.4.1.2. Pogorszenie jakości powierzchni mikrosfer po każdym okresie ekspozycji na środowisko degradacji (SEM) (powiększenie x 1000)

4.4.2. Uwalnianie herbicydów z wytworzonych mikrosfer

Szybkość uwalniania metazachloru i pendimetaliny w każdym rodzaju badanych mikrosfer pokazano na **Rys. 4.4.2.1**. Ilość metazachloru i pendimetaliny uwolnionej w ciągu 3 miesięcy z mikrosfer wyniosła prawie 80% i 60% wartości początkowej, zatem jasne jest, że szybkość uwalniania jest skorelowana z erozją powierzchni mikrosfery. Utrata masy związana z erozją powierzchni pozwoliła na uwolnienie obu herbicydów z matrycy polimerowej. Wyższe uwalnianie odnotowano dla metazachloru, najprawdopodobniej z powodu jego znacznie wyższej rozpuszczalności w wodzie niż pendimetaliny. Ponadto najniższa ilość (około 50%) pendimetaliny uwalnianej z terpolimeru bez dekstryny lub maltodekstryny była dlatego, że ten herbicyd ma bardzo niską rozpuszczalność w wodzie, a terpolimer jest bardziej hydrofobowy niż zastosowane mieszaniny polimerowe zawierające szczepione oligosacharydy. Różnice były jednak nieznaczne, znacznie mniejsze, niż podczas uwalniania tych samych herbicydów z analogicznych foli. We wszystkich przypadkach uzyskano bardzo równomierne uwalnianie przez cały okres badania, bez występowania efektu „burst”.



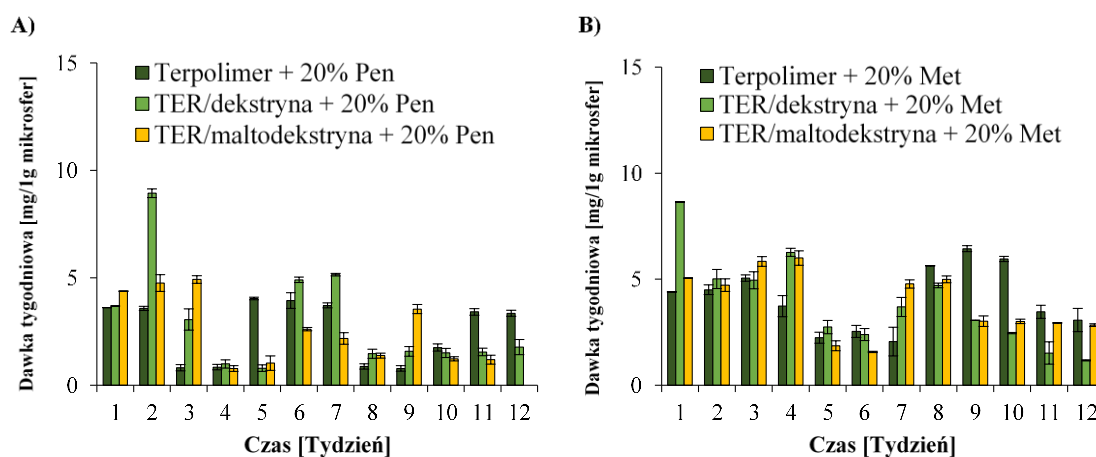
Rys. 4.4.2.1. Całkowite uwalnianie A) pendimetaliny i B) metazachloru z mikrosfer

W ciągu 12 tygodni, ilość uwolnionego metazachloru i pendimetaliny z mikrosfer wynosiła odpowiednio 79% i 46%, podczas gdy podczas uwalniania z tych samych filmów terpolimerowych wynosiła odpowiednio 54% i 29% dla metazachloru i pendimetaliny. W przypadku filmów polimerowych utworzonych z TER/dekstryna szybkość uwalniania wynosiła odpowiednio 67% i 45% dla metazachloru i pendimetaliny, podczas gdy dla filmów polimerowych utworzonych

z TER/maltodekstryna szybkość uwalniania wynosiła odpowiednio 68% i 49% dla metazachloru i pendimetaliny. Widać, że przyspieszający wpływ kształtu mikrosfery nośnika na uwalnianie herbicydów, praktycznie występował jedynie dla matrycy mikrosferowych formowanych z terpolimeru.

Warto zauważyć, że dzięki zastosowaniu proponowanych mikrosfer niepożądany efekt początkowego gwałtownego uwalniania, który często występuje, został znacznie zmniejszony. Powolna degradacja wszystkich badanych mikrosfer polimerowych pozwoliła na stopniowe uwalnianie herbicydów nawet na początkowym etapie procesu inkubacji. Jest to duża zaleta formowanego systemu, ponieważ brak początkowej dużej dawki uwolnionego niewchłanianego przez rośliny herbicydu nie zanieczyszcza gleby i wód podskórnych.

Wykresy sumarycznej ilości uwalnianego metazachloru i pendimetaliny z mikrosfer wykazały, że w trakcie badań faza plateau nie została osiągnięta. Nawet po 12 tygodniach uwalnianie obu herbicydów było jeszcze wciąż podobne do fazy początkowej. Średnie tygodniowe uwalniane dawki tych herbicydów (**Rys. 4.4.2.2.**) w obserwowanym czasie były prawie takie same, niezależnie od czasu. Formulacja herbicydów w postaci mikrosfer polimerowych poprawiła profil uwalniania, w porównaniu do badań wcześniejszych, niezależnie od rodzaju herbicydu.



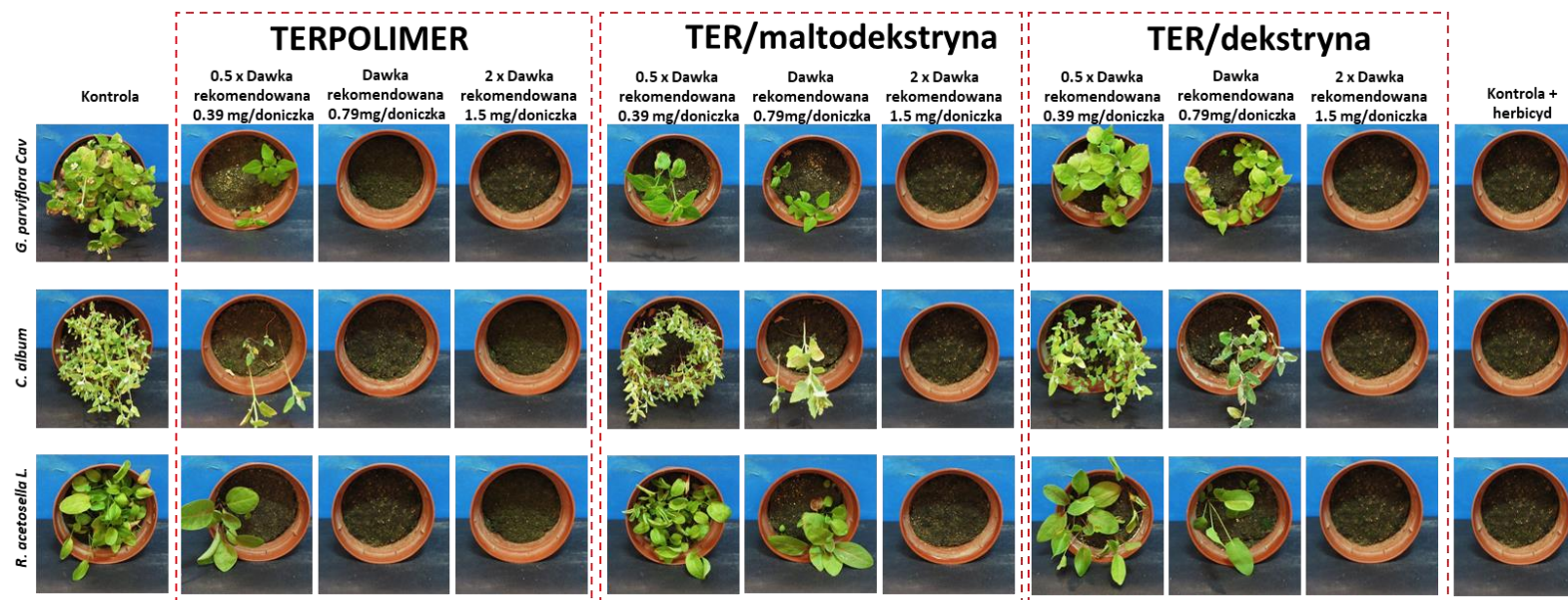
Rys. 4.4.2.2. Tygodniowe dawki uwalniania **A)** pendimetaliny (Pen) i **B)** metazachloru (Met) z mikrosfer

4.4.3. Oznaczanie aktywności chwastobójczej mikrosfer zawierających herbicydy

W kolejnym etapie badań, napełnione herbicydami mikrosfery formowane z TER, jak i mieszanin polimerowych wykorzystano w badaniach rzeczywistego ich działania na wybrane chwasty, prowadzonych w warunkach szklarniowych. Efekt

wizualny uwalniania metazachloru i pendimetaliny ze wszystkich stosowanych mikrosfer na badane gatunki chwastów oceniono po 1 miesiącu ich wzrostu w glebie i przedstawiono na **Rys. 4.4.3.1.** i **4.4.3.2.**

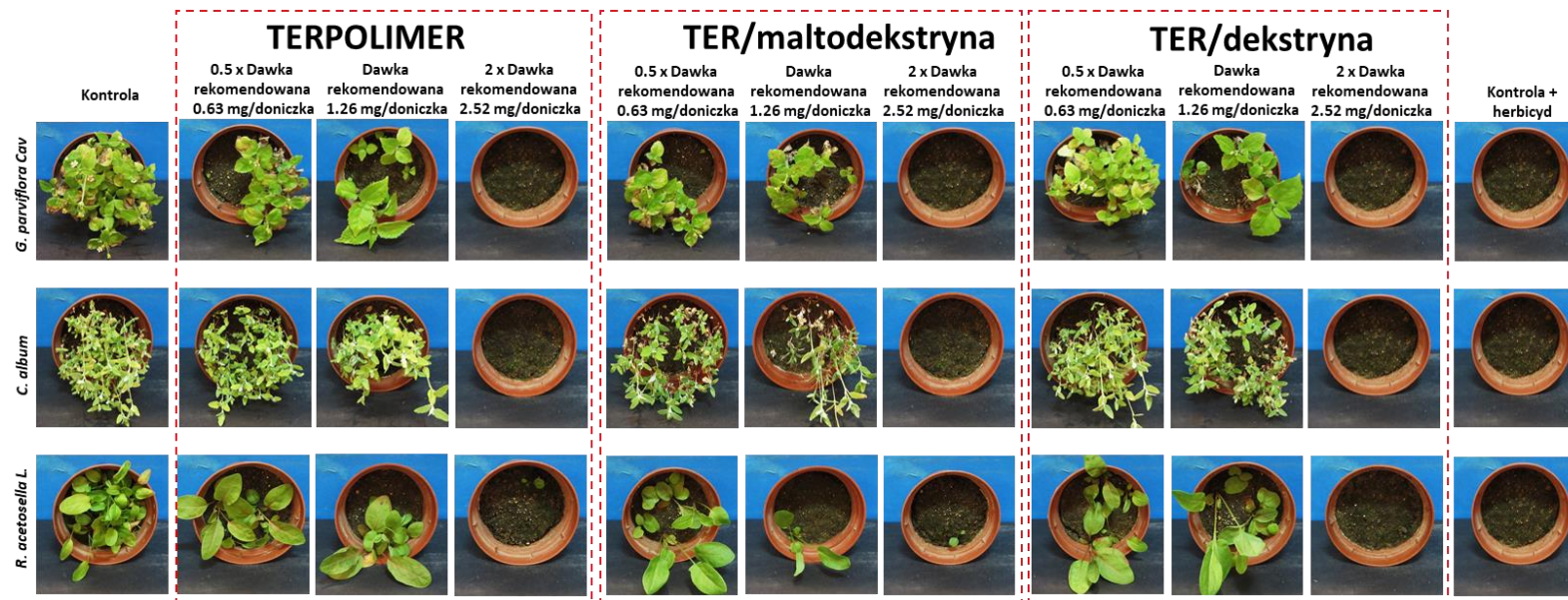
Oceny zostały przypisane za pomocą skali z EWRC i są przedstawione w **Tab. 4.4.3.1.** i **4.4.3.2.** odpowiednio dla metazachloru i pendimetaliny. Uzyskane wyniki skuteczności chwastobójczej badanych mikrosfer wykazały, że działanie hamujące na chwasty zależało od zadanej ilości herbicydów zawartych w mikrosferach. Spośród zalecanych dawek metazachlor był skuteczny po zaaplikowaniu w postaci immobilizowanej w mikrosferach z Terpolimeru i TER/dekstryny. Dawka pendimetaliny zalecana przez producenta była skuteczna tylko wtedy, gdy została unieruchomiona w mikrosferach TER/maltodekstryna. Wyniki tego testu przesiewowego wykazały, że chociaż dawki obu herbicydów zalecane przez producenta były skuteczne, gdy były stosowane w sposób konwencjonalny (nieunieruchomiony), nie były wystarczające, gdy herbicydy zostały immobilizowane w proponowanych mikrosferach. Udowodniono, że podwójna dawka herbicydu w stosunku do zalecanej podczas jednej aplikacji jest zalecana do stosowania w postaci immobilizowanych herbicydów, zawartych w mikrosferze. Obserwowane zjawisko nie związane było z obniżeniem aktywności herbicydów, ale ze względu na to, że przy zachodzącym stopniowym uwalnianiu herbicydu, jego całkowita uwalniania w pierwszym miesiącu z matrycy mikroskopowej dawka wynosiła jedynie około $1/3 - 1/4$ dawki całkowitej wysianej do gleby (dawki zalecanej). Z tego powodu w dalszych eksperymentach zastosowano podwójną zalecaną dawkę herbicydów umieszczonych w mikrosferach (zwiększono ilość wysiewanych mikrosfer w stosunku do ilości pierwotnej dwukrotnie).



Rys. 4.4.3.1. Ocena aktywności chwastobójczej uwolnionego metazachloru z mikrosfer po miesiącu inkubacji w glebie

Tab. 4.4.3.1. Ocena aktywności chwastobójczej metazachloru uwalnianego z mikrosfer po 1 miesiącu ich inkubacji w glebie (skala EWRC). Herbicydy załadowano w 3 dawkach: połowa zalecanej (0,39 mg/doniczka), zalecana dawka (0,79 mg/doniczka) i podwójna dawka (1,5 mg/doniczka)

	TERPOLIMER				TER/maltodekstryna			TER/dekstryna			Kontrola + Herbicyd
	Kontrola	0.39 mg/doniczka	0.79 mg/doniczka	1.5 mg/doniczka	0.39 mg/doniczka	0.79 mg/doniczka	1.5 mg/doniczka	0.39 mg/doniczka	0.79 mg/doniczka	1.5 mg/doniczka	
<i>G. parviflora Cav.</i>	–	3	1	1	5	4	1	8	7	1	1
<i>C. album L.</i>	–	3	1	1	8	3	1	9	6	1	1
<i>R. acetosella L.</i>	–	3	1	1	9	6	1	8	5	1	1

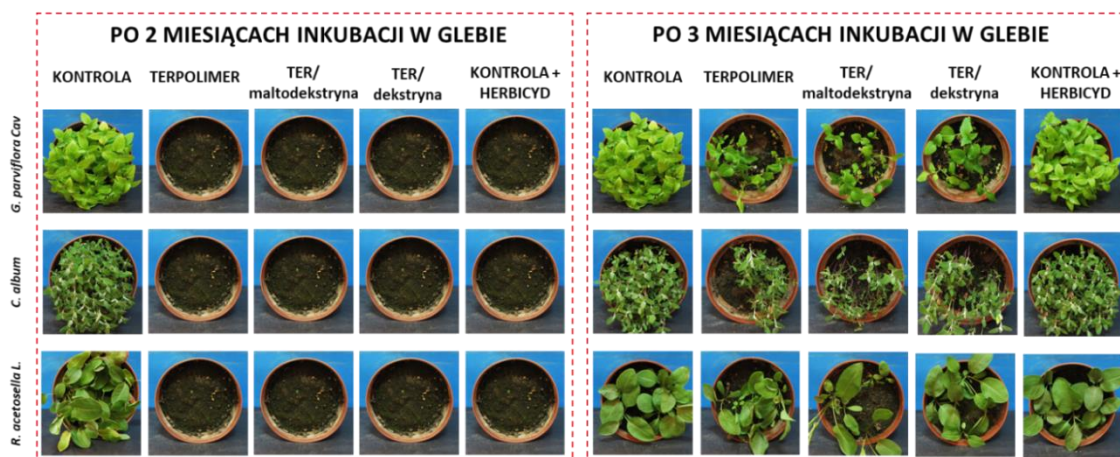


Rys. 4.4.3.2. Ocena aktywności chwastobójczej uwolnionej **pendimetaliny** z mikrosfer po miesiącu inkubacji w glebie

Tab. 4.4.3.2. Ocena aktywności chwastobójczej **pendimetaliny** uwalnianej z mikrosfer po 1 miesiącu ich inkubacji w glebie (skala EWRC). Herbicydy załadowano w 3 dawkach: połowa zalecanej dawki (0,63 mg/doniczka), zalecana (1,26 mg/doniczka) i podwójna dawka (2,52 mg/doniczka)

	TERPOLIMER			TER/maltodekstryna			TER/dekstryna			Kontrola + Herbicyd	
	Kontrola	0.63 mg/doniczka	1.26 mg/doniczka	2.52 mg/doniczka	0.63 mg/doniczka	1.26 mg/doniczka	2.52 mg/doniczka	0.63 mg/doniczka	1.26 mg/doniczka		2.52 mg/doniczka
<i>G. parviflora Cav.</i>	–	7	6	1	8	7	1	9	4	1	1
<i>C. album L.</i>	–	9	8	1	9	5	1	9	8	1	1
<i>R. acetosella L.</i>	–	7	6	1	8	3	2	8	7	1	1

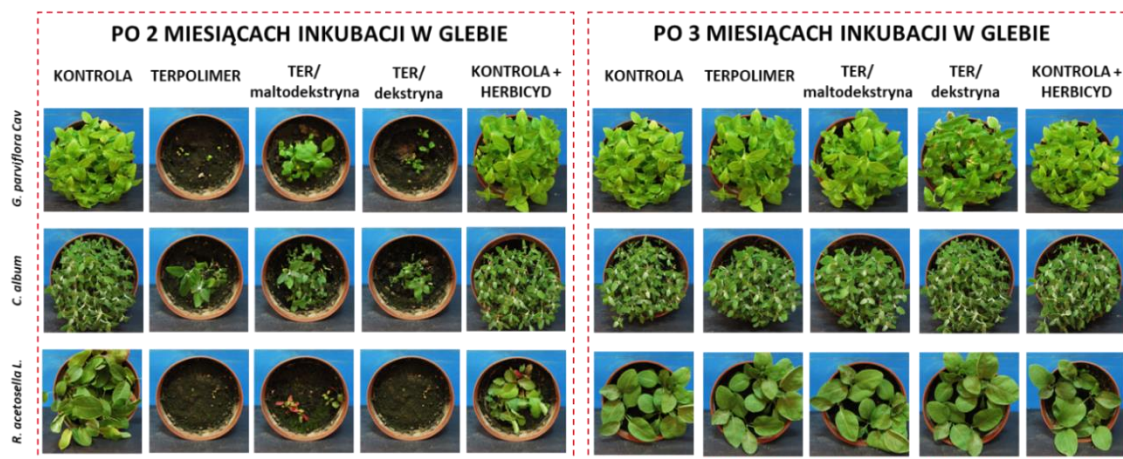
Ponieważ po 1 miesiącu od wysiania nasion, w doniczkach z mikrosferami nie było kiełkujących roślin, w celu sprawdzenia efektywności przedłużonego działania nowej formułacji, po tym czasie wysiano do gleby nowe nasiona, aby ocenić aktywność chwastobójczą systemu w trakcie następnych 3 miesięcy (Rys. 4.4.3.3. i 4.4.3.4). Jako kontrole stosowano próbki bez herbicydu i z podwójną dawką zalecaną odpowiedniego herbicydu.



Rys. 4.4.3.3. Ocena aktywności chwastobójczej uwolnionego metazachloru z mikrosfer w podwójnie zalecanej dawce. Nasiona każdej rośliny wysiano po 2 i 3 miesiącach inkubacji mikrosfer w glebie

Tab. 4.4.3.3. Ocena aktywności chwastobójczej uwolnionego metazachloru z mikrosfer w podwójnie zalecanej dawce (skala EWRC)

	Kontrola	PO 2 MIESIĄCACH INKUBACJI W GLEBIE				PO 3 MIESIĄCACH INKUBACJI W GLEBIE			
		TERPOLIMER	TER/ maltodekstryna	TER/ dekstryna	Kontrola + Herbicyd	TERPOLIMER	TER/ maltodekstryna	TER/ dekstryna	Kontrola + Herbicyd
<i>G. parviflora Cav.</i>	–	1	1	1	1	6	6	6	9
<i>C. album L.</i>	–	1	1	1	1	6	6	6	9
<i>R. acetosella L.</i>	–	1	1	1	1	8	7	8	9



Rys. 4.4.3.4. Ocena aktywności chwastobójczej uwolnionej **pendimetaliny** z mikrosfer w podwójnie zalecanej dawce. Nasiona każdej rośliny wysiano po 2 i 3 miesiącach inkubacji mikrosfer w glebie

Tab. 4.4.3.4. Ocena aktywności chwastobójczej uwolnionej **pendimetaliny** z mikrosfer w podwójnie zalecanej dawce (skala EWRC)

	Kontrola	PO 2 MIESIĄCACH INKUBACJI W GLEBIE				PO 3 MIESIĄCACH INKUBACJI W GLEBIE			
		TERPOLIMER	TER/ maltodekstryna	TER/ dekstryna	Kontrola + Herbicyd	TERPOLIMER	TER/ maltodekstryna	TER/ dekstryna	Kontrola + Herbicyd
<i>G. parviflora Cav.</i>	–	3	6	5	9	9	9	9	9
<i>C. album L.</i>	–	4	6	4	9	9	9	9	9
<i>R. acetosella L.</i>	–	1	3	1	9	9	9	9	9

1: całkowita śmierć roślin (celujące) (100%); 2: bardzo dobre (98,0 do 99,9%); 3: dobre (95,0 do 97,9%); 4: zadowalające (od 90 do 94,9%); 5: mało zadowalające (82,0 do 89,9%); 6: niezadowalające (70,0 do 81,9%); 7: złe (55,0 do 69,9%); 8: bardzo złe (od 30 do 54,9%); 9: brak działania (0,0 do 29,9%).

Immobilizowany w mikrosferach metazachlor we wszystkich typach mikrosfer całkowicie zahamował kiełkowanie nasion po 2 miesiącach jego obecności w glebie. Ten sam efekt zaobserwowano w przypadku nieimmobilizowanego herbicydu. Warto jednak zauważyć, że aktywność chwastobójcza metazachloru oceniana zgodnie ze skalą EWRC po 3 miesiącach inkubacji mikrosfer w glebie (Tab. 4.4.3.3.) ujawniła, że kapsułkowana substancja czynna była bardziej skuteczna przeciwko badanym chwastom (EWRC: 6 w skali ocen przeciwko *G. parviflorai* *C. album*) niż w przypadku nieimmobilizowanej (EWRC: 9 w skali ocen wobec wszystkich badanych gatunków chwastów). Zmniejszona aktywność chwastobójcza metazachloru stosowanego w klasycznej, nieimmobilizowanej formie wynika z jego stosunkowo krótkiego okresu półtrwania (DT_{50}) w glebie. Stosowany w formie zamkniętej w mikrosferze jest chroniony przed zewnętrznymi warunkami środowiska glebowego, który zachowuje swoją aktywność przez dłuższy czas. Biorąc pod uwagę te wyniki, możliwe jest kontrolowanie szybkości uwalniania

herbicydów z użytych mikrosfer poprzez dobór stosowanej dawki substancji czynnej (ilość mikrosfer na powierzchnie uprawianą). Zamiast wielokrotnego stosowania klasycznej formulacji preparatu chwastobójczego, jednorazowe immobilizowanie wyższej dawki metazachloru w proponowanych mikrosferach (najlepiej wyższej niż dawka badana, np. dawka potrójna) powinien w wyniku stopniowego uwalniania tego herbicydu przez okres całego sezonu wegetacyjnego skutecznie hamować wzrost chwastów. Rozwiązanie takie powinno być również bardzo korzystne z punktu widzenia ochrony środowiska (mniejsza ilość koniecznych aplikacji, oraz sumarycznie mniejsza ilość wymaganego herbicydu, ograniczenie migracji herbicydu do wód gruntowych). Opracowane systemy uwalniania zawierające herbicydy należy testować pod kątem przydatności w dalszych, bardziej kompleksowych badaniach aplikacyjnych w rzeczywistych warunkach polowych dostosowanych do konkretnych upraw.

Przeprowadzono analogiczne z udziałem mikrosfer będących nośnikiem pentametaliny. Mikrosfery zawierające ten herbicyd wykazały aktywność chwastobójczą po 1 i 2 miesiącach inkubacji, niezależnie od rodzaju zastosowanych doglebowo mikrosfer. Należy tu podkreślić, że po 2 miesiącach pendimetalina uwalniana z mikrosfer była znacznie bardziej skuteczna w stosunku do badanych chwastów niż herbicyd w postaci tradycyjnej formulacji (**Tab. 4.4.3.4.**) efektywność takiego rozwiązania wydaje się dla tego herbicydu jeszcze większa. Po obsianiu chwastami po 3 miesiącach, podobnie jak w wypadku stosowania metazachloru nie potwierdzono aktywności herbicydu zarówno w próbkach kontrolnych, jak i uwalnianego z mikrosfer.

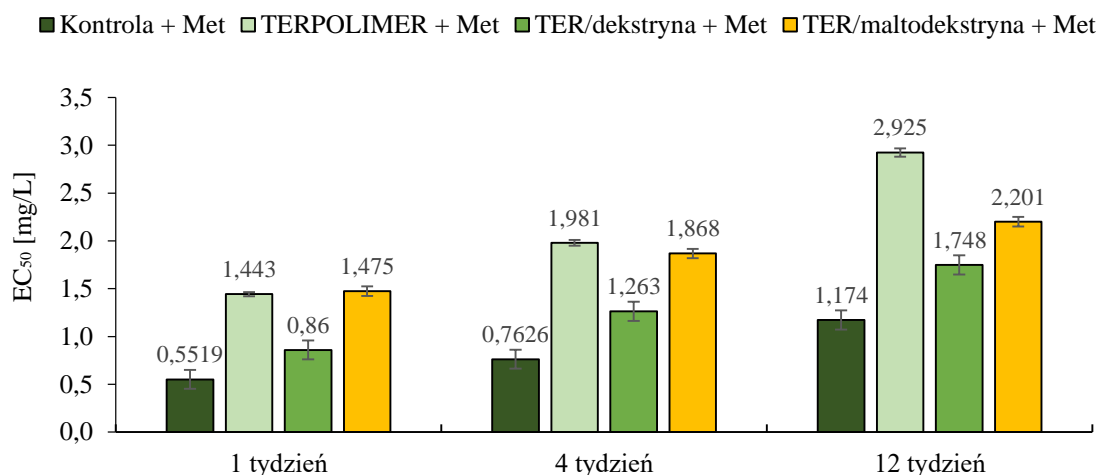
Przeprowadzone badania potwierdziły właściwości ochronne zastosowanych mikrosfer, oraz przydatność formowanych systemów. Należy jednak stosować znacznie większe sumaryczne dawki herbicydu na powierzchnie niż zalecana przez producenta do jednokrotnej aplikacji. (potrzebna jest 2, 3 krotność dawki zalecanej). Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono najwyższą przydatność mikrosfer formowanych z terpolimeru PLGA-PEG-PLGA i z mieszaniny polimerowej zawierającej modyfikowaną dekstrynę.

4.4.4. Ocena toksyczności produktów degradacji nośników polimerowych w glebie

W kolejnym etapie przeprowadzono badania, których celem było oszacowanie zakładanego wpływu immobilizacji herbicydów na zmniejszenie toksyczności zabiegu walki z chwastami. Ocenę prowadzono na podstawie badania wpływu zabiegu podania herbicydów doglebowo na stopień tosykacji *A. fischeri* jako organizmu testowego. Wartości EC₅₀ (stężenie skuteczne, statystycznie obliczone, które indukuje efekt toksykacji u 50% tych bakterii) w określonych warunkach przeprowadzono i wyliczono z pomocą specjalnie do tego typu badań wykonanego systemu Microtox Analyzer. Wyniki te obrazuje dla metazachloru **Tab. 4.4.4.1.** i **Rys. 4.4.4.1.** oraz **Tab. 4.4.4.2.** i **Rys. 4.4.4.2.** dla pendimetaliny.

Tabela 4.4.4.1. Wartości Microtox® EC₅₀ (mg/L) narażenia luminescencyjnych bakterii morskich *A. fischeri* na badaną glebę z mikrosferami (TERPOLIMER, TER/dekstryna, TER/maltodekstryna) z **metazachlorem (Met)** odpowiadające 95% granicom ufności (w nawiasach) uzyskane w dopasowaniu danych

1 tydzień		4 tydzień		12 tydzień	
EC ₅₀ (Dolna granica; Górna granica [mg/L])	Współczynnik determinacji (R ²)	EC ₅₀ (Dolna granica; Górna granica [mg/L])	Współczynnik determinacji (R ²)	EC ₅₀ (Dolna granica; Górna granica [mg/L])	Współczynnik determinacji (R ²)
Kontrola + Met					
0.552 (0.450; 0.677)	0.957	0.763 (0.647; 0.899)	0.973	1.174 (1.025; 1.344)	0.978
TERPOLIMER + Met					
1.443 (1.138; 1.831)	0.936	1.981 (1.572; 2.496)	0.947	2.925 (1.963; 4.357)	0.845
TER/dekstryna + Met					
0.860 (0.719; 1.029)	0.965	1.263 (1.089; 1.466)	0.978	1.748 (1.529; 1.999)	0.977
TER/maltodekstryna + Met					
1.475 (1.164;1.869)	0.926	1.868 (1.315; 2.652)	0.823	2.201 (1.860; 2.605)	0.958

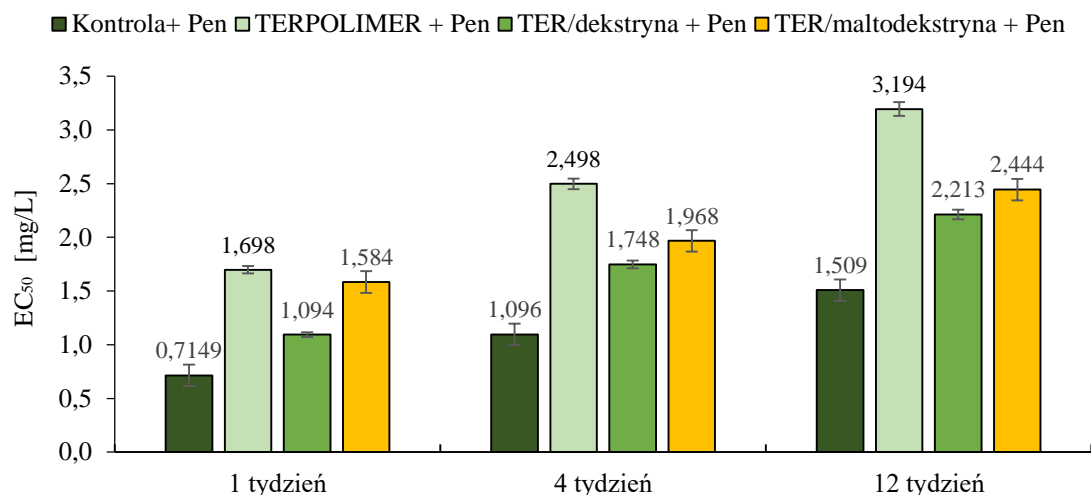


Rys. 4.4.4.1. Wartości EC₅₀ badanej gleby z mikrosferami (TERPOLIMER, TER/dekstryna, TER/maltodekstryna) obciążonej metazachlorem zmierzone podczas ekspozycji na *A. fischeri*

Zgodnie z oczekiwaniami najwyższą toksykację *A. fischeri* stwierdzono w glebie zawierającej obydwie tradycyjne formułacje herbicydów.

Tabela 4.4.4.2. Wartości Microtox® EC₅₀ (mg/L) narażenia luminescencyjnych bakterii morskich *A. fischeri* na badaną glebę z mikrosferami (TERPOLIMER, TER/dekstryna, TER/maltodekstryna) z **pendimetaliną (Pen)** odpowiednio do 95% granic ufności (w nawiasach) uzyskane w dopasowaniu danych

1 tydzień		4 tydzień		12 tydzień	
EC ₅₀ (Dolna granica; Górna granica, [mg/L])	Współczynnik determinacji (R ²)	EC ₅₀ (Dolna granica; Górna granica [mg/L])	Współczynnik determinacji (R ²)	EC ₅₀ (Dolna granica; Górna granica [mg/L])	Współczynnik determinacji (R ²)
Kontrola + Pen					
0.715 (0.589; 0.868)	0.961	1.096 (0.971; 1.237)	0.985	1.509 (1.408; 1.618)	0.995
TERPOLIMER + Pen					
1.698 (1.362; 2.116)	0.949	2.498 (1.926; 3.239)	0.933	3.194 (2.423; 4.211)	0.906
TER/dekstryna + Pen					
1.094 (0.937; 1.278)	0.973	1.748 (1.568; 1.949)	0.988	2.213 (1.950; 2.512)	0.985
TER/maltodekstryna + Pen					
1.584 (1.322; 1.897)	0.965	1.968 (1.648; 2.349)	0.963	2.444 (1.978; 3.019)	0.939



Rys. 4.4.4.2. Wartości EC_{50} badanej gleby z mikrosferami (TERPOLIMER, TER/dekstryna, TER/maltodekstryna) obciążonej pendimetaliną zmierzone podczas ekspozycji na *A. fischeri*

Skuteczna wartość stężenia (EC_{50}) zmierzona za pomocą oprogramowania Microtox Analyzer po 1 tygodniu obecności herbicydów, czy mikrosfer napełnionych herbicydami w glebie, wykazała następującą kolejność w wartościach toksyczności badanych próbek gleby: najwyższa toksyczność gleba obciążona nieimmobilizowanymi herbicydami > gleba z immobilizowanymi herbicydami w mikrosferach TER/dekstryna > gleba z mikrosferami zawierającymi herbicydy formowanymi z TER/maltodekstryna > gleba z mikrosferami zawierającymi herbicydy formowanymi z Terpolimeru. We wszystkich próbkach dawka herbicydów była identyczna. W czasie eksperymentu wszystkie wartości EC_{50} wzrastały w tej samej kolejności. Oznacza to, że toksyczność wszystkich próbek ulegała spadkowi w czasie, gdy herbicydy były inkubowane w glebie. Wśród mikrosfer, niezależnie od rodzaju herbicydu w nich obecnego, stwierdzono, że próbki zawierające mikrosfery formowane Terpolimeru były najmniej toksyczne dla *A. fischeri* w każdym okresie czasu w porównaniu z mikrosferami formowanymi z mieszanin polimerowych zawierających modyfikowaną maltodekstrynę czy dekstrynę. Mikrosfery TER/dekstryna i TER/maltodekstryna zawierające oba herbicydy wykazały prawdopodobnie większy negatywny wpływ na badane gatunki bakterii ze względu na szybsze początkowe uwalnianie substancji czynnych spowodowane silną erozją powierzchniową mikrosfer i degradację modyfikowanych sacharydów, jak opisano wcześniej. Porównanie stopnia toksyczności mikrosfer zawierających pochodne maltodekstryny i dekstryny wykazało, że te ostatnie wykazują nieco wyższą toksyczność wobec *A. fischeri*, co trudno jest jednoznacznie wytłumaczyć.

Uzyskane wyniki wykazały, że proponowany system kontrolowanego uwalniania wykorzystujący jako nośnik herbicydu biodegradowalne mikrosfery, jest wyraźnie mniej toksycznym dla badanych gatunków bakterii *A. fischeri* niż nieimmobilizowane, formułowane tradycyjnie. Stosowanie takich systemów jest zatem bardzo korzystne z punktu widzenia ochrony środowiska, ponieważ umożliwiają uwalnianie herbicydów przez kilkanaście tygodni zapewniające aktywność chroniąca przed wzrostem chwastów przez cały ten okres i jednocześnie zmniejszają ekotoksyczne działanie substancji czynnych stosowanych podczas tego agrochemicznego zabiegu. Wstępnie opracowane systemy agrochemikaliów o przedłużonym uwalnianiu powinny znacznie poprawić jakość intensywnie uprawianych obszarów rolnych, zwłaszcza populacji mikroorganizmów wód podziemnych. Ponadto systemy te pozwolą na zmniejszenie wymaganej ilości herbicydów zapewniających ochronę przez cały okres wegetacji uprawy, jak i liczbę koniecznych zabiegów w sezonie wzrostu roślin [276-278].

V. Podsumowanie i wnioski

Badania syntezy oraz modyfikacji biodegradowalnych materiałów polimerowych do celów rolniczych to temat prężnie rozwijający się w ostatnich dziesięcioleciach. Dzisiejsze rolnictwo poszukuje nowych materiałów, niezagrażających środowisku, pozwalających rozwiązać problemy z ociepleniem gleby, ochroną wilgoci, długotrwałym kontrolowanym dostarczaniu odpowiednio dobranych nawozów, jak i związków chemicznych zwalczających szkodniki, grzyby oraz chwasty. W ostatnich latach zaczęto dość szeroko stosować popularne tworzywa sztuczne w zabiegach agrotechnicznych, ale widoczne problemy z późniejszą utylizacją tych materiałów i realne zagrożenie dla środowiska związane z powszechnym stosowaniem takich polimerów spowodowała konieczność zamiany ich na biodegradowalne – niezagrażające środowisku. Badania nad degradacją polimerów do zastosowań w agrochemii w zdecydowanej większości skupiają się na takim doborze ich składu, struktury łańcucha czy formy zastosowania, aby czas ich degradacji zachodzący podczas aplikacji był zbliżony do okresu wegetacji uprawianych roślin. Nie jest to jednak proste, ponieważ typowe warunki polowe, to w porównaniu do dotychczasowego zastosowania tego typu materiałów w medycynie, czy podczas utylizacji w warunkach kompostowania, cechują znacznie niższe średnie temperatury, jak i znacznie niższa wilgotność. Dlatego w tego typu materiałach ważnym staje się wymóg ich dużej podatności na degradację enzymatyczną. Tego warunku nie spełnia większość popularnych syntetycznych poliestrów alifatycznych, z powodzeniem stosowanych dotychczas w zastosowaniach biomedycznych, czy opakowaniowych. Z kolei polimery naturalne, takie jak polisacharydy charakteryzuje zbyt duża szybkość degradacji w warunkach polowych. Prawdopodobnie z tego powodu przeprowadzono dotychczas bardzo niewiele badań nad formułą systemów polimer/herbicyd o przedłużonej aktywności. Szczególnie brak jest badań nad immobilizacją herbicydów stosowanych doglebowo, takich jak powszechnie stosowane: metazachlor i pendimetalina [279, 280].

Polimery, które mają pełnić rolę biodegradowalnych nośników w procesach uwalniania czynników aktywnych – takich jak herbicydy stosowane doglebowo, muszą pozwolić na stopniowe, ale optymalne uwalnianie tych substancji aktywnych przez okres minimum 3 – 5 miesięcy. W badaniach, które opisuje praca, celem było uzyskanie materiału polimerowego, który spełnia te wymogi. Aby jednak uzyskać odpowiedni materiał biodegradowalny, musi on cechować się odpowiednim równomiernym profilem degradacji w rzeczywistych warunkach aplikacji. Poprzez umożliwienie występowania efektów dyfuzji i osmozy – związanych z erozją powierzchni nośnika musi on zapewniać odpowiednie tempo uwalniania immobilizowanej w matrycy substancji.

W pierwszym etapie badań przetestowano przydatność biodegradowalnych terpolimerów zawierających jednostki laktydylu, glikolidylu i glikolu etylenowego do kontrolowanego uwalniania substancji agrochemicznych. W oparciu o uzyskane w przeprowadzonych badaniach wyniki, stwierdzono, że wprowadzenie bloku PEG do łańcucha kopolimeru PLGA nawet w niewielkiej ilości, zwiększa hydrofilowość tego materiału na tyle, aby wyraźnie zwiększyć jego podatność na degradację hydrolityczną i enzymatyczną [281]. Nawet niewielka ilość sekwencji PEG (około 10% wag.), umożliwia silne działanie enzymów w zachodzącym procesie degradacji, co dość nieoczekiwanie diametralnie zmienia profil degradacji tych kopolimerów w warunkach polowych i powoduje występowanie bardzo silnych procesów erozyjnych. W efekcie uzyskano kontrolowany, zbliżony do wymaganej szybkości proces uwalniania herbicydów z takiego nośnika. Proponowany system uwalniania wydaje się szczególnie interesujący w przypadku długotrwałego uwalniania biologicznie aktywnych związków o bardzo niskiej rozpuszczalności w wodzie, takich jak pendimetalina, gdzie głównym narzędziem uwalniania jest degradacja matrycy związana z jej erozją powierzchniową.

Ponieważ jednak, szybkość uwalniania związana z tempem degradacji materiału była niewystarczająca, aby zagwarantować uwolnienie całej ilości testowanych herbicydów w ciągu około 4 miesięcy (średni okres wegetacji roślin do zbioru), konieczne była w dalszym etapie badań modyfikacja tego nośnika, umożliwiająca intensywniejszą degradację enzymatyczną. W tym celu wprowadzono do formowanego materiału odpowiednio zmodyfikowane oligosacharydy, w najprostszym sposobie, poprzez wytworzenie mieszaniny polimerowej.

Dekstryna-g-PCL i maltodekstryna-g-PCL były dobrymi kandydatami do tej roli, ponieważ mieszaniny te są rozpuszczalne w wodzie i łatwo ulegają biodegradacji w glebie nawet o małej wilgotności. Należało jednak zmodyfikować te oligosacharydy, aby nie były one rozpuszczalne w wodzie, a przez to, aby nie mogły być łatwo wymywane z matrycy w trakcie eksploatacji. Jednocześnie na drodze modyfikacji chemicznej dekstryn, poprzez szczepienie łańcuchów tych oligosacharydów łańcuchami polikaprolaktonu zwiększono ich mieszalność z terpolimerem estrowo-eterowym, co pozwoliło na otrzymanie praktycznie jednorodnych mieszanin. Mieszanie umiarkowanie hydrofobowego terpolimeru PLGA-PEG-PLGA z hydrofilowymi polimerami na bazie oligosacharydów daje możliwość kontrolowania szybkości degradacji takich materiałów. Enzymatyczna degradacja zmodyfikowanych dekstryn spowodowała silną wgłębną

erozję polimeru, prowadząc w ten sposób do przyspieszenia dyfuzji wody do matrycy polimerowej i umożliwiając łatwiejsze wymywanie herbicydów poza nośnik.

Opracowano optymalny skład mieszaniny, który w roli matrycy pozwolił na bardzo równomierne uwalnianie prawie 90% całości immobilizowanych herbicydów przez okres ponad 3 miesiące. Ponieważ średni sezon wegetacyjny roślin uprawnych wynosi kilka miesięcy, optymalnym czasem uwalniania herbicydu do korzenia tych roślin są 3 – 4 miesiące. Biorąc pod uwagę wysoką wrażliwość modyfikowanych dekstryn na działanie enzymatyczne wywołane bakteriami obecnymi w glebie, ich obecność w formowanej mieszaninie w porównaniu do nośników analogicznych formowanych z terpolimerów PLGA-PEG-PLGA wyraźnie przyspiesza pierwszą fazę degradacji. Ta intensywna enzymatyczna degradacja zmodyfikowanej dekstryny powoduje silny efekt ługowania produktów degradacji (głównie cukry), prowadząc w ten sposób do przyspieszenia dyfuzji wody do nośnika polimerowego i umożliwiając stopniowe zwiększenie szybkości degradacji hydrolitycznej. W efekcie pomimo spadku zawartości herbicydu w polimerze, jaki zachodzi z czasem, uzyskujemy stałość dawki uwalnianej z nośnika. Uzyskano praktycznie liniową zależność uwalnianej dawki od czasu. Taki efekt jest bardzo oczekiwany, ale najczęściej bardzo trudny do uzyskania.

Opracowane systemy dostarczają w sposób ciągły herbicydy w niezmienionej formie do gleby w przeciągu kilku miesięcy. Wśród badanych systemów uwalniających metazachlor, te zawierające szczepioną dekstrynę były znacznie bardziej efektywne niż nośniki wykonane z mieszaniny z szczepioną maltodekstryną, prawdopodobnie ze względu na różnice w charakterystyce absorpcji wody przez te kopolimery. Testowany system kontrolowanego uwalniania nie jest w pełni skuteczny w wypadku uwalniania związków praktycznie nierozpuszczalnych w wodzie takich jak pendimetalina. Prawdopodobnie głównie właśnie ze względu na wyjątkowo niską rozpuszczalność tego herbicydu w wodzie, co jest jednym z najważniejszych czynników determinujących szybkość uwalniania unieruchomionych w matrycy polimerowej substancji czynnych. Chociaż pendimetalina immobilizowana w mieszaninie zawierającej zmodyfikowaną dekstrynę wykazywała proces stopniowego uwalniania w ciągu 3 miesięcy, szybkość uwalniania nie była na tyle zadowalająca aby móc osiągnąć w założonym czasie uwolnienie całości tego herbicydu.

Aby zwiększyć szybkość uwalniania, postanowiono więc zmienić formę nośnika. Poprzez zwiększenie powierzchni właściwej matrycy (formowanie nośnika w postaci

mikrocząstek) oczekiwano wyraźnego przyspieszenia degradacji i tempa uwalniania środka aktywnego w niej zdyspergowanego.

Z syntezowanych materiałów polimerowych, a mianowicie PLGA-PEG-PLGA (Terpolimer), PLGA-PEG-PLGA/dekstryna-g-PCL (TER/dekstryna) i PLGA-PEG-PLGA/maltodekstryna-g-PCL (TER/maltodekstryna), możliwe jest uzyskanie mikrosfer, które mogą zawierać herbicydy lub inne związki aktywne do 20-30% wag.

Uzyskane wyniki badań wykazały, że stopniowa utrata masy i erozja powierzchni mikrosfer umożliwiła, podobnie jak w wypadku badanych wcześniej matryc w postaci cienkiej folii, przedłużone uwalnianie substancji czynnej do kilku miesięcy. Zamierzony efekt przyspieszenia degradacji w formie mikrosfery i uwalniania immobilizowanego herbicydu wystąpił wyraźnie jednak jedynie w wypadku mikrosfer formowanych z Terpolimeru. W wypadku mikrosfer otrzymywanych z mieszanin polimerowych efekt ten był znacznie mniejszy. W wyniku tego zjawiska, niezależnie od rodzaju zastosowanego materiału polimerowego, tempo uwalniania herbicydu było dość zbliżone. Szybkość degradacji mikrosfer związana ze stopniowym uwalnianiem obu badanych herbicydów stosowanych w glebie (metazachloru i pendimetaliny) zapewniała skuteczną ochronę roślin uprawnych przed badanymi chwastami przez 2 – 3 miesiące po wprowadzeniu do gleby. W tym czasie uzyskano w miarę równomierne dozowanie uwalnianego herbicydu. Uzyskane wyniki wskazują, że jest możliwe wykonanie nośników w postaci mikrosfer, które mogą uwalniać herbicydy przez cały sezon wzrostu roślin. Udowodniono, że opracowana metoda immobilizacji chroni herbicydy przed ich zbyt wczesną degradacją utrzymując w ten sposób ich aktywność przez dłuższy wymagany okres czasu niż w przypadku stosowania formulacji klasycznej tych herbicydów. Dodatkowo forma mikrosfer jest łatwa w aplikacji, w postaci zawiesiny wodnej.

Ponadto na podstawie przeprowadzonych wstępnych badań ekotoksyczności dowiedziono, że proponowany sposób aplikacji herbicydów jest wyraźnie bardziej przyjazny dla środowiska, niż metody obecnie powszechnie stosowane.

WNIOSKI SZCZEGÓŁOWE

1. Zwiększenie hydrofilowości łańcucha kopolimeru PLGA poprzez dodanie nawet niewielkiej ilości bloku PEG (ok. 10% wag.) istotnie zwiększa podatność materiału na degradację hydrolityczną i enzymatyczną.
2. Tworzenie mieszanin umiarkowanie hydrofobowego terpolimeru PLGA-PEG-PLGA z hydrofilowymi polimerami na bazie oligosacharydów (dekstryny, maltodekstryny) daje możliwość kontrolowania szybkości degradacji mieszanin.
3. Formowanie nośnika w postaci mikrocząstek wyraźnie przyspiesza jego degradację i tempo uwalniania substancji aktywnych. Proponowane mikrosfery były mniej toksyczne niż klasyczny, niepowlekany dotychczas stosowany preparat chwastobójczy.
4. Potwierdzono praktyczną skuteczność działania immobilizowanych według opracowanej metody herbicydów (metazachloru, pendimetaliny) w procesie kontrolowanego uwalniania na wybranych gatunkach niepożądanych w uprawach roślin takich jak: komosa biała, żóltlica drobnokwiatowa oraz szczaw polny, w warunkach laboratoryjnych.
5. Proponowany system kontrolowanego uwalniania przyczynia się do redukcji intensywnych zabiegów agrotechnicznych oraz znacząco zmniejsza negatywny wpływ pestycydów na środowisko.

Na podstawie wyków badań własnych oraz sformułowanych powyżej wniosków szczegółowych można stwierdzić prawdziwość postawionej tezy pracy, stwierdzającej, **że otrzymywane nośniki polimerowe na bazie specjalnie do tego celu syntezowanych kopoliestrów, oraz modyfikowanych oligosacharydów charakteryzują się korzystnymi właściwościami fizykochemicznymi pozwalającymi na relatywnie łatwe formowanie z nich trwałych folii i mikrocząstek, czasem degradacji oraz profilem uwalniania wybranych modelowych substancji aktywnych optymalnym dla planowanego zastosowania w rolnictwie.**

VI. Literatura cytowana

1. Kowalska G., Kowalski R. Pesticides – scope and risk of use, benefits and hazards. A review. *Annales Horticulturae*, **2019**, 29(2), 5-25.
2. Wrzosek J., Gworek B., Maciaszek D. Środki ochrony roślin w aspekcie ochrony środowiska. *Ochr. Śr. Zasobów Nat.* **2009**, 2(39), 75–88.
3. Kilanowicz A. Pestycydy. w: J.K. Piotrowski (red.), Podstawy toksykologii. WNT, Warszawa, **2006**, 319–355.
4. Aktar M.W., Sengupta D., Chowdhury A. Impact of pesticides use in agriculture: heir benefits and hazards. *Interdisc. Toxicol.* **2009**, 2(1), 1–12.
5. Debnath M., Khan M.S. Health concerns of pesticides. w: M. Samad Khan, M. Shafiur Rahman (red.), Pesticide Residue in Foods. Sources, management, and control. *Springer*, Cham, **2017**, 103–118.
6. Rajveer K., Gurjot K.M., Shweta R. Pesticides classification and its impact on environment. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* **2019**, 8(3), 1889–1897.
7. Seńczuk W. Toksykologia. PZWL, Warszawa **2002**.
8. Żelechowska A., Biziuk M., Wiergowski M. Charakterystyka pestycydów. w: M. Biziuk (red.), Pestycydy – występowanie, oznaczanie i unieszkodliwianie. WNT, Warszawa, **2001**, 15–43
9. Rajveer K., Gurjot K.M., Shweta R. Pesticides classification and its impact on environment. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* **2019**, 8(3), 1889–1897.
10. Praczyk T., Skrzypczak G. Herbicydy, *Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne*, Poznań, **2004**.
11. Sadowski J. Środowiskowe skutki pozostałości herbicydów. *Materiały Szkoleniowe nr 94*, Puławy, **2009**.
12. Sadowski J., Kucharski M., Sekutowski T. Ocena zagrożeń upraw następczych przez pozostałości wybranych herbicydów stosowanych w uprawach rzepaku. *Prog. Plant Protection/Post. Ochr. Roślin* **2007**, 47 (3), 246-253.
13. Łukasik-Głębocka M., Sein Anand J. Środki ochrony roślin. w: J. Pach (red.), Zarys toksykologii klinicznej. *Wyd. UJ*, Kraków, **2009**, 493–522.
14. Kol B., Robert L., Lori J.W. Effect of stream application on cropland weeds. *Weed Tech.* **2002**, 16: 43–49.
15. Woźnica Z. Herbologia. Podstawy biologii ekologii i zwalczania chwastów. *Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne*, Poznań **2008**.
16. Grygiel K., Sadowski J., Snopczyński T., Wysocki A., Herbicide residues in agricultural products and in the soil, *J.Ecol.Health.* **2012**, 16 (4), 159-163.

17. Badach H., Nazimek T., Kamińska I.A. Pesticide content in drinking water samples collected from orchard areas in central Poland. *Ann. Agric. Environ. Med.* **2007**, 14(1), 109 - 114.
18. Biziuk M. Praca zbiorowa. Pestycydy - występowanie, oznaczanie i unieszkodliwianie, WNT, Warszawa **2001**.
19. Błaszak M., Nowak A. Zmiany aktywności enzymatycznej drobnoustrojów glebowych po zastosowaniu pestycydów. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.* **2006**, 515, 299 - 308.
20. Chowdhury A., Pradhan S., Saha M., Sanyal N. Impact of pesticides on soil microbiological parameters and possible bioremediation strategies. *Indian J. Microbiol.* **2008**, 48, 114 - 127.
21. Corstanje R., Reddy K.R. Microbial indicators of nutrient enrichment. *Soil Soc. Am. J.* **2006**, 70: 1652 – 1661.
22. Sannino F., Gianfreda L. Pesticide influence on soil enzymatic activities. *Chemosphere* **2001**, 45, 417 - 425.
23. Kierzek R., Ratajkiewicz H. Wpływ adiuwantów i parametrów opryskiwania na retencję cieczy na liściach w wybranych roślinach jednoliściennych. *Progress in Plant Protection* **2004**. 44(2), 828 - 831.
24. Adil A., Hussein El., Mohamed A.T., Marmar A., Siddig E., Ashraf S.M., Osman A.G. Effects of Oxyfluorfen Herbicide on Microorganisms in Loam and Silt Loam Soils. *Research Journal of Environmental Sciences* **2012**, 6, 134 -145
25. Van den Berg, F., Kubiak, R., Benjey, W.G. Emission of pesticides into the air. *Water, Air, and Soil Pollution* **1999**, 115, 195–218.
26. Hofman, V., Solseng, E. Reducing Spray Drift. North Dakota State University. **2001**.
27. Kosikowska M., Biziuk M. Przegląd metod oznaczania pozostałości pestycydów w próbkach powietrza. *Ecol. Chem. Eng.* **2009**, 16(2), 207–220.
28. Sadegh-Zadeh F., Wahid. S.A., Jalili B. Sorption, degradation and leaching of pesticides in soils amended with organic matter: A review. *Adv. Environ. Tech.* **2017**, 2, 119–132.
29. Gmurek M., Olak-Kucharczyk M., Ledakowicz S. Photochemical decomposition of endocrine disrupting compounds – A review. *Chem. Engin J.* **2017**, 310, 437–456.

30. Hultgren R.P., Hudson R.J.M., Sims G.K. Effects of soil pH and soil water content on prosulfuron dissipation. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 3236–3243.
31. Thuyet D.Q., Watanabe H., Ok J. Effect of pH on the degradation of imidacloprid and fipronil in paddy water. *J. Pestic. Sci.* **2013**, 38:223–227.
32. Paszko T., Muszynski P., Materska M., Bajanowska M., Kostecka M., Jackowska I. Adsorption and degradation of phenoxyalkanoic acid herbicides in soils: A review. *Environ. Tox. Chem.* **2016**, 35, 271–286.
33. Wauchope R.D., Johnson W.C., Sumner H.R., Foliar and soil deposition of pesticide sprays in peanuts and their washoff and runoff under simulated worstcase rainfall conditions. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 7056–7063.
34. Lewan E., Kreuger J., Jarvis N. Implications of precipitation patterns and antecedent soil water content for leaching of pesticides from arable land. *Agric. Water Manag.* **2009**, 96, 1633–1640.
35. Pérez-Lucas G., Vela N., Aatik A.E., Navarro S. Environmental risk of groundwater pollution by pesticide leaching through the soil profile. w: M. Larramendy, S. Soloneski (red.), Pesticides – use and misuse and their impact in the environment. *IntechOpen*, **2018**, 1–27.
36. Malinowska E., Jankowski K. Pesticides residues in some herbs growing in agricultural areas in Poland. *Environ. Monit. Assess.* **2015**, 187, 77.
37. Struciński P., Góralczyk K., Czaja K., Hernik A., Korcz W., Ludwicki J.K. Ocena ryzyka związana z narażeniem na pozostałości pestycydów w żywności pochodzenia roślinnego na etapie rejestracji środka ochrony roślin, *Rocz. Panstw. Zakł Hig.* **2006**, 57(4), 303-315.
38. Gilden R.C., Huffling K., Sattler. B., Pesticides and health risk. *J. Obstet. Gynecol. Neonatal Nurs.* **2010**, 39(1), 103–110.
39. Grotowska M., Janda K., Jakubczyk K., Wpływ pestycydów na zdrowie człowieka. *Pomeranian J. Life Sci.* **2018**, 64(2), 42–50.
40. Dobosz B., Jaskólecki H. Pozostałości pestycydów w żywności pochodzenia roślinnego, *Problemy Ekologii*, **2007**, 11, 4.
41. Ebrahimi A.A., Khoshtaghaza A.H., Minaei S., Jamshidi B. Methods and applications of new technologies used for reducing of chemical usage and controlling of pests (A review). *Agric. Eng. Int.* **2018**, 20(2), 144–153.

42. WHO (World Health Organization), The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2009. WHO, Press, Geneva **2010**.
43. Ustawa z dnia 12 kwietnia 2013 r. o środkach ochrony roślin (*Dz.U. 2013, poz. 455, ze zm.*) – dostęp: 07.02.2020
44. EFSA (European Food Safety Authority), The 2017 European Union Report on Pesticide Residues in Food. *EFSA J.* **2019**. 17(6), 5743.
45. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1107/2009 z dnia 21 października 2009r. dotyczące wprowadzenia do obrotu środków ochrony roślin i uchylające dyrektywy Rady 79/117/EWG i 91/414/EWG – dostęp: 07.02.2020
46. FAOSTAT (Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations Statistics Division), **2020**. <http://www.fao.org/faostat/en/#home> – dostęp 01.07.2020.
47. Rejestr Środków Ochrony Roślin dopuszczonych do obrotu zezwoleniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (The register of authorized plant protection products) – aktualizacja/update 01.07.2020 r. – <https://www.gov.pl/web/rolnictwo/rejestr-rodkow-ochrony-roslin> - dostęp 07.07.2020
48. Koleva-Valkova L., Vasilev A., Dimitrova M., Stoychev D.. Determination of metazachlor residues in winter oilseed rape (*Brassica napus var. Xenon*) by HPLC, *Emirates Journal of Food and Agriculture*. **2016**. 28(11), 813-817.
49. Kucharski M., Sadowski J. Behaviour of metazachlor applied with additives in soil: Laboratory and field studies, *J. Food Agric. Environ.* **2014**, 9 (3-4), 723-726.
50. Kucharski, M. and J. Sadowski. Metazachlor residues in soil and rape seed. *J. Plant Prot. Res.* **2014**. 54(1), 74-77.
51. Kulshrestha G., Singh S. B., Lal S. P., Yaduraju N. Effect of longterm field application of pendimethalin: Enhanced degradation in soil, *Pest Management Science*, **2000**, 56(2), 202-206
52. Kaur P., Bhullar M.S. Effect of repeated application of pendimethalin on its persistence and dissipation kinetics in soil under field and laboratory conditions, *Environmental Technology*, **2019**, 40, 8.
53. Penczek S., Pretula J., Lewinski P. Polimery z odnawialnych surowców, polimery biodegradowalne, *POLIMERY*, **2013**, 11(12), 833-958.

54. Maharana T., Mohanty B., Negi Y.S. Melt – solid polycondensation of lactic acid and its biodegradability, *Progress in Polymer Science (Oxford) Elsevier Ltd.* **2008**, 34, 1, 99-124
55. Kricheldorf H.R., Boettcher C., Tonnes K.U. Polylactones. 23. Polymerization of racemic and meso d,l-lactide with various organotin catalysts stereochemical aspects. *Polymer.* **1992**, 33,2817–24.
56. Tsuji H., Ikada Y. Crystallization from the melt of poly(lactide)s with different optical purities and their blends. *Macromol. Chem. Phys.* **1996**, 197, 3483–99.
57. Huang J., Lisowski M.S., Runt J., Hall E.S., Kean R.T., Buehler N., Lin S.J. Crystallization and microstructure of poly(l-lactide-co-meso-lactide) copolymers. *Macromolecules.* **1998**, 31, 2593–9.
58. Perego. G., Cella G.D., Basitoli C. Effect of molecular weight and crystallinity on poly(lactic acid) mechanical properties, *J. Appl. Polym. Sci.*, **1996**, 59, 37-43.
59. Van De Velde, K.,Kiekens, P. Biopolymers: overview of several properties and consequences on their applications. *Polym. Test.* **2002**, 21, 433-442.
60. Sodergard A., Stolt M. Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition, *Prog. Polym. Sci.* **2002**, 27, 1123 -1163.
61. Fambri L., Migliaresi C. w: Auras, R., Lim, L.-T., Selke, S.E.M., Tsuji, H. (red.), *Poly(Lactic Acid): Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications.* John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, **2010**, 113-124.
62. Ahmed J., Zhang J., Song Z. Varshnet S.K. Thermal properties of polylactides: effect of molar mass and nature of lactide isomer. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2009**, 95, 957-964.
63. Achmad F., Yamane K., Quan S., Kokugan K. Synthesis of polylactic acid by direct polycondensation under vacuum without catalysts, solvents and initiators. *Chem. Eng. J.* **2009**, 151, 342-350.
64. Perepelkin K.E. Chemistry and technology of chemical fibres, polylactide fibres: fabrications, properties, use, prospect, A review. *Fib Chem.* **2002**, 34, 85-100.
65. Saeidlou S., Huneault M.A., Li H., Park C.B. Poly(lactic acid) crystallization. *Prog. Polym. Sci.* **2012**, 37, 1657-1677.
66. Modjarrad K., *Handbook of Polymer Applications in Medicine and Medical Devices, Plastics Design Library*, **2014**, 1-7.
67. Garlotta D. A Literature Review of Poly(Lactic Acid), *J. Polym. Environ.* **2002** (9), 63–84.

68. Tsuji H. Poly(lactic acid) stereocomplexes: a decade of progress. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2016**, 107, 97-135.
69. Shao J., Xiang S., Bian X., Sun J., Li G., Chen X. Remarkable melting behavior of PLA stereocomplex in linear PLLA/PDLA blends. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2015**, 54, 2246-2253.
70. Tsuji H., Ikada Y. Stereocomplex formation between enantiomeric poly(lactic acid)s. XI. Mechanical properties and morphology of solution-cast films. *Polymer*, **1999**, 40, 6699-6708.
71. Saini P., Arora M., Kumar M.N.V.R. Poly(lactic acid) blends in biomedical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2016**, 107, 47-59.
72. Su S., Kopitzky R., Tolga S, Kabasci S. Polylactide (PLA) and Its Blends with Poly(butylene succinate) (PBS): A Brief Review. *Polymers* **2019**, 11 (7), 1193.
73. Standau T., Zhao C., Castellón S.M., Bonten C., Altstädt V. Chemical Modification and Foam Processing of Polylactide (PLA), *Polymers*, **2019**, 11(2), 306.
74. Masutani K., Kimura Y. PLA Synthesis. From the Monomer to the Polymer, w: Poly(lactic acid) Science and Technology: Processing, Properties, Additives and Applications, *Polymer Chemistry Series*, **2014**, 1-36.
75. Carothers W.H., Borough G.L., Natta F.J. Studies of polymerization and ring formation. X. The reversible polymerization of six-membered cyclic esters. *J. Am. Chem. Soc.* **1932**, 54, 761-772.
76. Kim K.W., Woo S.I. Synthesis of high-molecular-weight poly (L-lactic acid) by direct polycondensation. *Macromol. Chem. Phys.* **2002**, 203, 2245-2250.
77. Auras R., Harte B., Selke S., An overview of polylactides as packaging materials , *Macromol. Biosci.* , 4 , 2004 , 835-864
78. Hiltunen K., Seppala J.V., Harkonen M., Lactic acid based poly(ester-urethanes): Use of hydroxyl terminated prepolymer in urethane synthesis, *J. Appl. Polym. Sci.* 63, **1997**, 1091-1100.
79. Achmad F., Yamane K., Quan S., Kokugan T. Synthesis of polylactic acid by direct polycondensation under vacuum without catalysts, solvents and initiators. *Chem. Eng. J.* **2009**, 151, 342-350.
80. Nagahata R., Sano D., Suzuki H., Takeuchi K. Microwave-assisted single-step synthesis of poly(lactic acid) by direct polycondensation of lactic acid. *Macromol. Rapid Commun.* **2007**, 28, 437-442.

81. Hu Y., Daoud W.A., Cheuk K.K.L., Lin C.S.K., Newly Developed Techniques on Polycondensation, Ring-Opening Polymerization and Polymer Modification: Focus on Poly(Lactic Acid), *Materials (Basel)*. **2016**, 9(3), 133.
82. Intan S. M. A. Tawakkal, Marlene J. Cran, Joseph Miltz, Stephen W. Bigger, A Review of Poly(Lactic Acid)-Based Materials for Antimicrobial Packaging, *J. Food Sci.* **2014**, 79, (8).
83. Penczek S., Kubisa P. Cationic activated monomer polymerization of heterocyclic monomers, *Progr Polym Sci.* **1999**, 24, 1409-1437.
84. Baško M., Kubisa P., Cationic Copolymerization of ϵ -Caprolactone and L,L - Lactide by an Activated Monomer Mechanism, *J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem.* **2006**, 44, 7071-7081.
85. Jedliński Z., Wałach W., Kurcok P., Adamus G., Polymerization of lactones, 12. Polymerization of L-dilactide and L,D-dilactide in the presence of potassium methoxide, *Makromol. Chem.*, **1991**, 192, 2051-2057.
86. Kricheldorf H. R., Kreiser-Saunders I., Polylactones, 19. Anionic polymerization of L-lactide in solution, *Makromol. Chem.*, **1990**, 191, 1057-1066.
87. Kricheldorf H. R., Boettcher C., Polylactones 26. Lithium alkoxide-initiated polymerizations of L-lactide, *Makromol. Chem.* **1993**, 194, 1665-1669
88. Bero M., Adamus G., Kasperczyk J., Janeczek H., Synthesis of block copolymers -caprolactone and lactide in the presence of lithium t-butoxide, *Polymer Bulletin*, **1993**, 31, 9-14.
89. Stridsberg K.M., Ryner M., Albertsson A.C., Controlled Ring-Opening Polymerization: Polymers with Designed Macromolecular Architecture, *Adv Polym Sci*, **2002**, 157, 41-65.
90. Bero M., Dobrzynski P., Kasperczyk J. Synthesis of disyndiotactic polylactide. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **1999**, 37, 4038-4042.
91. Ryner M., Stridberg K., Albertsson A.C., Schenck H., Svensson M., Mechanism of Ring-Opening Polymerization of 1,5-Dioxepan-2-one and L-Lactide with Stannous 2-Ethylhexanoate. A Theoretical Study, *Macromolecules*, **2001**, 34 , 3877-3881.
92. Degee P., Dubois P., Jerome R., Jacobsen S., Fritz H.G. New Catalysis for Fast bulk Ring-Opening Polymerization of Lactide Monomers, *Macromol. Symp.* **1999**, 144, 289-302.

93. Dechy-Cabaret O., Martin-Vaca B., Bourissou D., Controlled Ring-Opening Polymerization of Lactide and Glycolide, *Chemical Reviews*, **2004**, 104, 12.
94. Salanki Y., D'eri Y., Platokhin A., Rózsa K.S. The neurotoxicity of environmental pollutants: the effects of tin (Sn^{2+}) on acetylcholine-induced currents in greater pond snail neurons *Neurosci Behav Physiol.* **2000**, 30, 63–73.
95. Bero M., Dobrzyński P., Kasperczyk J., Application of zirconium (IV) acetylacetonate to the copolymerization of glycolide with ϵ -caprolactone and lactide, *Polymer Bulletin*, **1999**, 42, (2) 131-139.
96. Dobrzynski P., Kasperczyk J., Janeczek H., Bero M. Synthesis of Biodegradable Copolymers with the Use of Low Toxic Zirconium Compounds. 1. Copolymerization of Glycolide with L-Lactide Initiated by $\text{Zr}(\text{Acac})_4$, *Macromolecules*, **2001**, 34, 5090–5098.
97. Dobrzynski, P. Synthesis of biodegradable copolymers with low-toxicity zirconium compounds. II. Copolymerization of glycolide with ϵ -caprolactone initiated by zirconium(IV) acetylacetonate and zirconium(IV) chloride. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2002**, 40, 1379–1410.
98. Dobrzynski P. Synthesis of biodegradable copolymers with low-toxicity zirconium compounds. III. Synthesis and chain-microstructure analysis of terpolymer obtained from L-lactide, glycolide, and ϵ -caprolactone initiated by zirconium(IV) acetylacetonate, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2002**, 40, 3129–3143.
99. Dobrzyński P., Pastusiak M., Jaworska J., Kaczmarczyk B., Kwiecień M., Kawalec M. Zirconium (IV) Acetylacetonate: Ring-Opening Initiator Mediating One-Step Synthesis of Biodegradable Polyacids, *Advances in Polymer Technology*, **2019**, ID 3761430.
100. Dobrzynski P., Pastusiak M., Bero M. Less toxic acetylacetonates as initiators of trimethylene carbonate and 2,2-dimethyltrimethylene carbonate ring opening polymerization, *J. Polym. Sci. Part A.* **2005**, 9, 1913-1922.
101. Pastusiak M., Dobrzynski P., Kaczmarczyk B., Kasperczyk J., Smola A., The polymerization mechanism of lactide initiated with zinc (II) acetylacetonatemonohydrate. *Polymer*, **2011**, 52, 5255-5261.

102. Dobrzynski P., Mechanism of 3-caprolactone polymerization and ϵ -caprolactone/ trimethylene carbonate copolymerization carried out with $Zr(Acac)_4$. *Polymer*, **2007**, 48 2263-2279.
103. Albertsson A.C., Varma I.K, Aliphatic Polyesters: Synthesis, Properties and Applications, w: Degradable Aliphatic Polyesters (red) Albertsson A.C. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, **2002**, 1-40.
104. Zhao H., Nathaniel G.A., Merenini P.C, Enzymatic ring-opening polymerization (ROP) of lactides and lactone in ionic liquids and organic solvents: digging the controlling factors. *RCS Advances*, **2017**, 77.
105. Matsumura S., Mabuchi K., Toshima K., Lipase-catalyzed ring-opening polymerization of lactide. *Macromol. Rapid Commun.* **1997**, 18, 477-482.
106. Målberg S., Finne-Wistrand A., Albertsson A.C., The environmental influence in enzymatic polymerization of aliphatic polyesters in bulk and aqueous mini-emulsion. *Polymer*, **2010**, 51, 5318-5322.
107. Houchin M.L., Topp E.M. Physical properties of PLGA films during polymer degradation. *J. Appl. Polym. Sci.* **2009**, 114, 2848-2854.
108. Siegel S.J., Kahn J.B., Metzger K., Winey K.I., Werner K., Dan N. Effect of drug type on the degradation rate of PLGA matrices. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2006**, 64, 287-293.
109. Gentile P., Chiono V., Carmagnola I., Hatton P.V, An Overview of Poly(lactic-co-glycolic) Acid (PLGA)-Based Biomaterials for Bone Tissue Engineering, *Int. J. Mol. Sci.* **2014**, 15(3), 3640-3659.
110. Cheng J., Teply B.A., Sherifi I., Sung J., Luther G., Gu F.X., Levy-Nissenbaum E., Radovic-Moreno A.F., Langer R., Farokhzad O.C. Formulation of functionalized PLGA-PEG Nanoparticles for *in vivo* targeted drug delivery. *Biomaterials.* **2007**, 28, 869-876.
111. Ghahremankhani A.A., Dorkoosh F., Dinarvand R. PLGA-PEG-PLGA triblock copolymers as an in-situ gel forming system for calcitonin delivery. *Polym Bull.* **2007**, 59, 637-646.
112. Jeong B., Bae Y.H., Kim S.W. In situ gelation of PEGPLGAPEG triblock copolymer aqueous solutions and degradation thereof. *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, 50, 171-177.
113. Duvvuri S., Janoria K.G., Mitra A.K. Development of a novel formulation containing poly (D,Llactide-co-glycolide) microspheres dispersed in PLGA-

- PEG-PLGA gel for sustained delivery of ganciclovir. *J. Control. Release.* **2005**, 108, 282-293.
114. Garinot M., Fievez V., Pourcelle V., Stoffelbach F., des Rieux A., Plapied L., Theate I., Freichels H., Jerome C., Marchand-Brynaert J., Schneider Y., Preat V. PEGylated PLGA-based nanoparticles targeting M cells for oral vaccination. *J. Control. Release.* **2007**, 120,195-204.
115. Danhier F., Lecouturier N., Vroman B., Jerome C., Marchand-Brynaert J., Feron O., Preat V. Paclitaxel-loaded PEGylated PLGA-based nanoparticles: In vitro and *in vivo* evaluation. *J. Control. Release.* **2009**, 133, 11-17.
116. Pai S.S., Tilton R.D., Przybycien T.M. Poly(ethylene glycol)-modified proteins: Implications for poly(lactide-co-glycolide)-based microsphere delivery. *AAPS J.* **2009**, 11, 88-98.
117. Makadia H.K., Siege S.J. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. *Polymers (Basel).* **2011**, 3(3), 1377-1397.
118. Dhar S., Gu F.X., Langer R., Farokhzad O.C., Lippard S.J. Targeted delivery of cisplatin to prostate cancer cells by aptamer functionalized Pt(IV) prodrug-PLGA-PEG nanoparticles. *Proc Natl Acad Sci USA.* **2008**, 105,17356 -17361.
119. Krasowska K., Heimowska A., Rutkowska M., Enzymatyczna i hydrolityczna degradacja poli(ϵ -kapolaktonu) w warunkach naturalnych, *POLIMERY*, **2006**, 51(1), 21-26.
120. Raemdonck K., Martens T.F., Braeckmans K., Demeester J., De Smedt S.C. Polysaccharidebased nucleic acid nanoformulations. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2013**, 65, 1123-1147.
121. Liu Z, Jiao Y., Wang Y., Zhou C., Zhang Z. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2008**, 60, 1650-1662.
122. Denardin C.C., da Silva L.P. Starch granules structure and its regards with physicochemical properties. *Ciênc Rural.* **2009**, 39, 945-954.
123. Laycock B.G., Halley P.J. Chapter 14 - starch applications: state of market and new trends. w: Avérus P.J.H. (red.) *Starch Polym. Elsevier*, Amsterdam, **2014**, 381-419.

124. Zhong K., Lin Z.T., Zheng X.L. Jiang G.B., Fang Y.S., Mao X.Y., Liao Z.W., Starch derivative-based superabsorbent with integration of water-retaining and controlled release fertilizers. *Carbohydr. Polym.* **2013**, 92, 1367-1376.
125. Beneke C.E., Viljoen A.M., Hamman J.H. Polymeric plant-derived excipients in drug delivery. *Molecules*, **2009**, 14, 2602-2620.
126. Raafat A.I., Eid M., El-Arnaouty M.B. Radiation synthesis of superabsorbent CMC based hydrogels for agriculture applications. *Nucl. Instrum. Meth. Phys. Res Sect. B-Beam. Interact. Mater At.* **2012**, 283, 71-76.
127. Hemvichian K., Chanthawong A., Suwanmala P. Synthesis and characterization of superabsorbent polymer prepared by radiation induced graft copolymerization of acrylamide onto carboxymethyl cellulose for controlled release of agrochemicals. *Radiat. Phys. Chem.* **2014**, 103, 167-171.
128. Ahmed R.Z., Siddiqui K., Arman M., Ahmed N. Characterization of high molecular weight dextran produced by *Weissella cibaria* CMGD3. *Carbohydr. Polym.* **2012** 90, 441-446.
129. Lv Y., Yang F., Shabbar A., Xiaoming Z., Li X., Formation of heat-resistant nanocapsules of jasmine essential oil via gelatin/gum arabic based complex coacervation. *Food Hydrocoll.* **2014**, 35, 305-314.
130. Mathew A. P., Dufresne A., Plasticized waxy maize starch: Effect of polyols and relative humidity on material properties. *Biomacromolecules*, **2002**, 3, 1101-1108.
131. Wang X. L., Yang K. K., Wang Y. Z., Properties of starch blends with biodegradable polymers. *J. Macromol. Sci., Part C.* **2003**, 43, 385-409.
132. Yu L., Dean K., Li L., Polymer blends and composites from renewable resources. *Prog. Polym. Sci.* **2006**, 31, 502-576.
133. Vargha V., Truter P., Biodegradable polymers by reactive blending transesterification of thermoplastic starch with poly(vinyl acetate) and poly(vinyl acetate-co-butyl acrylate). *Eur. Polym. J.* **2005**, 41, 715-726.
134. Teixeira E. D., Da Roz A. L., de Carvalho A. J. F., Curvelo A. A. S., Preparation and characterisation of thermoplastic starches from cassava starch cassava root and cassava bagasse. *Macromol. Symp.* **2005**, 229, 266-275.
135. Laohakunjit N., Noomhorm A., Effect of plasticizers on mechanical and barrier properties of rice starch film. *Starch/Staerke*, **2004**, 56, 348-356.

136. Da Roz, A. L., Carvalho, A. J. F., Gandini, A., Curvelo, A. A. S., The effect of plasticizers on thermoplastic starch compositions obtained by melt processing. *Carbohydr. Polym.* **2006**, 63, 417-424.
137. Kweon D. K., Cha D. S., Starch-g-polycaprolactone copolymerization using diisocyanate intermediate and thermal characteristics of the copolymers. *J. Appl. Polym. Sci.* **2000**, 78, 986-993.
138. Banu P., Radhakrishnan G., Thermoplastic poly(esterimide)s derived from anhydride-terminated polyester prepolymer and diisocyanate. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2004**, 42, 341-350.
139. Quagli F., Vignola M. C., Rosa G. D., La Rotonda M. I., Maglio G., New segmented copolymers containing poly(ϵ -caprolactone) and etheramide segments for the controlled release of bioactive compounds. *J. Controlled Release.* **2002**, 83, 263-271.
140. Barbato F., La Rotonda M. I., Maglio G., Palumbo, R., Quaglia F., Biodegradable microspheres of novel segmented poly(ether-ester-amide)s based on poly(ϵ -caprolactone) for the delivery of bioactive compounds. *Biomaterials.* **2001**, 22, 1371-1378.
141. Hoppens N. C., Hudnall T. W., Foster A., Booth C. J., Aliphatic–aromatic copolyesters derived from 2,2,4,4-tetramethyl- 1,3-cyclobutanediol. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2004**, 42, 3473-3478.
142. Chirachanchai S., Lertworasirikul A., Tachaboonyakiat W., Carbaryl insecticide conjugation onto chitosan via iodo-chitosan and chitosan carbonyl imidazolidine precursors. *Carbohydr. Polym.* **2001**, 41, 19-27.
143. Dubois P., Krishnan M., Narayan R., Aliphatic polyester grafted starch-like polysaccharides by ring-opening polymerization. *Polymer*, **1999**, 40, 3091-3100.
144. Cho C.G., Lee K. Preparation of starch-g-polystyrene copolymer by emulsion polymerization, *Carbohydr. Polym.* **2002**, 48, 125-130.
145. Celik M., Preparation and Characterization of Starch-g-Polymethacrylamide Copolymers, *J. Polym. Res.* **2006**, 13, 427-432.
146. Xiao C., Yang M., Controlled preparation of physical cross-linked starch-g-PVA hydrogel, *Carbohydr. Polym.* **2006**, 64(1), 37-40
147. Griffin G. J. L. Chemistry and Technology of Biodegradable Polymers, *Blackie Academic and Professional*, London, **1994**, 135-149.

148. Ning W., Jiugao Y., Xiaofei M., Preparation and characterization of thermoplastic starch/PLA blends by one- step reactive extrusion, *Polymer International*, **2007**, 56, 1440-1447.
149. Bhanu P., Vinod G., Deepak P., Singha A. Synthesis, characterization and antibacterial activity of biodegradable starch/PVA composite films reinforced with cellulosic fibre, *Carbohydr. Polym.* **2014**, 109, 171-179.
150. Xiaozhi T., Sajid A. Recent advances in starch, polyvinyl alcohol based polymer blends, nanocomposites and their biodegradability, *Carbohydr. Polym.* **2011**, 85, 1, 7-16.
151. Singh R., Pandey J., Rutot D., Degée Ph., Dubois Ph. Biodegradation of poly(ϵ -caprolactone)/starch blends and composites in composting and culture environments: the effect of compatibilization on the inherent biodegradability of the host polymer, *Carbohydr. Res.* **2003**, 33(17), 1759-1769.
152. Sugih A., Drijfhout J., Picchioni F., Janssen L. P, Heeres H. J. Synthesis and Properties of Reactive Interfacial Agents for Polycaprolactone-Starch Blends, *J. Appl. Polym. Sci.* **2009**, 114, 2315-2326.
153. Lesego M., Sinha S., Jalama K. The effect of starch amylose content on the morphology and properties of melt-processed butyl-etherified starch/poly[(butylene succinate)-co-adipate] blends, *Carbohydr. Polym.* **2017**, 155, 89-100.
154. Jbilou F., Joly C., Galland S., Belard L., Desjardin V., Bayard R., Dole P., Degraeve P. Biodegradation study of plasticised corn flour/poly(butylene succinate-co-butylene adipate) blends, *Polymer Testing*, **2013**, 32, 1565-1575.
155. Rabek J.F., Współczesna wiedza o polimerach, *Wydawnictwo Naukowe PWN*, Warszawa, **2008**.
156. Krzan A., Hemjinda S., Miertus S., Corti A., Chiellini E. Standardization and certification in the area of environmentally degradable plastics, *Polymer Degradation and Stability*, 2006, 91, 2819-2833.
157. Stachurek I. Problemy z biodegradacją tworzyw sztucznych w środowisku, *Zeszyty Naukowe Wyższej Szkoły Zarządzania Ochroną Pracy w Katowicach*, **2012**, 1(8), 74-108.

158. Kaczmarek H., Bajer K. Metody badania biodegradacji materiałów polimerowych. Część I. Podstawowe definicje i metody oceny biodegradacji polimerów w różnych środowiskach, *Polimery*, **2006**, 51, 10, 716-721.
159. Jaworska J., Kasperczyk J., Dobrzyński P., Macromolecular Symposia Special Issue: Biomaterials in Regenerative Medicine, **2007**, 253, 1, 40-46.
160. Edlund U., Albertsson A.C. Degradable Polymer Microspheres for controlled drug delivery. w: Degradable Aliphatic Polyesters (red.) Albertsson A.C. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, **2002**, 67-113.
161. Foltynowicz Z., Jakubiak P. Poli(kwas mlekowy) – biodegradowalny polimer otrzymany z surowców roślinnych, *Polimery*, **2002**, 47, 11(12), 769-774.
162. Middleton J. C., Tipton A. J. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials*. **2001**, 21, 2335-2346.
163. Jarrerat A., Tokiwa Y., Tanaka H. Microbial Poly(L-Lactide)-Degrading Enzyme Induced by Amino Acids, Peptides, and Poly(L-Amino Acids). *J. Polym. Environ.* **2004**, 12, 139-146.
164. Tokiwa Y., Calabria B. P. Biodegradability and biodegradation of poly(lactide). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2006**, 72, 244-251.
165. Pranamuda H., Tsuchii A., Tokiwa Y. Poly (L-lactide)-Degrading Enzyme Produced by *Amycolatopsis* sp. *Macromol. Biosci.* **2001**, 1, 25-29.
166. Ohkita T., Lee S. H. Thermal degradation and biodegradability of poly (lactic acid)/corn starch biocomposites, *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, 100, 3009-3017.
167. Urayama H., Kanamori T., Kimura Y. Properties and Biodegradability of Polymer Blends of Poly(L-lactide)s with Different Optical Purity of the Lactate Units. *Macromol. Mater. Eng.* **2002**, 287, 116-121.
168. Nakamura K., Tomita T., Abe N., Kamio Y. Purification and characterization of an extracellular poly(L-Lactic Acid) depolymerase from a soil isolate, *Amycolatopsis* sp. strain K104-1. *Appl. Environ. Microbiol.* **2001**, 67, 345-353.
169. Tomita K., Nakajima T., Kikuchi Y., Miwa N. Degradation of poly(L-lactic acid) by a newly isolated thermophile. *Polym. Degrad. Stab.* **2004**, 84, 433- 438.
170. Shah A. A., Hasan F., Hameed A., Ahmed S. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnol. Adv.* **2008**, 26, 246-265.

171. Nowak B., Pająk J., Biodegradacja polilaktydu (PLA) *Archiwum Gospodarki Odpadami i Ochrony Środowiska*. **2010**, 12(2) 1-10.
172. Rychter P., Biczak R., Herman B., Smyła A., Kurcok P., Adamus G., Kowalczyk M. Environmental Degradation of Polyester Blends Containing Atactic Poly(3-hydroxybutyrate). Biodegradation in Soil and Ecotoxicological Impact, *Biomacromolecules*. **2006**, 7, 11, 3125-3131.
173. Moon S. I., Urayama H., Kimura Y. Structural Characterization and Degradability of Poly(L-lactic acid)s Incorporating Phenyl-Substituted α -Hydroxy Acids as Comonomers, *Macromol. Biosci*. **2003**, 3, 301-309.
174. MacDonald R. T., McCarthy S. P., Gross R. A. Enzymatic Degradability of Poly(lactide): Effects of Chain Stereochemistry and Material Crystallinity, *Macromolecules*. **1996**, 29, 7356- 7361.
175. Williams D. F. Enzymic Hydrolysis of Polylactic Acid. *Eng. Med*. **1981**, 10, 5-7.
176. Oda Y., Yonetsu A., Urakami T., Tomomura K. Degradation of Polylactide by Commercial Proteases. *J. Polym. Environ*. **2000**, 8, 29-32.
177. Pranamuda H., Chollakup R., Tokiwa Y. Degradation of Polycarbonate by a Polyester-Degrading Strain, *Amycolatopsis* sp. Strain HT-6. *Appl. Environ. Microbiol*. **1999**, 65, 4220- 4222.
178. Jarrerat A., Tokiwa Y., Degradation of Poly(L-lactide) by a Fungus. *Macromol. Biosci*. **2001**, 1, 136-140.
179. Sakai K., Kawano H., Iwami A., Nakamura M., Moriguchi M. Isolation of a thermophilic poly-L-lactide degrading bacterium from compost and its enzymatic characterization. *J. Biosci. Bioeng*. **2001**, 92, 298-300.
180. Masaki K., Kamini N. R., Ikeda H., Lefuji H., Cutinase-Like Enzyme from the Yeast *Cryptococcus* sp. Strain S-2 Hydrolyzes Polylactic Acid and Other Biodegradable Plastics. *Appl. Environ. Microbiol*. **2005**, 71, 7548-7550
181. Chen Y., Geever L.M., Killion J.A., Lyons J.G., Higginbotham C.L., Devine D.M. Review of Multifarious Applications of Poly (Lactic Acid). *Polym. Plast. Technol. Eng*. **2016**, 55(10), 1057-1075.
182. Nagarajan V., Mohanty A.K., Misra M. Perspective on Polylactic Acid (PLA) based Sustainable Materials for Durable Applications: Focus on Toughness and Heat Resistance. *ACS Sustainable Chem. Eng*. **2016**, 4, 2899-2916.

183. Avérous L. Polylactic Acid: Synthesis, Properties and Applications. w: Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources, (red.) Belgacem M.N. , Gandini A. Elsevier Science. **2008**, 433-450.
184. Zhong X.R., Zeng Z.W., Zhou G.L., Wang J.J., Li F.Z., Wang A.M. Recent advances in PEG–PLA block copolymer nanoparticles, *Int. J. Nanomedicine*. **2010**, 5, 1057-1065.
185. Dorati R., Genta I., Colonna C., Modena T., Pavanetto F., Perugini P., Conti B. Investigation of the degradation behaviour of poly(ethylene glycol-co-d,l-lactide) copolymer. *Polym. Degrad. Stabil.* **2007**, 92(9), 1660-1668.
186. Lucas N., Bienaime C., Belloy C., Queneudec M., Silvestre F., Nava-Saudeco J.E. Polymer biodegradation: mechanisms and estimation techniques, *Chemosphere*. **2008**, 73 (4), 429-442.
187. Wu X.S., Wang N. Synthesis, characterization, biodegradation, and drug delivery application of biodegradable lactic/glycolic acid polymers. Part II: Biodegradation. *J Biomater Sci Polym Ed.* **2001**, 12, 21-34.
188. Houchin M.L., Topp E.M. Chemical degradation of peptides and proteins in PLGA: a review of reactions and mechanisms, *J. Pharm. Sci.* **2008**, 97, 2395-2404.
189. Luan X., Bodmeier R. Influence of the poly (lactide-co-glycolide) type on the leuprolide release from in situ forming microparticle systems. *J. Control. Release.* **2006**, 110, 266-272.
190. Keles H., Naylor A., Clegg F., Sammon C. Investigation of factors influencing the hydrolytic degradation of single PLGA microparticles, *Polym. Degrad. Stabil.* **2015**, 119, 228-241.
191. Riaz M.N. Processing biodegradable packaging materials from starches using extrusion technology. *Cereal Food World.* **1999**, 44, 705-709.
192. Susheel K., Sabaa M.W. Kango S., Polymer Grafting: A Versatile Means to Modify the Polysaccharides, w: Polysaccharide Based Graft Copolymers (red.) Susheel K., Sabaa M.W. Springer Heidelberg, New York, Dordrecht, London **2013**, 1-14.
193. Chen L., Qiu X., Deng M., Hong Z., Luo R., Chen X., Jing X. The starch grafted poly(L-lactide) and the physical properties of its blending composites, *Polymer*. **2005**, 46, 5723-5729.

194. Singh R.P., Pandey J.K., Rutot D., Degee, Ph., Dubois Ph., Biodegradation of poly(o-caprolactone)/starch blends and composites in composting and culture environments: the effect of compatibilization on the inherent biodegradability of the host polymer, *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 1759-1769.
195. Cuevas-Carballo Z. B., Duarte-Aranda S., Canché-Escamilla G. Properties and Biodegradability of Thermoplastic Starch Obtained from Granular Starches Grafted with Polycaprolactone. *Int. J. Polym. Sci.* **2017**, ID 3975692.
196. Yang X., Finne-Wistrand A., Hakkarainen M. Improved dispersion of grafted starch granules leads to lower water resistance for starch-g-PLA/PLA composites, *Compos. Sci. Technol.* **2013**, 86, 149-156.
197. Pospisil J., Horak Z., Krulis Z., Nespurek S., Kuroda S., Degradation and aging of polymer blends I. Thermomechanical and thermal degradation. *Polym. Degrad. Stabil.* **1999**, 65, 405-414.
198. La Mantia F.P., Morreale M., Botta L., Mistretta M.C., Ceraulo M., Scaffaro, R. Degradation of polymer blends: A brief review. *Polym. Degrad. Stabil.* **2017**, 145, 79-92.
199. Gattin R., Copinet A., Bertrand C., Couturier Y. Biodegradation study of a starch and poly (lactic acid) coextruded material in liquid, composting and inert mineral media. *Int. Biodeter. Biodegr.* **2002**, 50(1), 25-31.
200. Rudeekit Y., Siriyota P., Intaraksa P., Chaiwutthinan P., Tajan M., Leejarkpai T., Compostability and Ecotoxicity of Poly (lactic acid) and Starch Blends, *Adv. Mater. Res.* **2012**, 506, 323-326.
201. Copinet A., Bertrand C., Longieras A., Coma V., Couturier Y. Photodegradation and biodegradation study of a starch and poly (lactic acid) coextruded material, *J. Polym. Environ.* **2003**, 11(4), 169-179.
202. Shin B., Jang S., Kim B. Thermal, morphological, and mechanical properties of biobased and biodegradable blends of poly (lactic acid) and chemically modified thermoplastic starch. *Polym. Eng. Sci.* **2011**, 51(5), 826-834.
203. Jang W., Shin B., Lee T., Narayan R. Thermal properties and morphology of biodegradable PLA/starch compatibilized blends. *J. Ind. Eng. Chem.* **2007**, 13(3), 457-464.
204. Ohkita T., Lee S. Thermal degradation and biodegradability of poly (lactic acid)/corn starch biocomposites, *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, 100(4), 3009-3017.

205. Wang X.L., Yang K.K., Wang Y.Z. Properties of Starch Blends with Biodegradable Polymers, *J. Macromol. Sci.* **2003**, 43(3), 385-409.
206. Leja K., Lewandowicz G. Polymer biodegradation and biodegradable polymers. A review. *Pol. J. Environ. Stud.* **2010**, 19 (2), 255-266.
207. Râpă M., Grosu E., Stoica P., Andreica M., Hetvary M. Polyvinyl alcohol and starch blends: properties and biodegradation behavior, *Journal of Environmental Research and Protection.* **2014**, 11(1), 34-42.
208. Tanase E., Popa E., Rapa M., Popa O., Popa I. Biodegradation study of some food packaging biopolymers based on PVA, *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies.* **2016**, 73(1), 89-94.
209. Azahari N., Othman N., Ismail H., Biodegradation Studies of Polyvinyl Alcohol/Corn Starch Blend Films in Solid and Solution Media, *J. Phys. Sci.* **2011**, 22(2) 15-31.
210. Hubackova J., Dvorackova M., Svoboda P., Mokrejs P., Kupec J., Pozarova I., Koutny M. Influence of various starch types on PCL/starch blends anaerobic biodegradation, *Polymer Testing* **2013**, 32(6), 1011-1019.
211. Adhikari D., Mukai M., Kubota K., Kai T., Kaneko N., Araki K., Kubo M., Degradation of Bioplastics in Soil and Their Degradation Effects on Environmental Microorganisms, *J. Agric. Chem. Environ.* **2016**, 5(1), 23-34.
212. Encalada K. Aldás M. B., Proaño E.; Valle V. An overview of starch-based biopolymers and their biodegradability. *Ciencia e Ingeniería*, **2018**, 39(3).
213. Briassoulis D. Analysis of the mechanical and degradation performances of optimised agricultural biodegradable films, *Polym. Degrad. Stabil.* **2007**, 92 (6), 1115-1132.
214. Changrong Y. The Plasticulture in China, *Plasticulture.* **2017**, 136, 130-131.
215. Steinmetz Z., Wollmann C., Schaefer M., Buchmann C., David, J., Tröger J., Muñoz K., Frör O., Schaumann G.E. Plastic mulching in agriculture. Trading short-term agronomic benefits for long-term soil degradation? *Sci. Total Environ.* **2016**, 550, 690-705.
216. Siwek P., Libik A., Twardowska-Shmidt K., Danuta Ciechańska D., Gryza I. Zastosowanie biopolimerów w rolnictwie. *POLIMERY.* **2010**, 55, 11(12), 806-811.

217. Vroman I., Tighzert L. Biodegradable Polymers, *Materials (Basel)*. **2009** 2(2), 307–344.
218. Scarascia-Mugnozza G., Schettini E., Vox G., Malinoconico M., Immirzi B., Pagliara S. Mechanical properties decay and morphological behaviour of biodegradable films for agricultural mulching in real scale experiment, *Polym. Degrad. Stab.* **2006**, 91, 2801-2808.
219. Martín-Closas L., Pelacho A.M. Agronomic Potential of Biopolymer Films, w: *Biopolymers - New materials for sustainable films and coating* (red.) Plackett D., John Wiley & Sons, New York, **2011**, 277–299.
220. Siwek P., Domagała-Świątkiewicz I., Bucki P., Puchalski M., Biodegradable agroplastics in 21 century horticulture, *POLIMERY*. **2019**, 64, 7(8), 480-486.
221. Arioli A., Eco-degradable plastics in agriculture. The worldwide state of the art for the perspectives of the third millenium, *Plasticulture*. **2017**, 136, 12-19.
222. Kyrikou I., Briassoulis D. Biodegradation of Agricultural Plastic Films: A Critical Review, *J. Polym. Environ.* 2007, 15(2), 125-150.
223. Siwek P., Libik A., Kalisz A., Zawiska I. The effect of biodegradable nonwoven direct covers on yield and quality of winter leek, *Folia Hort.* 2013, 25 (1), 61-65.
224. <http://materbi.com/en/solutions/agriculture> - dostęp: 07.07.2020
225. Ichikawa Y., Mizukoshi T. Bionolle (Polybutylenesuccinate), Part of the *Advances in Polymer Science* book series. w: *Synthetic Biodegradable Polymers*, *POLYMER*, **2011**, 245, 285-313.
226. Ullah, F., Othman, M. B., Javed, F., Ahmad, Z., Md Akil, H. Classification, processing and application of hydrogels: a review. *Materials Science and Engineering C*, **2015**, 57, 414-433.
227. Sharma S., Dua A., Malik A. Polyaspartic acid based superabsorbent polymers. *European Polymer Journal*, **2014**, 59, 363-376.
228. Cannazza G., Cataldo A., De Benedetto E., Demitri C., Madaghiele M., Sannino A. Experimental assessment of the use of a novel superabsorbent polymer (SAP) for the optimization of water consumption in agricultural irrigation process. *Water*. **2014**, 6(7), 2056-2069.
229. Dragan E. S. Design and applications of interpenetrating polymer network hydrogels. A review. *Chem. Eng. J.* **2014**, 243, 572-590.

230. Zhan F., Liu M., Guo M., Wu L. Preparation of superabsorbent polymer with slow-release phosphate fertilizer. *J. Appl. Polym. Sci.* **2004**, 92(5), 3417-3421.
231. Zohuriaan-Mehr M. J., Omidian H., Doroudiani S., Kabiri K. Advances in non-hygienic applications of superabsorbent hydrogel materials. *J. Mater. Sci.*, **2010**, 45(21), 5711-5735.
232. Liang R., Liu M., Wu L. Controlled-release NPK compound fertilizer with the function of water retention. *Reactive & Functional Polymers.* **2007**, 67(9), 769-779.
233. Jamnongkan T., Kaewpirom S. Potassium release kinetics and water retention of controlled-release fertilizers based on chitosan hydrogels. *J. Polym. Environ.* **2010**, 18(3), 413-421.
234. Azeem B., KuShaari K., Man Z. B., Basit A., Thanh T. H. Review on materials & methods to produce controlled-release coated urea fertilizer. *J. Control. Release.* **2014**, 181, 11-21.
235. Dubey S., Jhelum V., Patanjali P. K. Controlled-release agrochemicals formulations: a review. *J. Sci. Ind. Res.* **2011**, 70(2), 105-112.
236. Akiyama H., Yan X., Yagi K. Evaluation of effectiveness of enhanced-efficiency fertilizers as mitigation options for N₂O and NO emissions from agricultural soils: meta-analysis. *Global Change Biology*, **2010**, 16(6), 1837-1846.
237. Ramos Campos E.V., Oliveira J., Fraceto L., Applications of Controlled Release Systems for Fungicides, Herbicides, Acaricides, Nutrients, and Plant Growth Hormones: A Review. *Adv. Sci. Eng. Med.* **2014**, 6(4), 373-387.
238. Ekebafé L.O., Ogbeifun D.E., Okieimen F.E. Polymer Applications in Agriculture. *Biokemistri.* **2011**, 23(2), 81-89.
239. Milani P., França D., Balieiro A.G., Faez R. Polymers and its applications in agriculture. *Polímeros.* **2017**, 27(3), 256-266.
240. Mobedi H., Nekoomanesh M., Orafaei H. Studying The Degradation Of Poly(L-Lactide) In Presence Of Magnesium Hydroxid. *IRANIAN POLYMER JOURNAL.* **2006**, 15, 1(67), 31-39.
241. Sopena F., Cabrera A., Maqueda C., Morillo E. Controlled Release of the Herbicide Norflurazon into Water from Ethylcellulose Formulations. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 3540-3547.

242. Dubey S., Jhelum V., Patanjali P.K. Controlled release agrochemicals formulations: A review. *J. Sci. Ind. Res.* **2011**, 70, 105-112.
243. Huang B., Chen F., Shen Y, Qian K., Wang Y., Sun C., Zhao X., Cui B., Gao F., Zeng Z., Cui H., Advances in Targeted Pesticides with Environmentally Responsive Controlled Release by Nanotechnology. *Nanomaterials.* **2018**, 8 (2), 102.
244. Roy A., Singh S., Bajpai J., Bajpai A. Controlled pesticide release from biodegradable polymers. *Cent. Eur. J. Chem.* **2014**, 12(4), 453-469.
245. Fernández-Pérez M., González-Predaz E., Villafranca-Sánchez M., Flores-Céspedes F. Mobility of isoproturon from an alginate-bentonite controlled release formulation in layered soil, *Chemosphere.* **2000**, 41, 1495-1501.
246. Fernández-Pérez M., González-Predaz E., Villafranca-Sánchez M., Flores-Céspedes F. Mobility of atrazine from alginate-bentonite controlled release formulations in layered soil. *Chemosphere.* **2001**, 43(3) 347-353.
247. Zhu Z., Zhuo R. Slow release behavior of starch-g-poly(vinyl alcohol) matrix for 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid herbicide, *Eur. Polym. J.* **2001**, 37(9), 1913-1919.
248. Villafranca-Sánchez M., Flores-céspedes F., Daza-Fernández I., Fernández-Pérez M. Prevention of Herbicides Pollution Using Sorbents in Controlled Release Formulations, w: Herbicides and Environment, (red.) Kortekamp A., InTech. **2011**
249. Grillo R., Pereira A. E. S., Melo N. F. S., Porto R. M., Feitosa L. O., Tonello P. S., Filho N. L. D., Rosa A. H., Fraceto L. F. *J. Hazard. Mater.* **2011**. 186, 1645-1651.
250. Liu B., Wang Y., Yang F., Wang X., Shen H., Cui H., Wu D., Construction of a controlled release delivery system for pesticides using biodegradable PLA-based microcapsules. *Colloids Surf. B.* **2016**, 144, 38-45.
251. Zhang J., Zhao C., Liu Y., Cao L., Wu Y., Huang Q. Size-Dependent Effect of Prochloraz Loaded mPEG-PLGA Micro- and Nanoparticles, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2016**, 16, 6231-6237.
252. Daitx T.S., Giovanela M., Carli L.N., Mauler R.S. Biodegradable polymer/clay systems for highly controlled release of NPK fertilizer. *Polym. Adv. Technol.* **2019**, 30(3), 631-639.

253. PN-EN ISO 14688-1:2006 Badania geotechniczne. Oznaczenie i klasyfikowanie gruntów. Część 1: Oznaczenie i opis.
254. PN-EN ISO 14688-2:2006 Badania geotechniczne. Oznaczenie i klasyfikowanie gruntów. Część 2: Zasady klasyfikowania.
255. PN-ISO 10694:2002 Jakość gleby. Oznaczenie zawartości węgla organicznego i całkowitej zawartości węgla po suchym spalaniu (analiza elementarna)
256. PN-ISO 11261:2002 Jakość gleby - Oznaczenie azotu ogólnego - Zmodyfikowana metoda Kjeldahla
257. PN-ISO 10390:1997 Jakość gleby. Oznaczenie pH
258. PN-ISO 11465:1999 Jakość gleby. Oznaczenie zawartości suchej masy gleby i wody w glebie w przeliczeniu na suchą masę gleby. Metoda wagowa.
259. Matuszkiewicz W. Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski. Warszawa, Wyd. Naukowe PWN, 2006.
260. Buntner B., Nowak M., Kasperczyk J., Ryba M., Grieb P., Walski M. Dobrzynski P., Bero M. The application of microspheres from the copolymers of lactide and ϵ -caprolactone to the controlled release of steroids. *J. Control. Release.* **1998**, 56, 159–167.
261. Dobrzyński P., Kasperczyk J., Janeczek H., Bero M. Synthesis of Biodegradable Copolymers with the Use of Low Toxic Zirconium Compounds. 1. Copolymerization of Glycolide with L-Lactide Initiated by $Zr(Acac)_4$. *Macromolecules.* **2001**, 34, 15, 5090-5098.
262. Chi Y., Lan J.W., Ching W.L., Peng S.M., Lee G.H. Syntheses and characterization of mixed acetylacetonate-catechol complexes of zirconium, $[Zr_3(acac)_4(cat)_4(MeOH)_2]$, $[Zr(acac)_2(DBcat)]_2$ ($H_2DBcat = 3, 5$ -di-terMmtylcatechol) and $[Zr_4(u_4-O)(acac)_4(DBcat)_3(OMe)_4(MeOH)]$. *Dalton Trans.* **2000**, 17, 2923-2927.
263. Dobrzynski P., Pastusiak M., Jaworska J., Kaczmarczyk B., Kwiecien M., Kawalec M. Zirconium (IV) Acetylacetonate: Ring-Opening Initiator Mediating One-Step Synthesis of Biodegradable Polyacids. *Adv. Polym. Tech.* **2019**, ID 3761430.
264. Rutot D., Degee P., Narayan R., Dubois P. Aliphatic polyester-grafted starch composites by in situ ring opening polymerization. *Compos. Interface.* **2000**, 7, 215-225;

265. Jyothi A.N. Starch Graft Copolymers: Novel Applications in Industry. *Compos. Interface*. **2010**, 17, 165-174.
266. Das D., Patra P., Ghosh P., Rameshbabu A.P., Dhara S., Pal S. Dextrin and poly(lactide)-based biocompatible and biodegradable nanogel for cancer targeted delivery of doxorubicin hydrochloride. *Polym. Chem*. **2016**, 7, 2965-2975.
267. Pal A., Sarkar A.N., Karmakar P.D., Pal S. Amphiphilic graft copolymeric micelle using dextrin and poly (N-vinylcaprolactam) via RAFT polymerization: Development and application poly (L-lactide). *Int. J. Biol. Macromol*. **2018**, 119, 954-961.
268. David A., Meimoun J., Delaunay T., Wiatz V., Saint-Loup R., Parcq J., Descamps N., Favrelle A., Bonnet F., Stoclet G., Lourdin D, Zinck P., Gaucher V. Structural characterization and mechanical properties of dextrin-graft-poly (butyl acrylate-co-styrene) copolymers. *Express Polym. Lett*. **2019**, 13, 235-247
269. Namazi, H.; Dadkhah, A. Surface Modification of Starch Nanocrystals Through Ring-Opening Polymerization of ϵ -Caprolactone and Investigation of Their Microstructures. *J. Appl. Polym. Sci*. **2008**, 110, 2405–2412;
270. Najemi L., Jeanmaire T., Zerroukhi A., Raihane M. Organic catalyst for ring opening polymerization of ϵ -caprolactone in bulk. Route to starch-graft-polycaprolactone. *Starch/Stärke*. **2010**, 62, 147-154.
271. Gref R., Rodrigues J., Couvreur P. Polysaccharides Grafted with Polyesters: Novel Amphiphilic Copolymers for Biomedical Applications. *Macromolecules* **2002**, 35, 9861-9867.
272. Das D., Das R., Ghosh P., Dhara S., Panda A.B., Pal S. Dextrin cross linked with Poly (HEMA): A novel hydrogel for colon specific delivery of ornidazole. *RSC Adv*. **2013**, 3, 25340-25350.
273. Avaltroni F., Bouquerand P.E., Normand V. Maltodextrin molecular weight distribution influence on the glass transition temperature and viscosity in aqueous solutions. *Carbohydr. Polym*. **2004**, 58, 323-334.
274. Singh K.K., Robison D.J., Pathak Y.V. Morphological characterization of maltodextrin derivatives using scanning electron microscopy. *Cell. Mater*. **1993**, 3, 45-50.
275. Stloukal P., Kucharczyk P., Sedlarik V., Bazant P., Koutny M. Low molecular weight poly(lactic acid) microparticles for controlled release of the herbicide

- metazachlor: Preparation, morphology, and release kinetics. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, 60, 4111-4119.
276. Bargaz A., Lyamlouli K., Chtouki M., Zeroual Y., Dhiba D. Soil Microbial Resources for Improving Fertilizers Efficiency in an Integrated Plant Nutrient Management System. *Front Microbiol.* **2018**, 9, 1606-1631.
277. Hernando M.D., De Vettori S., Bueno M.J., Fernandez-Alba A.R. Toxicity evaluation with *Vibrio fischeri* test of organic chemicals used in aquaculture. *Chemosphere.* **2007**, 68, 724-730.
278. Rogacz D., Lewkowski J., Siedlerek M., Karpowicz R., Kowalczyk A., Rychter, P. The Effect of New Thiophene-Derived Diphenyl Aminophosphonates on Growth of Terrestrial Plants. *Materials.* **2019**, 12, 2018.
279. Li D., Jiang Y., Lv S., Liu X., Gu J., Chen O., Zhang Y., Preparation of plasticized poly (lactic acid) and its influence on the properties of composite materials, *PLoS One*, **2018**, 13(3) 0193520.
280. Stloukal P., Kucharczyk P., Sedlarik V., Bazant P., Koutny M. Low molecular weight poly(lactic acid) microparticles for controlled release of the herbicide metazachlor: Preparation, morphology, and release kinetics. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, 60, 4111-4119.
281. Rychter P., Lewicka, K., Rogacz D. Environmental usefulness of PLA/PEG blends for controlled-release systems of soil-applied herbicides. *J. Appl. Polym. Sci.* **2019**, 136, 47856.

VII. Spis rysunków, schematów i tabel

Spis rysunków i schematów

Rys. 1. Schemat uwalniania pestycydów	17
Rys. 1.1.1. Obieg środków ochrony roślin w środowisku	27
Rys. 1.1.2. Poziomy zużycia pestycydów na świecie oraz w Europie w latach 1990 – 2017.....	30
Rys. 1.1.1.1. Wzór strukturalny metazachloru.....	31
Rys. 1.1.2.1. Wzór strukturalny pendimetaliny	32
Rys. 1.2.1.1. Konfiguracje stereochemiczne cząsteczek kwasu mlekowego i laktydu	35
Rys. 1.2.1.2. Różnorodne mikrostruktury laktydów i otrzymywanego na drodze ROP polilaktydu	37
Rys. 1.2.1.3. Drogi syntezy poli (kwasu mlekowego) (PLA) z kwasu mlekowego.....	41
Rys. 1.2.1.4. Mechanizm kationowego ROP laktydu (mechanizm aktywacji monomeru).....	42
Rys. 1.2.1.5. Mechanizm anionowej polimeryzacji ROP dla PLA.....	43
Rys. 1.2.1.6. Mechanizm koordynacyjno-insercyjny ROP laktydu z oktanianem cyny	45
Rys. 1.2.1.7. Mechanizm polimeryzacji L-laktydu w obecności $Zn(acac)_2 \cdot H_2O$	47
Rys. 1.2.1.1.1. Schemat ROP laktydu i glikolidu	49
Rys. 1.2.1.2.1. Wzory strukturalne a) PLGA-PEG-PLGA i b) PEG-PLGA	50
Rys. 1.3.1.1. Czynniki wpływające na szybkość biodegradacji.....	59
Rys. 1.4.1.1. Przykłady dozownika feromonów oraz klipsów Mater-Bi®	75
Rys. 1.4.1.2. Folia do ściółkowania Bionolle™	75
Rys. 1.4.3.1. Teoretyczne stężenie pestycydu podczas konwencjonalnego i kontrolowanego uwalniania	78
Rys. 3.2.5.1. Krzywa kalibracyjna roztworów wzorcowych herbicydów	92
Rys. 3.2.10.2. Fotografia obrazująca sposób umieszczenia próbek A) - folii oraz B) - mikrosfer podczas eksperymentu degradacji w glebie	94
Rys. 4.1.3.1. A) Synteza terpolimerów LA/GL/PEG; B) Synteza kopolimerów szczepionych; C) oczyszczanie poprzez rozpuszczenie w chloroformie; D) wytrącanie terpolimeru w zimnym metanolu; E) otrzymany terpolimer LA/GL/PEG; F) otrzymana dekstryna-g-PCL; G) otrzymany kopolimer matodekstryna-g-PCL	103
Schemat 4.2.1. Synteza terpolimerów przy użyciu makroinicjatorów PEG4600 i PEG10 000	105
Schemat 4.2.2. Synteza terpolimerów przy użyciu makroinicjatorów mPEG5000	105
Rys. 4.2.1. Widma 1H NMR terpolimerów A) LA/GL/20% PEG4600, B) LA/GL/20% mPEG5000	106
Rys. 4.2.2. Widma ^{13}C NMR (region karbonylowy) terpolimerów A) LA/GL/20% PEG4600, B) LA/GL20% mPEG5000, C) LA/GL/20% PEG10000	107
Rys. 4.2.1.1. Chłonność wody próbek terpolimeru w A) – wodzie (W), B) – glebie (S), C) - osadzie czynnym (AS)	111
Rys. 4.2.1.2. Procentowa utrata wagi próbek terpolimeru w: A) - wodzie (W), B) - glebie (S) C) - osadzie czynnym (AS)	113
Rys. 4.2.1.3. Termogramy DSC (I przebieg) terpolimeru LA/GL/20% PEG4600, przed degradacją, po 5 tygodniach i 12 tygodniach degradacji w wodzie	117
Rys. 4.2.1.4. Termogramy DSC (I przebieg) terpolimeru LA/GL/20% PEG10000 przed i po 1,3,5,7 oraz 12 tygodniach w wodzie	118

Rys. 4.2.1.5. Termogramy DSC (I przebieg) terpolimeru LA/GL/20% PEG10000 przed i po 3,6 oraz 12 tygodni degradacji w glebie	118
Rys. 4.2.1.6. Profile szerokokątowej dyfrakcji promieni X zarejestrowane dla badanych próbek; A) LA/GL/20% PEG 4600, B) LA/GL/20% PEG 10 000, przed degradacją i po 12 tygodniach degradacji prowadzonej w glebie	119
Rys. 4.2.1.7. Zmiany powierzchni próbek folii po każdym okresie ekspozycji na medium degradacyjne, skaningowy mikroskop elektronowy (SEM) (200 × 200 μm)	120
Rys. 4.2.2.1.1. Całkowite uwalnianie i tygodniowe dawki uwalniania metazachloru (Met) z terpolimerów w wodzie w ciągu 12 tygodni. Rys. 1a, 2a i 3a pokazują całkowite uwalnianie herbicydu załadowanego w ilości 10 i 20% wagowych z mieszanin: LA/GL/10% PEG4600 i LA/GL/20% PEG4600 (1a); LA/GL/10% mPEG5000 i LA/GL/20% mPEG5000 (2a) oraz LA/GL/10% PEG10000 i LA/GL/20% PEG10000 (3a). Rys. 1b, 2b i 3b pokazują tygodniowe dawki herbicydu uwalnianego z tych samych terpolimerów	124
Rys. 4.2.2.1.2. Całkowite uwalnianie i tygodniowe dawki uwalniania metazachloru (Met) z terpolimerów w glebie w ciągu 12 tygodni. Rys. 1a, 2a i 3a pokazują całkowite uwalnianie herbicydu załadowanego w ilości 10 i 20% wagowych z mieszanin: LA/GL/10% PEG4600 i LA/GL/20% PEG4600 (1a); LA/GL/10% mPEG5000 i LA/GL/20% mPEG5000 (2a) oraz LA/GL/10% PEG10000 i LA/GL/20% PEG10000 (3a). Rys. 1b, 2b i 3b pokazują tygodniowe dawki herbicydu uwalnianego z tych samych terpolimerów	125
Rys. 4.2.2.1.3. Całkowite uwalnianie metazachloru (Met) z dodatkiem 10 i 20%, z kopolimeru PLGA w wodzie (1a) i w glebie (2a) oraz tygodniowe dawki uwalniania w wodzie (1b) i w glebie (2b)	126
Rys. 4.2.2.2.1. Całkowite uwalnianie i tygodniowe dawki uwalniania pendimetaliny (Pen) z terpolimerów w wodzie w ciągu 12 tygodni. Rys. 1a, 2a i 3a pokazują całkowite uwalnianie herbicydu załadowanego w ilości 10 i 20% wagowych z mieszanin: LA/GL/10% PEG4600 i LA/GL/20% PEG4600 (1a); LA/GL/10% mPEG5000 i LA/GL/20% mPEG5000 (2a) oraz LA/GL/10% PEG10000 i LA/GL/20% PEG10000 (3a). Rys. 1b, 2b i 3b pokazują tygodniowe dawki herbicydu uwalnianego z tych samych terpolimerów.	128
Rys. 4.2.2.2.2. Całkowite i tygodniowe dawki uwalniania pendimetaliny (Pen) z terpolimerów w glebie w ciągu 12 tygodni. Rys. 1a, 2a i 3a pokazują całkowite uwalnianie herbicydu załadowanego w ilości 10 i 20% wagowych z mieszanin: LA/GL/10% PEG4600 i LA/GL/20% PEG4600 (1a); LA/GL/10% mPEG5000 i LA/GL/20% mPEG5000 (2a) oraz LA/GL/10% PEG10000 i LA/GL/20% PEG10000 (3a). Rys. 1b, 2b i 3b pokazują tygodniowe dawki herbicydu uwalnianego z tych samych terpolimerów.	129
Rys. 4.2.2.2.3. Całkowite uwalnianie pendimetaliny (Pen) z dodatkiem 10 i 20%, z kopolimeru PLGA w wodzie (1a) i w glebie (2a) oraz tygodniowe dawki uwalniania w wodzie (1b) i w glebie (2b)	130

Schemat 4.3.1. Przebieg przeprowadzonej reakcji szczypania dekstryn ϵ -kapolaktonem, oznaczenie grup zgodne z oznaczeniem odpowiadających sygnałów na widmach ^1H NMR	131
Rys. 4.3.1. Widma ^1H NMR: A) Dekstryny, B) dekstryny-g-PCL z zawartością dekstryny – 31% wag., C) maltodekstryny i D) maltodekstryny-g-PCL z zawartością maltodekstryny – 38% wag.	133
Rys. 4.3.2. Widma FTIR homopolimerów i kopolimeru szczypanego; A) - dekstryna-g-PCL (z zawartością dekstryny -31% wag.); B) -dekstryna-g-PCL (z zawartością dekstryny - 70% wag.); C) - dekstryna natywna; D) - homopolimer PCL	136
Rys. 4.3.3. Termogramy DSC szczypanego kopolimeru dekstryna-g-PCL	137
Rys. 4.3.4. Termogramy DSC szczypanego kopolimeru maltodekstryna-g-PCL	137
Rys. 4.3.1.1. Obrazy SEM próbek folii (przełom) wykonanej z mieszanin, powiększenie x 800, A) próbka 2D (LA/GA/PEG D-g-PCL50:50; $R_{\text{dex}} = 70\%$ wag.), B) próbka 11D (LA/GA/PEG + (D-g-PCL); 50:50 $R_{\text{dex}} = 31\%$ wag.) i C) próbka OD2 (LA/GA/PEG + D. niemodyfikowana) 50:50; D) próbka 2M (LA/GA/PEG + M-g-PCL; $R_{\text{dex}} = 38\%$ wag.) 50:50, E) próbka 11M (LA/GA/PEG + M-g-PCL; $R_{\text{dex}} = 20\%$ wag.) 50:50 i F) próbka OM2 (LA/GA/PEG + M. niemodyfikowana) 50:50.	140
Rys. 4.3.1.2. Termogramy DSC mieszanin bloków PLGA-PEG/dekstryn-g-CL, A) 1D przebieg I, A1) 1D przebieg II, B) 2D przebieg I, B1) 2D przebieg II, C) 10D przebieg I, C1) 10D przebieg II, D) 11D przebieg I, D1) 11D przebieg II, E) OD2 przebieg I, E1) OD2 przebieg II.	142
Rys. 4.3.1.3. Termogramy DSC mieszanin bloków PLGA-PEG/maltodekstryny-g-CL, A) 1M przebieg I, A1) 1M przebieg II, A2) 1M przebieg III, B) 2M przebieg I, B1) 2M przebieg II, B2) 2 M przebieg III, C) OM2 przebieg I, C1) OM2 przebieg II, C2) OM2 przebieg III	143
Rys. 4.3.2.1. Widma ^1H NMR blend 1D (DMSO D6); A) przed degradacją, B) po 6 tygodniach inkubacji w glebie, C) po 12 tygodniach inkubacji w glebie	145
Rys. 4.3.2.2. Widma ^1H NMR 1M mieszaniny (DMSO D6); A) przed degradacją, B) po 6 tygodniach inkubacji w glebie, C) po 12 tygodniach inkubacji w glebie	146
Rys. 4.3.2.3. Zmiany składu mieszanin podczas procesu degradacji przeprowadzonego w glebie (% wag) (Oszacowane na podstawie pomiaru ^1H NMR).	147
Rys. 4.3.2.4. Chłonność wody przez próbki: 1D; 2D; 10D; 11D; OD1; OD2 tj. mieszanin LA/GA/PEG + dekstryna-g-PCL oraz przez próbki 1M; 2M; 11M; OM1; OM2 tj. mieszanin LA/GA/PEG + maltodekstryna-g-PCL w wodzie A) i B) , w glebie C) i D) oraz w osadzie czynnym E) i F)	149
Rys. 4.3.2.5. Procentowa utrata wagi próbek: 1D; 2D; 10D; 11D; OD1; OD2 tj. mieszanin LA/GA/PEG + dekstryna-g-PCL oraz próbek 1M; 2M; 11M; OM1; OM2 tj. mieszanin LA/GA/PEG + maltodekstryna-g-PCL w wodzie A) i B) , w glebie C) i D) oraz w osadzie czynnym E) i F)	151
Rys. 4.3.2.6. Obrazy SEM degradacji (przekrój, powiększenie x 500) 2D (LA/GA/PEG + D-g-PCL; $R_{\text{dex}} = 70\%$ wag.) 50:50; 11D (LA/GA/PEG + D-g-PCL; $R_{\text{dex}} = 31\%$ wag.) 50:50 i OD2 (LA/GA/PEG + D. niemodyfikowana 50:50 (100 μm)	152

Rys. 4.3.3.1.1. Całkowite uwalnianie metazachloru (Met) w wodzie A – z dodatkiem 10% Met; B – z dodatkiem 20% Met) oraz tygodniowe dawki (C - z dodatkiem 10% Met; D - z dodatkiem 20% Met) z kopolimeru PLGA, terpolimeru LA/GL/20% PEG4600 oraz mieszanin LA/GA/PEG + M-g-PCL	154
Rys. 4.3.3.1.2. Całkowite uwalnianie metazachloru (Met) w wodzie A – z dodatkiem 10% Met; B – z dodatkiem 20% Met) oraz tygodniowe dawki (C - z dodatkiem 10% Met; D - z dodatkiem 20% Met) z kopolimeru PLGA, terpolimeru LA/GL/20% PEG4600 oraz mieszanin LA/GA/PEG + D-g-PCL	155
Rys. 4.3.3.1.3. Całkowite uwalnianie metazachloru (Met) w glebie A – z dodatkiem 10% Met; B – z dodatkiem 20% Met) oraz tygodniowe dawki (C - z dodatkiem 10% Met; D - z dodatkiem 20% Met) z kopolimeru PLGA, terpolimeru LA/GL/20% PEG4600 oraz mieszanin LA/GA/PEG + M-g-PCL	156
Rys. 4.3.3.1.4. Całkowite uwalnianie metazachloru (Met) w glebie A – z dodatkiem 10% Met; B – z dodatkiem 20% Met) oraz tygodniowe dawki (C - z dodatkiem 10% Met; D - z dodatkiem 20% Met) z kopolimeru PLGA, terpolimeru LA/GL/20% PEG4600 oraz mieszanin LA/GA/PEG + D-g-PCL	157
Rys. 4.3.3.2.1. Całkowite uwalnianie pendimetaliny (Pen) w wodzie A – z dodatkiem 10% Pen; B – z dodatkiem 20% Pen) oraz tygodniowe dawki (C - z dodatkiem 10% Pen; D - z dodatkiem 20% Pen) z kopolimeru PLGA, terpolimeru LA/GL/20% PEG4600 oraz mieszanin LA/GA/PEG + M-g-PCL	158
Rys. 4.3.3.2.2. Całkowite uwalnianie pendimetaliny (Pen) w wodzie A – z dodatkiem 10% Pen; B – z dodatkiem 20% Pen) oraz tygodniowe dawki (C - z dodatkiem 10% Pen; D - z dodatkiem 20% Pen) z kopolimeru PLGA, terpolimeru LA/GL/20% PEG4600 oraz mieszanin LA/GA/PEG + D-g-PCL	159
Rys. 4.3.3.2.3. Całkowite uwalnianie pendimetaliny (Pen) w glebie A – z dodatkiem 10% Pen; B – z dodatkiem 20% Pen) oraz tygodniowe dawki (C - z dodatkiem 10% Pen; D - z dodatkiem 20% Pen) z kopolimeru PLGA, terpolimeru LA/GL/20% PEG4600 oraz mieszanin LA/GA/PEG + M-g-PCL	160
Rys. 4.3.3.2.4. Całkowite uwalnianie pendimetaliny (Pen) w glebie A – z dodatkiem 10% Pen; B – z dodatkiem 20% Pen) oraz tygodniowe dawki (C - z dodatkiem 10% Pen; D - z dodatkiem 20% Pen) z kopolimeru PLGA, terpolimeru LA/GL/20% PEG4600 oraz mieszanin LA/GA/PEG + D-g-PCL	161
Rys. 4.4.2. Obrazy SEM uzyskanych mikrosfer: A) Terpolimer, B) TER/dekstryna C) TER/maltodekstryna (powiększenie x 1000)	164
Rys.4.4.2. Rozkład średnic mikrosfer obciążonych herbicydami dla A) Terpolimeru i B) TER/dekstryna (analogiczne wyniki uzyskano dla TER/maltodekstryna)	165
Rys. 4.4.1.1. Procentowa utrata masy mikrosfer Terpolimer; TER/dekstryna i TER/maltodekstryna A) - w wodzie, B) - w osadzie czynnym, C) - w glebie	166
Rys. 4.4.1.2. Pogorszenie jakości powierzchni mikrosfer po każdym okresie ekspozycji na środowisko degradacji (SEM) (powiększenie x 1000)	169

Rys. 4.4.2.1. Całkowite uwalnianie A) pendimetaliny i B) metazachloru z mikrosfer	170
Rys. 4.4.2.2. Tygodniowe dawki uwalniania A) pendimetaliny (Pen) i B) metazachloru (Met) z mikrosfer	171
Rys. 4.4.3.1. Ocena aktywności chwastobójczej uwolnionego metazachloru z mikrosfer po miesiącu inkubacji w glebie	173
Rys. 4.4.3.2. Ocena aktywności chwastobójczej uwolnionej pendimetaliny z mikrosfer po miesiącu inkubacji w glebie	174
Rys. 4.4.3.3. Ocena aktywności chwastobójczej uwolnionego metazachloru z mikrosfer w podwójnie zalecanej dawce. Nasiona każdej rośliny wysiano po 2 i 3 miesiącach inkubacji mikrosfer w glebie	175
Rys. 4.4.3.4. Ocena aktywności chwastobójczej uwolnionej pendimetaliny z mikrosfer w podwójnie zalecanej dawce. Nasiona każdej rośliny wysiano po 2 i 3 miesiącach inkubacji mikrosfer w glebie	176
Rys. 4.4.4.1. Wartości EC_{50} badanej gleby z mikrosferami (TERPOLIMER, TER/dekstryna, TER/maltodekstryna) obciążonej metazachlorem zmierzone podczas ekspozycji na <i>A. fischeri</i>	179
Rys. 4.4.4.2. Wartości EC_{50} badanej gleby z mikrosferami (TERPOLIMER, TER/dekstryna, TER/maltodekstryna) obciążonej pendimetaliną zmierzone podczas ekspozycji na <i>A. fischeri</i>	180

Spis tabel

Tab. 1.2.1.1. Właściwości mechaniczne PLA	36
Tab. 1.3.2.1. Czas degradacji polimerów i ich kopolimerów	64
Tab. 4.2.1. Właściwości zsyntetyzowanego kopolimeru PLGA i terpolimerów: LA/GL/10%PEG4600; LA/GL/20%PEG4600; LA/GL/10% mPEG5000; LA/GL/20% mPEG5000; LA/GL/10%PEG10000; LA/GL/10%PEG10000	108
Tab. 4.2.1.1. Zmiany średniej masy cząsteczkowej terpolimerów - M_w [g/mol x 10^3]	110
Tab. 4.2.1.2. Zmiany składu terpolimerów [% wag.] podczas procesu degradacji	115
Tab. 4.3.1. Warunki reakcji szczepienia i charakterystyka końcowych kopolimerów	134
Tab. 4.3.1.1. Skład i właściwości termiczne mieszanin polimerów zastosowanych w badaniu	139
Tabela 4.4.1. Oznaczanie zawartości metazachloru/pendimetaliny w mikrosferach	164
Tab. 4.4.3.1. Ocena aktywności chwastobójczej metazachloru uwalnianego z mikrosfer po 1 miesiącu ich inkubacji w glebie (skala EWRC). Herbicydy załadowano w 3 dawkach: połowa zalecanej (0,39 mg/doniczka), zalecana dawka (0,79 mg/doniczka) i podwójna dawka (1,5 mg/doniczka)	173
Tab. 4.4.3.2. Ocena aktywności chwastobójczej pendimetaliny uwalnianej z mikrosfer po 1 miesiącu ich inkubacji w glebie (skala EWRC). Herbicydy załadowano w 3 dawkach: połowa zalecanej	

dawki (0,63 mg/doniczka), zalecana (1,26 mg/doniczka) i podwójna dawka (2,52 mg/doniczka)	174
Tab. 4.4.3.3. Ocena aktywności chwastobójczej uwolnionego metazachloru z mikrosfer w podwójnie zalecanej dawce (skala EWRC)	175
Tab. 4.4.3.4. Ocena aktywności chwastobójczej uwolnionej pendimetaliny z mikrosfer w podwójnie zalecanej dawce (skala EWRC)	176
Tabela 4.4.4.1. Wartości Microtox® EC ₅₀ (mg/L) narażenia luminescencyjnych bakterii morskich <i>A. fischeri</i> na badaną glebę z mikrosferami (TERPOLIMER, TER/dekstryna, TER/maltodekstryna) z metazachlorem odpowiadające 95% granicom ufności (w nawiasach) uzyskane w dopasowaniu danych	178
Tabela 4.4.4.2. Wartości Microtox® EC ₅₀ (mg/L) narażenia luminescencyjnych bakterii morskich <i>A. fischeri</i> na badaną glebę z mikrosferami (TERPOLIMER, TER/dekstryna, TER/maltodekstryna) z pendimetaliną odpowiednio do 95% granic ufności (w nawiasach) uzyskane w dopasowaniu danych	179

VIII. Dorobek naukowy

Publikacje z Listy filadelfijskiej

1. **K. Lewicka**, P. Siemion, P. Kurcok, „Chemical Modifications of Starch: Microwave Effect”, *International Journal of Polymer Science*, 2015, Article ID 867697- Accepted 18 April 2015, Impact Factor: **1.195**, 25 pkt MNiSW,
2. J. Lewkowski, M. Rodriguez Moya, M. Chmielak, D. Rogacz, **K. Lewicka**, P. Rychter, Synthesis, „Spectral Characterization of Several Novel Pyrene-Derived Aminophosphonates and Their Ecotoxicological Evaluation Using *Heterocypris incongruens* and *Vibrio fischeri* Tests”, *Molecules*, 2016, 21, 936, Impact Factor: **2.861**, 40 pkt MNiSW,
3. J. Jaworska, M. Kawalec, M. Pastusiak, K. Reczyńska, H. Janeczek, **K. Lewicka**, E. Pamuła, P. Dobrzyński, „Biodegradable polycarbonates containing side carboxyl groups – synthesis, properties and degradation study”, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemist*, **2017**, 55, 2756–2769, Impact Factor: **3.113**, 35 pkt MNiSW
4. J. Lewkowski, M. Morawska, R. Karpowicz, P. Rychter, D. Rogacz, **K. Lewicka**, P. Dobrzyński, „Evaluation of ecotoxicological impact of new pyrrole-derived aminophosphonates using selected bioassay batter”, *Ecotoxicology*, 2017, 1–16, Impact Factor: **1.951**, 30 pkt MNiSW
5. J. Lewkowski, M. Morawska, R. Karpowicz, P. Rychter, D. Rogacz, **K. Lewicka**, „Novel (5-nitrofurfuryl)-substituted esters of phosphonoglycine – Their synthesis and phyto- and ecotoxicological properties”, *Chemosphere*, 2017, 188, 618–632, Impact Factor: **4.208**, 35 pkt MNiSW
6. J. Lewkowski, R. Karpowicz, M. Morawska, P. Rychter, D. Rogacz, **K. Lewicka**, P. Dobrzyński, „Synthesis and ecotoxicological impact of ferrocene-derived aminophosphonates using a battery of bioassays”, *RCS Advances*, 2017, 7, 38399-38409, Impact Factor: **3.108**, 30 pkt MNiSW
7. W. Sikorska, M. Musioł, J. Rydz, M. Zięba, P. Rychter, **K. Lewicka**, A. Šišková, K. Mosnácková, M. Kowalczyk, G. Adamus, „Prediction studies of environment-friendly biodegradable polymeric packaging based on PLA. Influence of specimens' thickness on the hydrolytic degradation profile”, *Waste Management*, 78, 938–947, 2018, Impact Factor: **4.723**; 40pkt MNiSW
8. P. Rychter, D. Christova, **K. Lewicka**, D. Rogacz, „Ecotoxicological impact of selected polyethylenimines toward their potential application as nitrogen fertilizers with prolonged activity”, *Chemosphere*, 2019, 226:800-808, Impact Factor: **4.427**, 100pkt MNiSW.
9. P. Rychter, D. Rogacz, **K. Lewicka**, J. Kollár, M. Kawalec, J. Mosnáček, „Ecotoxicological Properties of Tulipalin A-Based Superabsorbents versus Conventional Superabsorbent Hydrogels”, *Advances in Polymer Technology*, 2019, Article ID 2947152, Impact Factor: **1.718**, 70 pkt MNiSW.

10. P. Rychter, **K. Lewicka**, D. Rogacz, „Environmental usefulness of PLA/PEG blends for controlled-release systems of soil-applied herbicides”, *Journal of Applied Polymer Science*, Pub Date: 2019-04-24 , DOI: 10.1002/app.47856, Impact Factor: **1.901**, 70pkt MNiSW.
11. P. Rychter, D. Rogacz, **K. Lewicka**, I. Lacik „Poly(methylene-co-cyanoguanidine) as an Eco-friendly Nitrogen Fertilizer with Prolonged Activity”, *Journal of Polymers and the Environment*; 2019, 27:1317–1332; Impact Factor: **1.971**, 70 pkt MNiSW.
12. P. Rychter, **K. Lewicka**, M. Pastusiak, M. Domański, P. Dobrzyński, „PLGA–PEG terpolymers as a carriers of bioactive agents, influence of PEG blocks content on degradation and release of herbicides into soil”, *Polymer Degradation and Stability*, 2019, 161, 95-107, Impact Factor: **4.023**, 100 pkt MNiSW.
13. **K. Lewicka**, P. Rychter, M. Pastusiak, H. Janeczek, P. Dobrzyński, „Biodegradable Blends of Grafted Dextrin with PLGA-block-PEG Copolymer as a Carrier for Controlled Release of Herbicides into Soil”; *Materials* 2020, 13, 832; Impact Factor: **3.057**, 140 pkt MNiSW.
14. **K. Lewicka**, P. Dobrzyński, P. Rychter, „PLGA-PEG-PLGA Terpolymer-Based Carriers of Herbicides for Potential Application in Environment-Friendly, Controlled Release Systems of Agrochemicals”; *Materials* 2020, 13, 2778; Impact Factor: **3.057**, 140 pkt MNiSW.

Pozostałe publikacje

1. D. Rogacz, **K. Lewicka**, T. Głąb, D. Bubel, K. Szczygieł, P. Kucharek, A. Godela, S. Bednarek, D. Olszewska, Występowanie bakterii metaloopornych w glebie terenu Huty Częstochowa, *Inżynieria środowiska – młodym okiem*, 2015, tom 14, 138.
2. I. Zwierucha, **K. Lewicka**, Zastosowanie diatomitu do usuwania metali ciężkich z roztworów wodnych, *Remediacja, rekultywacja i rewitalizacja*, Polskie Zrzeszenie Inżynierów i Techników Sanitarnych, 2016, 273-283.

Granty

PRELUDIUM 13: 2018-2020 - Otrzymywanie biodegradowalnych polimerów i mieszanin polimerowych oraz ocena ich przydatności dla zastosowań w systemach kontrolowanego uwalniania w agrochemii – UMO- 2017/25/N/ST5/01794

Wystąpienia na konferencjach krajowych i zagranicznych

Komunikaty ustne:

1. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński, Synteza matryc polimerowych do zastosowania w kontrolowanym uwalnianiu środków ochrony roślin, III Ogólnopolska Konferencja Młodych Naukowców Nauk

- Przyrodniczych „Wkraczając w świat nauki 2016”, Wrocław, 15-16 września 2016
2. **K. Lewicka**, P. Rychter, P. Dobrzyński, Charakterystyka procesu (bio)degradacji oraz profilu uwalniania środków ochrony roślin z nowosyntetyzowanych przyjaznych środowisku matryc polimerowych, II Interdyscyplinarna Akademicka Konferencja Ochrony Środowiska, IAKOŚ, Gdańsk, 17-20 maja 2017.
 3. **K. Lewicka**, P. Rychter, P. Dobrzyński, (Bio)degradacja polimerów na bazie poli(glikolu etylenowego) w wodzie, glebie oraz osadzie czynnym, IV Ogólnopolska Konferencja „Wkraczając w świat nauki 2017”, Wrocław, 7-8 września 2017
 4. **K. Lewicka**, P. Rychter, P. Dobrzyński, Synteza i zastosowanie biodegradowalnych terpolimerów blokowych poli(L-laktyd-ko-glikolid)-poli(tlenek etylenu) w agrochemii, VI ogólnopolska konferencja pt. „Pomiędzy naukami – zjazd fizyków i chemików”, Chorzów, 15 września 2017
 5. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński, Zastosowanie polimerów biodegradowalnych jako nośniki środków ochrony roślin, IV Ogólnopolska Konferencja Doktorantów Nauk o Życiu, BIOOPEN 2018, Łódź, 24-25 maja, 2018
 6. **K. Lewicka**, P. Dobrzyński, Mikrosfery – nowoczesna postać herbicydów doglebowych o kontrolowanym uwalnianiu, SCIENCE BEYOND DISCIPLINES 2019, Chorzów, 19-20 września 2019

Referaty:

1. **K. Lewicka**, P. Dobrzyński, Synteza biodegradowalnych polimerów oraz ich zastosowanie w systemach kontrolowanego uwalniania w agrochemii, Wirtualna Konferencja Młodych Przyrodników, 24-29 czerwca 2019

Postery:

1. P. Rychter, **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Dobrzyński; Synthesis of biodegradable carriers based on copolymer PLGA-PEG-PLGA for controlled release system of pesticides, Polymat 2016 - Silesian Meetings On Polymer Materials, Zabrze, 27 – 28 czerwca, 2016
2. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński; Zastosowanie matryc polimerowych w kontrolowanym uwalnianiu środków ochrony roślin, III Ogólnopolska Konferencja Młodych Naukowców Nauk Przyrodniczych „Wkraczając w świat nauki 2016”, Wrocław, 15-16 września 2016
3. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński, Synteza biodegradowalnych nośników na bazie kopolimeru PLGA-PEG-PLGA do kontrolowanego uwalniania pestycydów, V Ogólnopolska Konferencja Pomiędzy Naukami Zjazd Fizyków i Chemików, Chorzów 16 września 2016
4. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński, Synteza matryc polimerowych do zastosowania w kontrolowanym uwalnianiu wybranych

- środków roślin, 59 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego 19-23 września 2016
5. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński, Możliwości zastosowania biodegradowalnych matryc polimerowych w kontrolowanym uwalnianiu środków ochrony roślin, II Interdyscyplinarna Akademicka Konferencja Ochrony Środowiska, IAKOŚ, Gdańsk, 17-20 marca 2017
 6. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński, Synteza biodegradowalnych terpolimerów blokowych poli(L-laktyd-ko-glikolid)-poli(tlenek etylenu) i badania ich przydatności, dla zastosowań w systemach kontrolowanego uwalniania w agrochemii, II Częstochowskim Forum Młodych „NAUKA. LUBIĘ TO!”, Częstochowa, 13 czerwca 2017
 7. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński, Synthesis of biodegradable polymers and their potential usefulness in controlled release systems of agrochemicals, XX International Symposium "Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds", Łódź, 23-24 listopada, 2017
 8. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński, Biodegradowalne polimery i mieszaniny polimerowe dla zastosowań w systemach kontrolowanego uwalniania w agrochemii, III Interdyscyplinarna Akademicka Konferencja Ochrony Środowiska (IAKOŚ), Gdańsk, 13-15 kwietnia, 2018
 9. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński, Synteza polimerowych nośników pestycydowych opartych na oligosacharydach szczepionych E-kaprolaktonem, VI Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, Łódź, 10-11 maja, 2018
 10. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński, Otrzymywanie biodegradowalnych polimerów oraz ich zastosowanie w systemach kontrolowanego uwalniania w agrochemii, IV Ogólnopolska Konferencja Dyplomatów Kierunków Przyrodniczych i Techniczno-Przyrodniczych, BIOPOTENCJAŁ 2018, Warszawa, 8 czerwca, 2018
 11. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński, Synthesis of biodegradable polymers and their potential usefulness in controlled release systems of agrochemicals, XXI International Seminar On Physics and Chemistry of Solids and advanced materials, Częstochowa, 10-13 czerwca, 2018
 12. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński, Otrzymywanie biodegradowalnych polimerów oraz ich zastosowanie w systemach kontrolowanego uwalniania w agrochemii, VII Ogólnopolska Konferencja dla Młodych Naukowców Pomiedzy Naukami, Chorzów, 14 września 2018
 13. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński, Charakterystyka procesu (bio)degradacji oraz profilu uwalniania środków ochrony roślin z nowosyntezowanych przyjaznych środowisku matryc polimerowych, V Ogólnopolska Konferencja Młodych Naukowców Nauk Przyrodniczych, Wkraczając w Świat Nauki, Wrocław 20-21 września 2018
 14. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński, Biodegradowalne polimery dla zastosowań w systemach kontrolowanego uwalniania w agrochemii, III

Konferencja Naukowa Doktorantów Nauk Przyrodniczych, Gdańsk, 25-28 czerwca 2019

15. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński, Zastosowanie biodegradowalnych polimerów w systemach kontrolowanego uwalniania w agrochemii, 44 Międzynarodowe Seminarium Naukowo- Techniczne „Chemistry for Agriculture” Karpacz 24-27 listopada 2019
16. **K. Lewicka**, D. Rogacz, P. Rychter, P. Dobrzyński, Mikrosfery – nowoczesna postać herbicydów doglebowych o kontrolowanym uwalnianiu, 44 Międzynarodowe Seminarium Naukowo- Techniczne „Chemistry for Agriculture” Karpacz 24-27 listopada 2019

Uzyskane nagrody i wyróżnienia naukowe

1. I miejsce w kategorii „Najlepszy poster” - *Zastosowanie matryc polimerowych w kontrolowanym uwalnianiu środków ochrony roślin*, na III Ogólnopolskiej Konferencji Młodych Naukowców Nauk Przyrodniczych „Wkraczając w świat nauki 2016”, Wrocław, 15-16 września 2016.
2. Wyróżnienie na VI Ogólnopolskiej Konferencji Pomiędzy Naukami w Chorzowie, 15 września 2017 za wygłoszony komunikat ustny pt. *Synteza i zastosowanie biodegradowalnych terpolimerów blokowych poli(L-laktyd-koglikolid)-poli(tlenek etylenu) w agrochemii*.