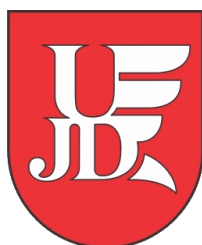


**Uniwersytet Humanistyczno – Przyrodniczy
im. Jana Długosza w Częstochowie
Wydział Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych**



Arkadiusz Żarski

**Biokatalizowana synteza i badania strukturalne hydrofobowych
pochodnych skrobi ukierunkowane na otrzymanie materiałów
polimerowych do produkcji opakowań biodegradowalnych**

**Biocatalysed synthesis and structural studies of hydrophobic starch
derivatives to obtain polymer materials for the production of biodegradable
packaging**

Rozprawa doktorska
przygotowana pod kierunkiem
dr. hab. Janusza Kapuśniaka, prof. UJD
oraz dr. inż. Krzysztofa Bajera

Częstochowa 2020



Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego



Praca naukowa i badania współfinansowane ze środków w ramach działalności statutowej
młodych naukowców w latach 2013-2018 oraz środków w ramach konkursu Preludium w
latach 2017-2020, organizowanego przez Narodowe Centrum Nauki w Polsce
(2016/21/N/ST8/03600)

Podziękowania

Szczególne podziękowania składam mojemu Promotorowi,

Panu dr. hab. Januszowi Kapuśniakowi, prof. UJD

oraz Promotorowi Pomocniczemu

Panu dr. inż. Krzysztofowi Bajerowi

za opiekę merytoryczną oraz życzliwą pomoc
w trakcie prowadzonych badań naukowych
i redagowania niniejszej pracy doktorskiej.

Dziękuję Rodzinie,

Współpracownikom, Koleżankom i Kolegom

z Wydziału Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych

Uniwersytetu Humanistyczno – Przyrodniczego

im. Jana Długosza w Częstochowie

oraz Sieci Badawczej Łukasiewicz –

Instytutowi Inżynierii Materiałów Polimerowych i Barwników w Toruniu

za wyrozumiałość, cenne wskazówki i życzliwą pomoc.

Spis Treści

STRESZCZENIE.....	6
SUMMARY.....	8
WPROWADZENIE.....	10
WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW.....	12

I. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

1 Występowanie, budowa i właściwości skrobi	13
1.1. Skład i budowa chemiczna.....	13
1.2. Właściwości fizyczne i chemiczne.....	17
2. Przegląd najważniejszych metod poprawy właściwości przetwórczych skrobi w kierunku zastosowań niespożywczych.....	19
2.1. Metody fizyczne.....	19
2.2. Metody chemiczne i biochemiczne.....	25
3. Materiały na bazie skrobi dla przemysłu opakowaniowego.....	34

II. TEZA I CEL PRACY.....45

III. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

1. Materiały i metody badawcze.....	46
1.1. Wykaz użytych materiałów i odczynników chemicznych.....	46
1.2. Wykaz użytej aparatury i drobnego sprzętu.....	47
1.3. Metodyka badawcza.....	48
1.3.1. Oznaczenie aktywności enzymatycznej lipaz.....	48
1.3.2. Enzymatyczna hydroliza olejów roślinnych.....	48
1.3.3. Kleikowanie skrobi w cieczy jonowej.....	49
1.3.4. Otrzymywanie estrów skrobi z wyższymi kwasami karboksylowymi.....	49
1.3.5. Oznaczenie stopnia podstawienia (DS) z użyciem metody miareczkowej i analizy elementarnej.....	50
1.3.6. Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR).....	51
1.3.7. Protonowa spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H NMR).....	51
1.3.8. Dyfrakcja promieniowania rentgenowskiego (XRD).....	52
1.3.9. Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM).....	52

1.3.10. Analiza termograwimetryczna (TG), termograwimetryczna różnicowa (DTG) i skaningowa kalorymetria różnicowa (DSC).....	52
1.3.11. Zdolność wiązania oleju (olejochłonność, OBC).....	53
1.3.12. Wytwarzanie folii ze skrobi natywnej lub estrów skrobiowych.....	53
1.3.13. Oznaczanie właściwości mechanicznych i przetwórczych otrzymanych folii.....	54
1.3.14. Oznaczanie podatności folii na biodegradację.....	55
1.3.15. Oznaczanie fitotoksyczności.....	56
2. Wyniki i dyskusja.....	58
2.1. Wybór metody otrzymywania hydrofobowych pochodnych skrobi.....	58
2.2. Kleikowanie skrobi w cieczy jonowej.....	59
2.3. Analiza jakościowa i ilościowa produktów hydrolizy olejów roślinnych.....	62
2.4. Stopień podstawienia.....	69
2.4.1. Wyniki uzyskane na podstawie metody miareczkowej.....	69
2.4.2. Wyniki uzyskane na podstawie analizy elementarnej.....	74
2.5. Analiza widm FT-IR.....	75
2.6. Analiza widm ^1H NMR.....	81
2.7. Analiza rentgenowska.....	85
2.8. Analiza SEM.....	87
2.9. Analiza zdolności wiązania oleju (OBC).....	90
2.10. Analiza właściwości termicznych.....	90
2.11. Wytłaczanie folii ze skrobi ziemniaczanej i jej estrów. Właściwości mechaniczne i przetwórcze.....	94
2.12. Ocena biodegradowalności folii.....	99
2.13. Ocena fitotoksyczności folii.....	103
3. Wnioski.....	112
IV. LITERATURA.....	113
V. SPIS NORM.....	128
VI. SPIS TABEL.....	129
VII. SPIS RYSUNKÓW.....	130

Streszczenie

Naturalne polimery węglowodanowe cieszą się dużym zainteresowaniem ze względu na możliwość ich wykorzystania jako materiałów w różnych gałęziach przemysłu. Jednym z najobficiej występujących w przyrodzie polisacharydów jest skrobia. Charakter hydrofilowy, niska odporność na wilgoć, wysoka kruchość, niekompatybilność z niepolarnymi polimerami hydrofobowymi znacznie ograniczają przemysłowe zastosowanie skrobi natywnej. Jej hydrofobizacja poprzez estryfikację to jedna z wielu metod prowadzonych w celu poprawy właściwości wytrzymałościowych i przetwórczych. Zwykle, aby umożliwić reakcję estryfikacji z kwasami, skrobię najpierw rozpuszcza się w tradycyjnych rozpuszczalnikach organicznych takich jak DMSO, DMF, pirydyna lub tert-butanol. Stosowanie takich związków ma jednak pewne ograniczenia i wady, do których można zaliczyć ich lotność, palność i wysoką toksyczność. Synteza estrów skrobi katalizowana lipazą została uznana za metodę przyjazną dla środowiska z wielu powodów, m.in. takich jak brak szkodliwych produktów ubocznych i bardzo łagodne warunki prowadzonej reakcji.

Celem pracy było uzyskanie nowych materiałów polimerowych poprzez biokatalizowaną estryfikację skrobi ziemniaczanej czystym kwasem oleinowym (reakcje modelowe) lub poddanyymi hydrolizie wysokooleinowymi olejami roślinnymi. Reakcje oparte na olejach przeprowadzono w dwóch etapach. W pierwszym etapie oleje poddawano hydrolizie w obecności lipazy grzybowej zawieszonej w roztworze buforowym. W kolejnym kroku otrzymane hydrolizaty (mieszaniny wyższych kwasów tłuszczowych, oczyszczonych z glicerolu) użyto jako donorów grupy acylowej do estryfikacji skrobi ziemniaczanej. Skrobię wstępnie kleikowano w aprotonowej, imidazoliowej cieczy jonowej, w warunkach ciśnienia atmosferycznego lub obniżonego. W roli katalizatora reakcji estryfikacji zastosowano lipazę grzybową w postaci immobilizowanej na nośniku polimerowym. Syntezę estrów skrobi przeprowadzono w warunkach bezwodnych, z dodatkiem lub bez dodatku niewielkiej ilości niejonowego środka powierzchniowo czynnego. W ostatnim etapie produkty zostały zidentyfikowane i scharakteryzowane przy użyciu następujących metod: oznaczenie stopnia podstawienia (DS) metodą objętościową i analizy elementarnej, spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) i spektroskopii jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR), dyfrakcji rentgenowskiej (XRD), obrazowania przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM), analizy termicznej (TG/DTG, DSC) i grawimetrycznego oznaczenia olejochłonności. Dodatkowo, w celu określenia możliwości wykorzystania uzyskanych materiałów w przemyśle opakowaniowym, wytłoczona z nich folia została poddana

wytrzymałościowym testom mechanicznym (wytrzymałość na rozciąganie i rozdzielanie), testom związanym z przetwarzaniem (hydrofobowość, wodoodporność) i testom środowiskowym (biodegradowalność, fitotoksyczność).

Niezależnie od stosowanego czynnika estyfikującego otrzymano średniopodstawione estry skrobiowe z wydajnością w granicach 80%. Zaproponowana dwuetapowa metoda syntezy estrów skrobiowych umożliwiła otrzymanie materiałów o ulepszonych właściwościach przetwórczych w porównaniu ze skrobią nieestyfikowaną. Dodatkowo stworzono warunki do opracowania nowego sposobu recyklingu olejów odpadowych przemysłu spożywczego. Po estyfikacji wzrosła nie tylko hydrofobowość skrobi, ale także wytrzymałość na rozciąganie oraz na rozdzielanie, bez utraty ważnych cech środowiskowych takich jak biodegradowalność i nietoksyczność. Materiały polimerowe otrzymane w ten sposób dają nadzieję na ich zastosowanie w produkcji nowych, ekologicznych i biodegradowalnych opakowań, w roli głównego składnika lub kompatybilizatora.

Summary

Natural carbohydrate polymers are of great interest regarding to their possible use as materials in various industries. One of the most abundant polysaccharide in nature is starch. Hydrophilic nature, low moisture resistance, high fragility, incompatibility with hydrophobic, non-polar polymers significantly limit the application of native starch for industrial uses. Hydrophobisation of starch by esterification is one of the method which is carried out in order to improve its mechanical and processing properties. Usually, in order to enable an esterification reaction with the acids, a starch is first dissolved in common organic solvents as DMSO, DMF, pyridine or *tert*-butanol. However, the use of such solvents also has some limitations and disadvantages - volatility, flammability and high levels of toxicity. Lipase-catalysed synthesis of starch esters has been recognised as environmentally friendly method due to lack of by-products and very mild reaction conditions.

The objective of the study was to obtain new polymer materials, by biocatalysed esterification of potato starch with pure oleic acid (model reactions) or hydrolysed high oleic vegetable oils. Reactions based on oils were carried out in two steps. Firstly, the oils were hydrolysed with a fungal lipase in a buffer solution form. Then, hydrolysates (the mixture of higher fatty acids, without glycerol) were used as donors of the acyl group for the esterification of potato starch. The starch was formerly pregelatinised in an aprotic imidazolium ionic liquid, under atmospheric or reduced pressure conditions. Esterification was catalysed also by the fungal lipase but with the difference that it was immobilized on a polymer carrier. The synthesis of starch esters was conducted in the anhydrous conditions, with or without addition of small amount of non-ionic surface active agent. The products have been identified and characterized using the following methods: degree of substitution (DS) by volumetric and elemental analysis method, Fourier-transform infrared (FTIR) and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM) and thermal analysis (TG/DTG, DSC). Additionally, in order to determine the possibility of using the obtained materials in the packaging industry, the film extruded from them were subjected to mechanical (tensile and tear strength), processing (hydrophobicity, water resistance) and environmental tests (biodegradability, phytotoxicity).

Regardless of the esterifying agent, medium substituted starch esters with a yield of 80% were obtained. The proposed two-step method for the synthesis of starch esters made it possible to obtain materials with improved processing properties compared to non-esterified starch. Additionally, the conditions for developing a new way of recycling waste oils from the food

industry were created. Esterification increased not only hydrophobicity of the starch, but also tensile and tear strength, without losing important environmental features such as biodegradability and non-toxicity. Such obtained polymer materials give hope for their use in the production of new eco-friendly and biodegradable packagings, as the main component or compatibilizer.

Wprowadzenie

Redukcja zasobów paliw kopalnych i problemy środowiskowe przyczyniły się do opracowywania związków opartych na polimerach naturalnych, które mogą zastąpić tradycyjne polimery petrochemiczne wszędzie tam, gdzie mamy do czynienia z materiałami jednorazowymi lub o krótkim okresie użytkowania. Poszukuje się tanich, nietoksycznych i biodegradowalnych materiałów. Jednym z nich jest skrobia - główny magazyn energii w roślinach i drugi po celulozie najobficiej występujący, odnawialny polisacharyd na świecie. Skrobia od dawna cieszy się zainteresowaniem jako surowiec do produkcji opakowań ulegających biodegradacji. Jednakże podstawową wadą skrobi, jako potencjalnego materiału opakowaniowego, jest jej silna hydrofilowość, słabe właściwości wytrzymałościowe oraz wysoka wrażliwość na wilgoć i bardzo słaba mieszalność z hydrofobowymi polimerami syntetycznymi. Olbrzymią szansę upatrywano w tzw. skrobiach termoplastycznych (TPS), czyli w formach bezpostaciowych i homogenicznych otrzymywanych pod wpływem działania energii termomechanicznej podczas wytłaczania. Taki sposób uplastyczniania skrobi nie rozwiązał jednak problemu kruchości, wrażliwości na czynniki zewnętrzne i słabych właściwości mechanicznych w porównaniu z innymi tworzywami polimerowymi. Sytuacja poprawiła się z chwilą tworzenia blend (mieszanek) skrobi termoplastycznej z polimerami syntetycznymi, zazwyczaj alifatycznymi, takimi jak np. polilaktyd (PLA) czy poli-ε-kaprolakton (PCL). Mimo wszystko pozostawał problem z kompatybilnością. Dodatek zewnętrznych plastyfikatorów lub wypełniaczy tylko w niewielkim stopniu zwiększył możliwości przetwórcze i użytkowe folii skrobiowych. Dlatego, aby rozszerzyć potencjał aplikacyjny, skrobię poddaje się różnego typu modyfikacjom, od mało skomplikowanych obróbek hydrotermicznych (jak wspomniana plastyfikacja i wytłaczanie) po wieloetapowe procesy i reakcje, z wykorzystaniem złożonych technologii. Zdecydowana większość z nich prowadzonych jest w celu hydrofobizacji. Jedną z najstarszych i najbardziej skutecznych metod pozostaje estryfikacja. Estryfikowana skrobia była jak dotąd syntetyzowana przy użyciu klasycznych rozpuszczalników organicznych/nieorganicznych, takich jak DMSO, DMF, DMAc / LiCl lub pirydyny. Lotność, palność i wysoka toksyczność tych rozpuszczalników to cechy, które stwarzają poważne zagrożenie podczas procesu przemysłu, odzyskiwania, a tym samym mogą być sporym i uciążliwym zanieczyszczeniem dla środowiska naturalnego. Dlatego tak ważne stało się poszukiwanie rozpuszczalników nowego typu, w jak największym stopniu zgodnych z zasadami tzw. „zielonej chemii”, a także zasadami zrównoważonego rozwoju. W ostatniej dekadzie, niekonwencjonalne media (ciecze jonowe, CO₂ w stanie

nadkrytycznym) i techniki reakcji (mikrofale, ultradźwięki) stały się coraz bardziej popularne w syntezie nowych estrów skrobiowych. Ze względu na łagodne warunki prowadzenia reakcji i niegenerowanie szkodliwych produktów ubocznych, duże znaczenie w dziedzinie produkcji estrów organicznych zyskuje estryfikacja skrobi w obecności biokatalizatorów typu lipaz czy esteraz. Skuteczną, katalizowaną enzymatycznie estryfikację skrobi można przeprowadzić w cieczach jonowych na bazie imidazoli, w mieszaninie różnych cieczy jonowych lub w układach współrozpuszczalnikowych.

Pomimo tego, że ciecze jonowe sprawdziły się w roli dobrych rozpuszczalników dla skrobi różnego pochodzenia botanicznego, to w procesach estryfikacji nieenzymatycznej i enzymatycznej stosowane były dotąd niezwykle rzadko, głównie dla skrobi kukurydzianej. Poza tym interesujące wydaje się być zastosowanie nienasyconych kwasów tłuszczowych jako donorów grupy acylowej w estryfikacji, co może umożliwić dalszą modyfikację i funkcjonalizację. Bardziej atrakcyjną z ekonomicznego i środowiskowego punktu widzenia, mogłaby być też estryfikacja przy użyciu mieszaniny kwasów tłuszczowych pochodzących z hydrolizowanych olejów wysokooleinowych. Dodatkowo pomogłaby ona w opracowaniu sposobu utylizacji zużytych technologicznie olejów poprodukcyjnych. Większość z estrów skrobiowych, syntezowanych w reakcjach katalizowanych enzymatycznie, charakteryzuje się stosunkowo niskim stopniem podstawienia (DS w przedziale 0,1-0,2). Dlatego dużym wyzwaniem jest optymalizacja warunków prowadzenia estryfikacji i otrzymanie średnio lub wysokopodstawionych hydrofobowych pochodnych tego polimeru dla opakowalnictwa, a także kompleksowa ocena właściwości mechanicznych, przetwórczych i środowiskowych folii otrzymanych przez wytłaczanie, a nie metodą kastingową. Realizacja tak przedstawionej koncepcji pozwoliłaby na prowadzenie syntez w dużym stopniu zgodnych z zasadami zielonej chemii i zrównoważonego rozwoju.

Wykaz stosowanych skrótów

[BMIM]BF₄ – tetrafluoroboran 1-butylo-3-metyloimidazoliowy
[BMIM]Cl – chlorek 1-butylo-3-metyloimidazoliowy
[BMIM]DCA – dicyjanoamid 1-butylo-3-metyloimidazoliowy
[BMIM]OAc – octan 1-butylo-3-metyloimidazoliowy
[BMIM]PF₆ – heksafluorofosforan 1-butylo-3-metyloimidazoliowy
[C₈MIM]NO₃ – azotan 1-oktylo-3-metyloimidazoliowy
ABS – kopolimer akrylonitrylo-butadienowo-styrenowy
DMAc- dimetyloacetamid
DMF – dimetyloformamid
DMSO – dimetylosulfotlenek
DP – stopień polimeryzacji
DS – stopień podstawienia
DSC – skaningowa kalorymetria różnicowa
FTIR – spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera
HDPE – polietylen wysokiej gęstości
ILs – ciecze jonowe
LLDPE – liniowy polietylen niskiej gęstości
NMR – spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego
PBS – polibutylobursztynian
PCL – polikaprolakton
PEAs – poliesteramidy
PHEE – eter polihydroksyestru
PLA – polilaktyd
PP – polipropylen
PS – polistyren
PU – poliuretan
PVA – alkohol poliwinylowy
SEM – skaningowa mikroskopia elektronowa
TG/DTG - analiza termograwimetryczna / termograwimetryczna różnicowa
XRD - dyfraktometria promieni rentgenowskich

I. Część teoretyczna

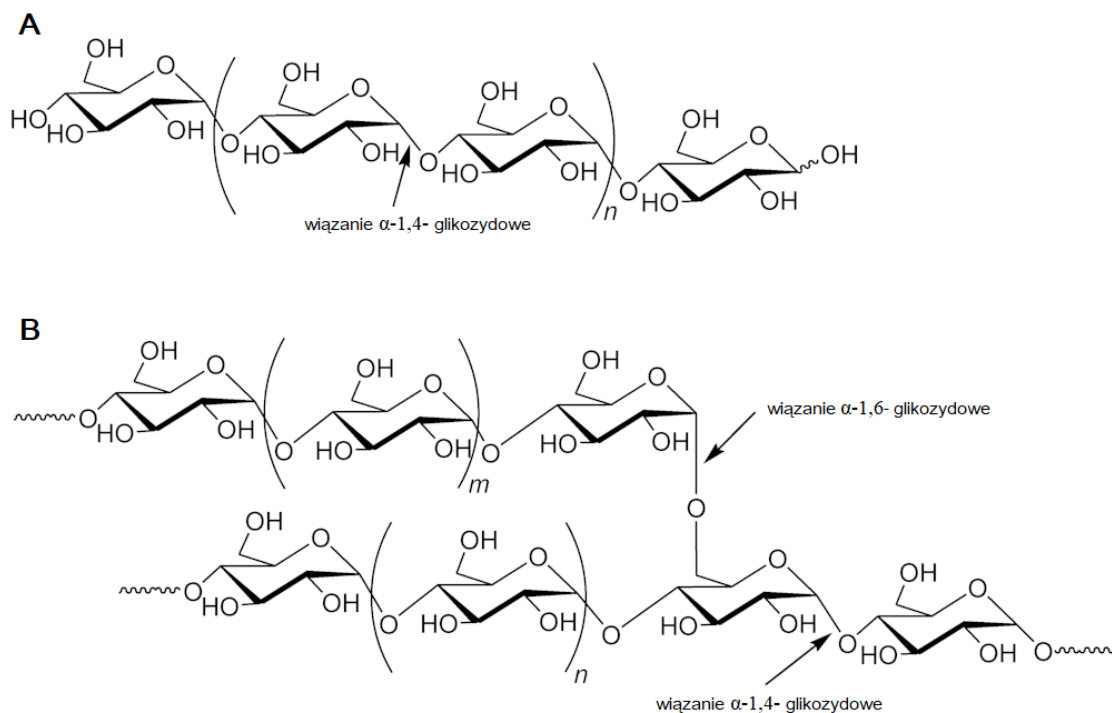
1. Występowanie, budowa i właściwości skrobi

1.1. Skład i budowa chemiczna

Skrobia pod względem chemicznym należy do homopolisacharydów. Zbudowana jest z jednego rodzaju merów – α -D-glukopiranozy, występujących w postaci sześciowęglowych zamkniętych pierścieni, współtworzących formy łańcuchowe i rozgałęzione polimeru. Wydłużanie łańcucha odbywa się dzięki substytucji hemiacetalowej grupy wodorotlenowej przy węglu C-1 jednej cząsteczki glukozy przez atom tlenu grupy wodorotlenowej przy węglu C-4 kolejnej jednostki, z wydzieleniem cząsteczki wody (dlatego często zamiast terminu jednostka glukoza używa się określenia jednostka anhydroglukoza, AGU) (Tege, 2010). W połączeniach jednostek glukozy polimeru dominują wiązania α -1,4 i α -1,6 glikozydowe. Wiązania takie powstają w wyniku łączenia się sąsiadujących cząsteczek α -D-glukozy poprzez atom tlenu współtworzący grupę hydroksylową, z wydzieleniem cząsteczki wody. Wydłużanie łańcucha polimerowego w powyższy sposób doprowadza do sytuacji, gdzie jeden z jego końców, z wolną grupą hydroksylową, to koniec nieredukujący, a drugi, z wolną grupą aldehydową, przyjmuje charakter redukujący. Polimeryzacja glukozy w cząsteczce skrobi skutkuje wytworzeniem dwóch frakcji polisacharydowych: liniowej amylozy i rozgałęzionej amylopektyny. Obie frakcje składają się z łańcuchów złożonych z reszt α -D-glukopiranozy połączonych wiązaniami α -1,4 – glikozydowymi, a z kolei łańcuchy połączone są ze sobą wiązaniami α -1,6 -glikozydowymi, tworząc w ten sposób rozgałęzienia w polimerach (Rys.1.1.). Choć zasadniczo amyloza uważana jest za typową długołańcuchową frakcję liniową, to udowodniono obecność w jej cząsteczkach pewnych, nielicznych rozgałęzień (Hizukuri i wsp., 1981, Takeda i wsp., 1987). Mimo to, pozostają nadal istotne różnice pomiędzy głównymi składnikami skrobi. Amylopektyna charakteryzuje się dużym stopniem rozgałęzienia (ok. 5% cząsteczki) i stosunkowo krótkimi łańcuchami, co prowadzi do występowania wysoce złożonej struktury molekularnej (Bertoft i wsp., 2008). Z kolei zarówno postać rozgałęziona, jak i liniowa amyloza składa się z długich łańcuchów (nawet do kilku tysięcy jednostek glukozy) (Hizukuri i wsp., 1989).

Stosunek ilościowy frakcji skrobiowych nie jest wartością stałą i różni się znacznie w zależności od źródła botanicznego skrobi (Tab.1.1.). Zazwyczaj głównym składnikiem polisacharydowym skrobi jest amylopektyna w stosunku 3:1 do amylozy, przy czym istnieją wyjątki, tak jak w przypadku skrobi woskowych, gdzie amylopektyna stanowi nawet do 100%

polimeru czy wysokoamylozowych, jak w przypadku odmiany skrobi kukurydzianej z zawartością amylozy nawet do 70%. Znane są w literaturze również skrobie kukurydziane genetycznie modyfikowane o zawartości amylozy powyżej 90% (Robyt, 2008; Alcázar-Alay i Meireles, 2015).



Rys.1.1. Budowa frakcji skrobiowych: A –amyloza; B- amylopektyna.
(zmodyfikowany; <https://chemistry.stackexchange.com>)

Komponenty polisacharydowe skrobi różnią się także od siebie masą cząsteczkową, która z kolei również zależy od pochodzenia polimeru. Masa cząsteczkowa amylozy jest o wiele niższa w porównaniu z amylopektyną, a obie frakcje utożsamiane są z rozkładem ciężarów cząsteczkowych w polimerze, tak, że jego masa cząsteczkowa jest wyrażona jako średnia mas frakcji. Ciężar cząsteczkowy frakcji mieści się w granicach $10^5 - 10^6$ Da, dla amylozy i $10^7 - 10^8$ Da dla amylopektyny (Hizukuri i Takagi, 1984; Aberle i wsp., 1994; Yokoyama i wsp., 1998; Mitrus i wsp., 2009). Dla przykładu, stopień polimeryzacji amylozy ziemniaczanej to ok. 10^3 reszt glukozy, czyli średnia masa cząsteczkowa jest równa ok. 162×10^3 Da, natomiast dla porównania pszennej wynosi odpowiednio 4×10^3 reszt glukozy i 648×10^3 Da (Robyt, 2008).

W skrobi oprócz składników polisacharydowych mogą występować inne tzw. niepolisacharydowe, do których zaliczyć można lipidy, białka, związki fosforu, składniki mineralne, głównie w postaci tlenków oraz wodę, związaną lub niezwiązaną chemicznie. Zawartość tej ostatniej jest bardzo istotna z punktu widzenia wielu właściwości i zastosowań

skrobi. W skrobiach dostępnych handlowo zawartość wody waha się od 12 do 21% (w tym skrobiach zbożowych do 14%, korzeniowych do 17% i bulwiastych do 21%). Ze względu na postać czy formę w jakiej może występować woda w ziarnach skrobiowych, klasyfikuje się ją jako zaadsorbowaną, krystalizacyjną lub inkluzyjną (wypełniającą wolne przestrzenie wewnątrz lub międzycząsteczkowe). W zależności od warunków atmosferycznych (głównie temperatury i względnej wilgotności powietrza) jej zawartość może ulegać znacznym zmianom (Tegge, 2010).

Zarówno amyloza jak i amylopektyna nie występują w przyrodzie jako osobne związki, lecz w formie nierozpuszczalnych w wodzie, dyskretnych i semikrystalicznych agregatów zwanych ziarnami skrobi. Ziarna te w zależności od jej pochodzenia botanicznego różnią się znacznie w rozumieniu morfologicznym, szczególnie pod względem rozmiarów (od 1 do 100 μm) i kształtów (okrągłe, owalne, sferyczne, kadłubowe czy nieregularne) (Alexander, 1995; Thomas i Atwell, 1998; Juszczak, 2001; Ratuszniak i Kubas, 2007; Bajer i wsp., 2013).

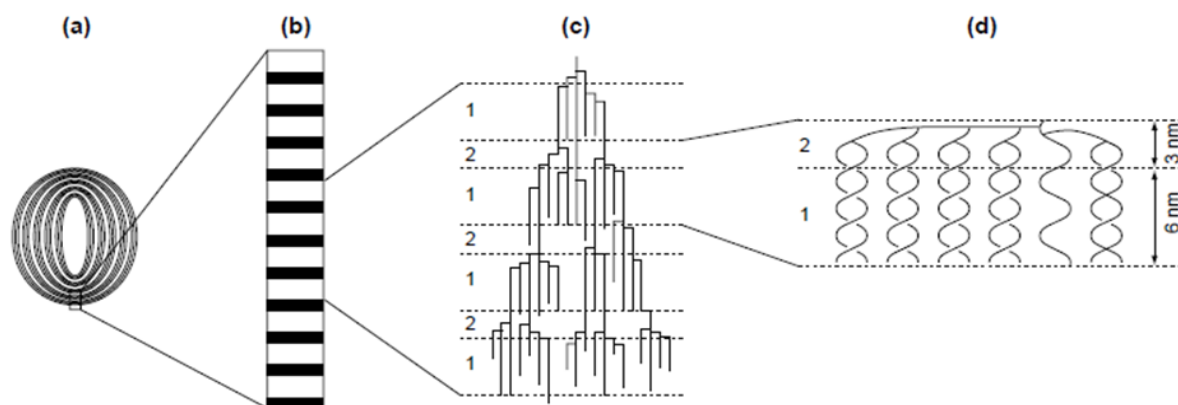
Tab.1.1. Zawartość procentowa składników polisacharydowych i niepolisacharydowych w wybranych skrobiach (Gracza, 1965; Robyt, 2008)

Rodzaj skrobi	Składniki polisacharydowe		Składniki niepolisacharydowe		
	Amyloza	Amylopektyna	Glicerydy	Białka	Fosforany
			i kwasy tłuszczowe		
ziemniaczana	22	78	0,01	0,10	0,210
kukurydziana	25	75	0,80	0,35	0,090
pszenna	23	77	0,90	0,40	0,180
ryżowa	19	81	0,59	0,30	0,090
tapiokowa	17	83	0,02	0,10	0,009

Ziarna skrobiowe posiadają strukturę semikrystaliczną, ze stopniem skrzystalizowania w przedziale 15 – 45% i związanej głównie z obecnością frakcji rozgałęzionej, czyli amylopektynowej. Ogólny model krystalicznych części ziarna skrobiowego opiera się na sferokrystalicznym zespole cząsteczek amylopektyny, złożonych z podwójnych helis układanych promieniowo w taki sposób, że koniec nieredukujący łańcucha polimerowego skierowany jest ku powierzchni ziaren. Łańcuchy frakcji rozgałęzionej układają się warstwowo jedna na drugą w ujęciu dwuwymiarowym, a wraz z łańcuchami frakcji nierozgałęzionej

organizują się w trójwymiarowe micle tworząc promieniście rozchodzące się krystality o wielkości ok. 9 nm (Thomas i wsp., 1997; Tegge, 2010). Uważa się, że wiązania α -1,6 – glikozydowe w amylopektynie, czyli miejsca rozgałęzień zlokalizowane są w obszarach amorficznych i współtworzą wraz z amylozą frakcje bezpostaciowe polimeru. Częsteczki zarówno amylozy jak i amylopektyny poprzez tworzone wiązania wodorowe i hydrofobowe, wewnątrz i międzycząsteczkowe prowadzą do powstawania struktur o coraz wyższym stopniu organizacyjnym (Rys.1.2.) tj. od lameli poprzez klastry, blocklety, pierścienie przyrostu, aż do produktu końcowego czyli nierozpuszczalnych w wodzie ziaren z naprzemiennie występującymi warstwami krystalicznymi i amorficznymi (Buléon i wsp., 1998).

Zasadnicze różnice występują także w stopniu krystaliczności, co zostało potwierdzone badaniami rentgenowskimi z wykorzystaniem dyfraktometru proszkowego. Wyróżnia się trzy główne typy struktur krystalograficznych: dwa podstawowe A i B oraz pośredni C. Typ A charakterystyczny jest dla skrobi zbożowych pszenicznej, kukurydzianej czy ryżowej.



Rys.1.2. Poziomy organizacyjne ziarna skrobiowego: a) ziarno skrobiowe z naprzemiennie ułożonymi warstwami krystalicznymi i amorficznymi, b) pierścień przyrostu z widocznymi lamelami, c) ułożenie wiązań α -1,4 i α -1,6 – glikozydowych w lamelach, d) pojedynczy klaster z widocznymi łańcuchami amylopektyny (Ball i wsp., 1996)

Struktury krystalograficzne typu B występują natomiast w skrobiach otrzymywanych z owoców, bulw i korzeni (np. z bananów, ziemniaków), a typ C w skrobiach roślin strączkowych i tropikalnych (Bogacheva i wsp., 1998; Robyt, 2008). W typach A i B dominują stabilizowane wiązaniami wodorowymi lewoskrętne helisy o równoległych ułożeniach względem siebie. W skrobiach z typem strukturalnym A helisy te są gęsto upakowane, rozgałęzienia amylopektyny są krótkie, ze stopniem polimeryzacji (DP) 6-15. W układzie polimorficznym typu B występują łańcuchy bardziej spolimeryzowane i dzielą się w zależności od długości na cztery grupy: B1

(DP 15-25), B2 (DP 40-50) oraz B3 i B4 (DP >50). W tym typie krystalicznym helisy tworzą układy heksagonalne z koncentrycznie odkładanymi cząsteczkami wody. Typ C, jak już wcześniej wspomniano jest typem pośrednim, stanowiącym niejako mieszaninę struktur typu A i B, co można zobrazować i przedstawić w ten sposób, że centralnie ułożony rdzeń o strukturze typu B jest dodatkowo otoczony strukturą typu A, a krystaliczna kombinacja złożona jest z amylopektyny o niezredukowanych końcach (Alcázar-Alay i Meireles, 2015; Jane, 2009).

1.2. Właściwości fizyczne i chemiczne

Występowanie określonych cech fizykochemicznych skrobi zależy w dużym stopniu od uwarunkowań genetycznych, gatunków i odmian roślin z których była izolowana, a także warunków upraw tych roślin. Silne zróżnicowanie w odniesieniu do właściwości fizycznych i chemicznych jest podyktowane także różnicami w zawartościach składników niepolisacharydowych oraz w budowie i strukturze ziaren skrobiowych (Tegge, 2010).

Skrobia natywna jest nierozpuszczalna w zimnej wodzie i większości rozpuszczalników organicznych, co szczególnie związane jest z obecnością nierozpuszczalnej lub trudno rozpuszczalnej frakcji amylozowej. Jak już wspomniano w przypadku omawiania niepolisacharydowych składników skrobi, jednym z nich jest woda. Ziarna skrobiowe mogą zwiększać jej ilość przez tzw. odwracalne pęcznienie, objawiające się wzrostem ich objętości nawet do 30% (Ai i Jane, 2018). Pęcznienie to proces egzotermiczny, podczas którego cząsteczki wody pochłaniane są do strefy amorficznej, gdzie wiązane są za pomocą wiązań wodorowych z wolnymi grupami hydroksylowymi jednostek glukozowych łańcuchów polimerowych. Natomiast w przypadku jeśli wodną zawiesinę skrobiową podgrzejemy powyżej pewnej określonej temperatury to wówczas ziarna skrobiowe pęcznią sferycznie i stają się amorficzne. Powyższe przejście termiczne określa się mianem kleikowania skrobi, a temperaturę tego przejścia - temperaturą kleikowania (Jane i wsp., 1999). Jest to parametr o różnych wartościach w zależności od pochodzenia botanicznego skrobi. Bardziej prawidłowym jest stosowanie terminu zakres temperatury kleikowania dlatego, że kleikowanie ziaren zachodzi w zależności od ich rozmiarów, od największych do najmniejszych, a więc stopniowo (Hoover, 2001). Przykładowo, dla skrobi ziemniaczanej zakres ten mieści się w przedziale 50 - 70°C. Kleikowaniu towarzyszą inne zjawiska lub procesy takie jak m.in. utrata dwójłomności, wzrost lepkości i przewodnictwa elektrycznego. Kleik skrobiowy z czasem może ulegać tzw. retrogradacji czyli ponownemu upostaciowieniu (Tomasik, 1998). Jest to proces nieodwracalny i objawia się powstawaniem nierozpuszczalnych agregatów amylozowych, wytrączanych w

postaci dendrytów. Innymi słowy to rodzaj wtórnej krystalizacji poprzez odtwarzanie wiązań wodorowych pomiędzy grupami hydroksylowymi, któremu towarzyszy synergeza.

Kolejną z istotnych właściwości skrobi, którą ciężko de facto zaliczyć jednoznacznie do właściwości fizycznych lub chemicznych jest jej zdolność do tworzenia tzw. kompleksów inkluzyjnych. Najbardziej znanym spośród nich jest kompleks amylozy z jodem w obecności jonów jodkowych, w którym to przestrzeń wewnętrzną helisy amylozowej wypełniają cząsteczki jodu (na 1 skok inaczej zwany skrętem helisy czyli ok. 6 jednostek glukozydowych przypada 1 atom jodu). Powstający jon zespolony daje charakterystyczne ciemnognatowe zabarwienie, zanikające po uprzedniej denaturacji łańcucha amylozowego, zachodzącej np. po ogrzewaniu lub hydrolizie (Tegge, 2010). Kompleksowanie jodem może służyć jako jedna z szybszych metod oznaczania stopnia depolimeryzacji amylozy (w krótszych łańcuchach kompleksy przybierają barwę czerwoną lub fioletową). Amyloza może wchodzić także w kompleksy z innymi związkami, np. organicznymi, współtworząc charakterystyczną strukturę krystalograficzną zwaną „V”. Sposób skompleksowania w zależności od budowy związku spełniającego rolę tzw. „gościa” może być odmienny (Robyt, 2008).

Z kolei właściwości chemiczne skrobi, tak jak i innych związków chemicznych, związane są ściśle z jej reaktywnością. Skrobia to polimer, który pod względem chemicznym posiada w większości cechy charakterystyczne dla alkoholi, aldehydów lub eterów (Tomasik i wsp., 2004). Reaktywność natywnej skrobi jest stosunkowo niewielka i głównie odnosi się do grup hydroksylowych jednostek glukozydowych (reakcje substytucji i utleniania), a także wiązań glikozydowych pomiędzy poszczególnymi merami polisacharydu (reakcje depolimeryzacji jak np. dekstrynizacja). Zależy ona głównie od takich czynników jak rodzaj konformacji pierścienia, wiązań międzycząsteczkowych, gęstości elektronowej na atomach tlenu i reakcji sferycznych z sąsiadującymi grupami chemicznymi (Tegge, 2010). Wśród reakcji, jakim może ulegać skrobia możemy wyróżnić ogólnie dwie grupy, tzn. reakcje wywołujące całkowitą dezintegrację strukturalną, obejmującą rozpad wiązań glikozydowych i degradację ziaren, oraz reakcje skutkujące niewielkim, częściowym rozkładem ziaren, głównie za sprawą rozpadu międzycząsteczkowych wiązań wodorowych. Pod względem technicznym, ze względu na skomplikowaną budowę ziarnistą skrobi, a tym samym utrudnioną dostępność do grup hydroksylowych i wiązań glikozydowych, stosuje się w większości reakcje rozpuszczalnikowe lub ze wstępnym etapem kleikowania skrobi (Tomasik i Schilling, 2004). Reakcje homogeniczne to jednak nie jedyny sposób prowadzenia reakcji jako składowych modyfikacji tego polisacharydu. Znane są w literaturze także doniesienia o efektywnych reakcjach

bezozpuszczalnikowych, prowadzonych w fazie stałej, ogrzewanych konwencjonalnie lub z użyciem pola mikrofalowego (Kapuśniak i Siemion, 2007; Staroszczyk i wsp., 2007).

2. Przegląd najważniejszych metod poprawy właściwości przetwórczych skrobi w kierunku zastosowań niespożywczych

Skrobia naturalna nie wykazuje zbyt dobrych właściwości przetwórczych i użytkowych. Jej duża kruchość, brak kompatybilności z polimerami hydrofobowymi ze względu na silnie hydrofilowy charakter, słaba jakość przetwórcza wynikająca z jej dużej lepkości, niska odporność na czynniki zewnętrzne w trakcie przechowywania, głównie wilgoć, to jej główne wady, które stanowią znaczne ograniczenie w możliwości zastosowania w różnych gałęziach przemysłu. Co jednak wydaje się być najważniejsze, niesłabnące zainteresowanie tym polimerem wynika z tego, że pomimo wielu wad posiada całą gamę bardzo istotnych zalet. Przede wszystkim jest to polimer naturalny, odnawialny i biodegradowalny, co ma ogromne znaczenie w dobie poszukiwania materiałów i technologii przyjaznych środowisku naturalnemu i redukcji występujących w nim zanieczyszczeń. Dlatego skrobię natywną poddaje się różnego typu modyfikacjom, zazwyczaj w celu poprawy właściwości mechanicznych, przetwórczych czy użytkowych. Można podzielić je na cztery podstawowe grupy: modyfikacje fizyczne, chemiczne, biochemiczne i genetyczne inaczej zwane biotechnologicznymi. Coraz częściej wymienia się jednak dodatkowe sposoby modyfikacji w których wykorzystuje się równolegle lub szeregowo więcej procesów i reakcji. Mowa wtedy o tzw. modyfikacjach dualnych, a nawet mieszanych (Angellier i wsp., 2006; Averous i Boquillon, 2004; Briassoulis, 2004; Junistia i wsp., 2008).

Poniżej przedstawiono metody modyfikacji skrobi w kierunku zastosowań nieżywnościowych, głównie istotne dla przemysłu opakowaniowego. Skupiono się na procesach i obróbce zwiększającej jej plastyczność, kompatybilność z naturalnymi i syntetycznymi polimerami hydrofobowymi oraz zwiększającej odporność na czynniki zewnętrzne, przy zachowaniu zalet nietoksyczności i biodegradowalności.

2.1. Metody fizyczne

Modyfikacje fizyczne prowadzone są zazwyczaj w celu destrukcji ziaren skrobiowych (redukcji ziarnistości skrobi) oraz poprawy rozpuszczalności w zimnej wodzie lub innych rozpuszczalnikach chemicznych. Najczęściej w tego typu modyfikacjach wykorzystuje się metody oparte na kondycjonowaniu ziarnistej skrobi w różnych warunkach m.in. wilgotności, ciśnienia, temperatury, napromieniowania czy różnych układach mechanicznych (Ashogbon i

Akintayo, 2014). Metody fizyczne powodują zmiany strukturalne w skrobi dzięki stosowaniu energii mechanicznej, magnetycznej, elektrycznej lub ich kombinacjom. Zmiany strukturalne powodują w następstwie zmiany we właściwościach całego polimeru (Bao i wsp., 2003). Podczas modyfikacji fizycznych integralność cząsteczek może zostać zachowana (procesy hydrotermiczne) lub przerwana, zniszczona (utrata ziarnistości wraz z częściową depolimeryzacją składników). Do najpopularniejszych procesów hydrotermicznych zaliczyć można wstępne żelowanie. Prowadzi ono do zwiększania zdolności absorpcji wody czy rozpuszczalności „na zimno” i może być prowadzone z wykorzystaniem następujących technik: suszenie rozpyłowe, suszenie bębnowe czy ekstruzja (Ashogbon i Akintayo, 2014).

Opisany wcześniej, przy okazji omawiania właściwości fizycznych i chemicznych skrobi, proces kleikowania, to również proces zaliczany do fizycznych modyfikacji skrobi, który poprzez przegrupowanie wewnątrz i międzycząsteczkowych wiązań wodorowych pomiędzy skrobią a wodą, prowadzi do zmian zarówno w organizacji ziarna skrobiowego oraz do zmian wielu właściwości fizycznych i chemicznych (Freitas, i wsp., 2004). Utrata ziarnistości potwierdzona jest pęcznieniem ziaren, zwiększeniem ich objętości oraz utratą krystaliczności i co za tym idzie dwójłomności (Olett i wsp. 1993; Rahmouni i wsp. 1993).

Modyfikacje hydrotermiczne skrobi prowadzone są głównie w takim celu jak: obniżenie możliwości ługowania amylozy, redukcji lepkości czy pęcznienia ziaren oraz podwyższania temperatury kleikowania, stabilności termicznej, a także podatności na hydrolizę kwasową i enzymatyczną, np. α -amylazą (Chung i wsp., 2009; Chung i wsp., 2010; Hoover i Manuel, 1996, Hoover i wsp., 1996). Cechą charakterystyczną zabiegów hydrotermicznych jest zmiana właściwości fizykochemicznych skrobi normalnych bez zniszczenia jej struktury ziarnistej, jak również fakt, że zachodzą w temperaturach poniżej temperatury kleikowania i powyżej temperatury zeszklenia. Zarówno, zaliczane do tego typu modyfikacji, obróbka hydrotermalna jak i tzw. annealing przeprowadzane są przy określonych poziomach wilgotności, odpowiednich temperaturach i czasie. Ta pierwsza dotyczy modyfikacji skrobi przy niskich poziomach wilgotności tj. < 35% w/w, natomiast druga przy wartościach średnich 40-45% w/w lub wysokich < 65% w/w. Annealing to metoda kondycjonowania ziaren skrobiowych, która nie prowadzi do zmian w ich morfologii, ale wywiera pośrednio wpływ na właściwości skrobi takie jak zdolność do kleikowania, pęcznienia czy ługowania w zależności od zastosowanych warunków procesu i źródła botanicznego skrobi (Jacobs i wsp., 1998; Tester i Debon, 2000). Głównym celem annealingu jest zbliżenie się do temperatury przejścia stanu szklistego, co zwiększa mobilność cząsteczek polimeru.

Wśród innych, obecnie coraz częściej stosowanych fizycznych metod modyfikacji skrobi możemy wskazać m.in.: iterowaną synerezę (Lewandowicz i Soral-Śmietana, 2004), wielokrotne zamrażanie i odmrażanie (Szymońska, 2003), obróbkę w pulsacyjnym polu elektrycznym (Han i wsp., 2009), obróbkę ciśnieniem osmotycznym (Pkkahuta i wsp., 2007) czy koronowe wyładowanie elektryczne (Nemtanu i Minea, 2006). Opisane zostały w literaturze przykłady użycia oddziaływań mechanicznych, wysokiego ciśnienia hydrostatycznego, ultradźwięków, czy promieni elektromagnetycznych (Alcázar-Alay i Meireles, 2015). W metodach wysokociśnieniowych stosuje się ciśnienia w przedziale 400 - 900 MPa w temperaturze pokojowej. Tak wysokie ciśnienie ogranicza zdolność pęcznienia i tym samym zmniejsza lepkość żelów skrobiowych. Dodatkowo w technologiach ciśnieniowych stosowane są gazy w formie zjonizowanej, czyli pod postacią tzw. plazmy. Jonizacji głównie poddawane są argon, wodór, tlen, etylen czy metan. Do najczęściej obserwowanych efektów obróbki ciśnieniowej zaliczamy zmiany w stopniu polimeryzacji, higroskopijności i utlenianie skrobi (Deeyai i wsp., 2013; Wongsagonsup i wsp., 2014).

W celu nadania skrobi hydrofobowości metodami fizycznymi, Bastos i in. (2009) prowadzili obróbkę skrobi kukurydzianej za pomocą plazmy i heksafluorku siarki (SF_6). Efektywność hydrofobizacji powierzchni polisacharydu, mierzona w sposób dynamiczny poprzez ocenę kąta zwilżania wobec wody, była ściśle zależna od mocy użytej plazmy. Dłuższy czas ekspozycji doprowadził do prawie całkowitego zaniku regionu międzyfazowego, a modyfikacje powierzchniowe doprowadziły w efekcie do powstania chropowatych pofałdowań bliskiego zasięgu (Bastos i wsp., 2009).

Podczas oddziaływania mikrofal na skrobię najważniejszymi parametrami są temperatura i wilgotność, od których to zależą właściwości dielektryczne skrobi. Zachodzące podczas napromieniowania przegrupowanie cząsteczkowe w polimerze prowadzi do zmian we właściwościach reologicznych, temperatury kleikowania, entalpii, zdolności pęcznienia i rozpuszczalności, a także może powodować istotne zmiany w krystaliczności i morfologii ziaren skrobiowych (Braşoveanu i Nemtanu, 2014). Z kolei potraktowanie skrobi ultradźwiękami prowadzi do zmian w jej obszarach amorficznych przy zachowaniu kształtu i rozmiaru ziaren (Yu i wsp., 2013). Dlatego zazwyczaj metodom z wykorzystaniem ultradźwięków poddaje się skrobię uprzednio zżelowaną, gdzie po modyfikacji powierzchnia staje się porowata i zdeformowana, a zmianom ulegają takie właściwości skrobi jak rozpuszczalność, pęcznienie i lepkość (Iida i wsp. 2008; Zuo i wsp., 2012).

Do najczęściej stosowanych zabiegów opierających się na oddziaływaniach głównie mechanicznych można zaliczyć mielenie, mieszanie (blendowanie) oraz wytłaczanie

(ekstruzję). Mielenie kulowe polega na tarciu ziaren wzajemnie między sobą, ścianą młyna i kul co powoduje ich rozpad na mniejsze fragmenty, czyli mówiąc w skrócie jest to ich mechanicznie indukowana destrukcja. Uszkodzenie ziaren podczas mielenia skutkuje, poza ich fragmentacją, obniżeniem entalpii kleikowania, temperatury zeszklenia i pozornej lepkości, a co więcej indukuje częściowe kleikowanie ziaren, poprzez zwiększanie ich rozpuszczalności w zimnej wodzie i jej absorpcję (Karkalas i wsp., 1992; Martinez-Bustos i wsp., 2007; Zhang i wsp., 2003).

Temperatura rozkładu skrobi jest niższa od temperatury jej topnienia (odpowiednio ok. 220 i 240°C). Dlatego aby obniżyć tą drugą, stosowane są związki o właściwościach plastyfikujących, takie jak poliole (glicerol, sorbitol, politlenek winylu), ich mieszaniny, jak również związki zawierające azot typu mocznik, biuret, pochodne aminy i pochodne amoniowe (Xie i wsp., 2017). Plastyfikacja to częsty zabieg poprzedzający wytłaczanie lub wtryskiwanie wysokociśnieniowe. Wytłaczanie to jeden z najpowszechniej stosowanych w przetwórstwie materiałowym sposobów otrzymywania produktów termoplastycznych, zarówno bazujących na polimerach syntetycznych, półsyntetycznych czy nawet naturalnych. W przypadku polimeru, jakim jest skrobia, jest to proces podczas którego działając na nią energią termomechaniczną, doprowadza się do rozpadu jej struktury ziarnistej, a także semikrystalicznej, w efekcie czego otrzymuje się materiał amorficzny i homogeniczny nazywany skrobią termoplastyczną (z ang. thermoplastic starch; TPS) (Wang i wsp., 2003). Najczęściej wytłaczanie jest przeprowadzane jedno lub dwuetapowo w urządzeniach zwanych wytłaczarkami, o różnej, mniej lub bardziej skomplikowanej budowie. W procesie jednoetapowym zazwyczaj dwuślimakowa wytłaczarka wypełniona jest natywną skrobią, a plastyfikator dodawany jest porcjami w trakcie wytłaczania. Gdy proces zachodzi dwuetapowo, to najpierw przygotowywana jest sucha mieszanka, czyli wytłaczanie poprzedzone jest plastyfikacją w mieszalniku w celu doprowadzenia do homogenicznej polidispersji. Wytłaczanie polega więc na uplastycznianiu tworzywa, a następnie wyciskaniu go przez kanały o danym profilu w głowicy wytłaczarskiej. Wytłaczarki złożone są z trzech podstawowych układów: napędowego, sterującego i uplastyczniającego, a ten ostatni z kilku stref, takich jak strefa zasilania, sprężania i dozowania (Rys.2.1.) oraz kilku stref grzewczych lub grzewczochłodzących wzdłuż cylindra (Stasiek, 2007). Materiał ogrzewa się w celu osiągnięcia określonej plastyczności i w kolejnym etapie przetłacza z użyciem przenośnika śrubowego (tzw. ślimaka) przez kolejne strefy aż do głowicy wytłaczarskiej, a następnie chłodzi, otrzymując wytłocznę (np. kształtki, folie). Stosowane ogrzewanie, działanie plastyfikatora czy w końcu sił ścinających (siły tarcia wewnętrznego w cylindrze) mogą doprowadzić nie

tylko do destrukcji ziaren skrobiowych i ich fragmentacji, ale co więcej do jej niekontrolowanej częściowej depolimeryzacji (Bajer, 2015).

Poprawę właściwości fizykochemicznych skrobi można uzyskać przez jej blendowanie z innymi polimerami naturalnymi lub częściej polimerami syntetycznymi. Niejednokrotnie stosowano już skrobię w postaci ziarnistej, jako rodzaj wypełniacza umożliwiającego zwiększenie podatności na biodegradację szeroko rozpowszechnionych tworzyw sztucznych m.in. takich jak liniowy polietylen niskiej gęstości (LLDPE), polietylen wysokiej gęstości (HDPE), polipropylen (PP) czy polistyren (PS) (Chiu i Solarek, 2009; Griffin, 1977, 1978a, 1978b). Aby zwiększyć kompatybilność skrobi z hydrofobowymi polimerami często poddaje się ją wstępnym modyfikacjom fizycznym, chemicznym, enzymatycznym lub mieszanym.



Rys.2.1. Zdjęcie wyłaczarki jednoślismakowej 19/25D (Brabender, Niemcy) wyposażonej w głowicę wąskoszczelinową (Ł – IMPIB; 2019)

Najpowszechniej stosuje się mieszanki o zawartości skrobi lub jej pochodnych od 6 do 20% w/w, głównie aby poprawić właściwości składnika o większej zawartości, czyli w tym przypadku polimerów syntetycznych. Dodatek polisacharydu sprzyja lepszej przepuszczalności pary wodnej, zwiększonej stabilności wymiarowej i wzrostowi sztywności materiałów (Chiu i Solarek, 2009; Doane, 1994). Do celów opakowaniowych, w produkcji folii ściółkowych i geowłóknin stosuje się blendy skrobi z kopolimerami etylenu i estrów akrylowych oraz metakrylanów lub octanów winylu). Kopolimery polarne w mieszankach ze skrobią odgrywają rolę środków homogenizujących za sprawą obniżania energii międzyfazowej pomiędzy polisacharydem a poliolefinami. Aby użyć skrobi w większej zawartości niż 20% w/w w mieszance, poddaje się ją wstępnej obróbce termicznej lub chemicznej. Za jej sprawą skrobia traci strukturę ziarnistą i w efekcie tworzy fazę ciągłą z resztą komponentów w wytłoczonej

matrycy. Przykładem może być blenda kopolimeru etylen/kwas akrylowy (E/AA) i skrobi z zawartością do 50% oraz z użyciem mocznika w roli plastyfikatora (Fanta i wsp., 1992).

Skrobie stosowane jako wypełniacz w tradycyjnych tworzywach sztucznych, zwłaszcza poliolefinach, pomagają obniżyć koszty produkcji i zwiększyć podatność takich materiałów na rozkład biologiczny oraz sztywność. Należy jednak zwrócić uwagę na to, że zawartość skrobi w blendach ogranicza się do pewnego ustalonego zakresu, powyżej którego drastycznemu pogorszeniu ulegają przede wszystkim właściwości użytkowe. Całkowitą dezintegrację tego typu blend można osiągnąć poprzez zastosowanie związków metali przejściowych rozpuszczalnych w matrycy termoplastu jako dodatków prooksydacyjnych, katalizujących przemiany foto i termooksydacyjne (Drummond i wsp., 2000; Jagannath i wsp., 2006; Kaseem i wsp., 2012; Lawrence i wsp., 2004; Raghavan i wsp., 2001).

W ostatnich latach coraz częściej w blendach stosowano zamiast skrobi natywnej, ziarnistej jej postać termoplastyczną, a jako plastyfikatorów w mieszankach z polimerami używano nie tylko wody (Teixeira i wsp., 2007; Wang i wsp., 2008), glicerolu (Corradini i wsp., 2006; Rodriguez-Gonzalez i wsp., 2004; Rosa i wsp., 2007; Salcido i wsp., 2008) czy sorbitolu (Yang i wsp., 2006) ale także innych związków takich jak kwas cytrynowy (Wang i wsp., 2007), formamid (Wang i wsp., 2008), mocznik (Ma i wsp., 2004, 2006). Według niektórych źródeł TPS w połączeniu z innymi polimerami tworzy jeden z trzech typów materiałów w których: 1) jest niekompatybilna z polimerami syntetycznymi (poliestry alifatyczne); 2) częściowo kompatybilna i skompleksowana z niekompatybilnymi lub częściowo kompatybilnymi polimerami syntetycznymi; 3) skompleksowana z syntetycznymi kopolimerami hydrofilowo-hydrofobowymi (Kapuśniak, 2011).

Właściwości kompozytów skrobi z innymi polimerami mogą ulec poprawie (lepsze właściwości mechaniczne, słabsza wrażliwość na czynniki zewnętrzne, głównie wilgotność) poprzez zastosowanie kompatybilizatora, obecność tzw. przedłużaczy łańcucha polimerowego (epoksydy, diizocyjaniany) czy szczepienie poliestrami. Kompatybilizatory zwiększają adhezję między fazami polimerów tworzących blendę, stabilizują zdyspergowaną fazę polimeru i chronią przed rozrostem podczas relaksacji. W ostatnich latach przeprowadzano wiele prób blendowania skrobi z polimerami i kopolimerami o różnej budowie i właściwościach, zarówno z użyciem, jak i bez użycia kompatybilizatorów. Udało się otrzymać mniej lub bardziej kompatybilne mieszanki TPS z polietylenem różnych gęstości (LDPE, HDPE) (Girija i wsp., 2006; Kaseem i wsp., 2012; Jang i wsp., 2001; Kalambur i Rizvi, 2006; Rodriguez-Gonzalez i wsp., 2003; Sailaja i Chanda, 2002; Wang i wsp., 2005), blendy TPS z polipropylenem (Rosa i wsp., 2007; Rosa i wsp., 2009), z polistyrenem (Pimentel i wsp., 2007; Schlemmer i wsp.,

2007), z terpolimerem ABS czyli kopolimerem akrylonitrylo-butadienowo-styrenowym (Kaseem i wsp., 2012), z alkoholem poliwinylowym (PVA), (Park i wsp., 2005; Sreedhar i wsp., 2006; Yoon i wsp., 2006; Zhou i wsp., 2009), polilaktydem (PLA), (Huneault i Li, 2007; Wang i Ma, 2008), poli(ϵ -kaprolaktonem) (PCL) (Li i Favis, 2010; Sarazin i wsp., 2008; Shin i wsp., 2004), z naturalnymi mieszankami gum (Carvalho i wsp., 2003), z poliamidem (PA) (Landreau i wsp., 2009), z eterami polihydroksyestru (PHEE) (Walia i wsp., 2002), polibutylobursztynianem (PBS) (Kaseem i wsp., 2012; Zeng i wsp., 2011), poliesteramidami (PEAs) (Averous i wsp., 2000) i poliuretanem (PU) (Lu i wsp., 2005). Więcej doniesień na ten temat zostało przedstawionych w rozdziale 3, zatytułowanym: *Materiały na bazie skrobi dla przemysłu opakowaniowego*.

W ostatnich latach odchodzi się jednak od łączenia polimerów biodegradowalnych z nie biodegradowalnymi z powodów ekologicznych. Blendy tego typu sprawiają duży problem podczas recyklingu i nie ulegają całkowitemu biorozkładowi, a wręcz generują wzrost ilości tzw. mikroplastików w środowisku naturalnym.

2.2. Metody chemiczne i biochemiczne

Chemiczne modyfikacje opierają się na wprowadzaniu grupy lub grup funkcyjnych do cząsteczek skrobi, czego efektem są wyraźne zmiany we właściwościach fizykochemicznych i występowanie znacznych różnic w możliwościach aplikacyjnych. Metody chemiczne poprzedzane są lub łączone z metodami fizycznymi, takimi jak np. napromieniowywanie, poddawanie ultradźwiękom czy mikrofalom, a także metodami mechanochemicznymi, jak ma to miejsce w przypadku tzw. reaktywnego wytlaczania (Din i wsp., 2017). Ze względu na podjętą w pracy tematykę badawczą w prezentowanym poniżej przeglądzie szczególną uwagę zwrócono na hydrofobizację skrobi poprzez estryfikację, w szczególności estryfikację katalizowaną enzymatycznie.

W modyfikacjach chemicznych, w zależności od właściwości chemicznych użytych reagentów, możemy wyróżnić reagenty jednofunkcyjne i bifunkcyjne. Reagenty jednofunkcyjne wprowadzają do cząsteczki polimeru hydrofobową, niejonową, kationową lub reaktywną kowalencyjnie grupę podstawnikową, a bifunkcyjne więcej niż jedną z takich grup. Grupy jednofunkcyjne stosowane są np. podczas estryfikacji czy eteryfikacji, natomiast bifunkcyjne, reagując ze względu na swój charakter z więcej niż jedną grupą hydroksylową, umożliwiają np. sieciowanie polimerów (Chen i wsp., 2015; Pal i wsp., 2002; Wang i Wang, 2003).

Skrobia może być sieciowana za pomocą różnych odczynników takich jak epichlorohydryna, tlenochlorek fosforu, trimetylofosforan sodu i tripolifosforan sodu. Podczas sieciowania dochodzi do tworzenia się wiązań pomiędzy grupami hydroksylowymi skrobi, a grupą lub grupami funkcyjnymi czynników sieciujących, w efekcie czego tworzona jest charakterystyczna struktura sieci trójwymiarowej (Jie i wsp., 2006; Kim i wsp., 2012; Lack i wsp., 2007). Usieciowanie skrobi poprawia jej właściwości przetwórcze i stabilność w środowisku kwaśnym (Koo i wsp., 2010).

Z kolei kopolimery szczepione zbudowane są w ten sposób, że do głównego łańcucha polimerowego skrobi niejako doczepione są boczne odgałęzienia zbudowane z innych merów niż tych, które współtworzą łańcuch główny. Różne grupy badawcze, z mniejszym lub większym powodzeniem, starały się wprowadzić do szkieletu polimery syntetyczne lub naturalne. Do tej pory przedstawiono jednak dowody na to, że owa kopolimeryzacja rozpoczyna się zazwyczaj na grupach końcowych przy węglu C-1 lub C-2 (Hu i wsp., 2013; Kaewtatip i Tanrattanakul, 2008). Wśród opisanych i stosowanych mechanizmów tego typu modyfikacji możemy wyróżnić jonowe oddziaływanie kondensacyjne lub jeszcze bardziej popularny mechanizm wolnorodnikowy. W roli efektywnych inicjatorów kopolimeryzacji sprawdziły się sole ceru takie jak azotan cerowo-amonowy, nadmanganian potasu, nadsiarczan potasu, alkohol benzyłowy, nadtlenek benzoilu, a w roli monomerów: akrylamid, akrylonitryl, metakrylamid, alkohol winylowy, L-laktyd, , kwas akryłowy oraz p-dioksanon (Chen i wsp., 2015).

Utlenianie skrobi odbywa się poprzez oddziaływanie na nią w różnych warunkach różnymi utleniaczami takimi jak manganian (VII) potasu, jodany (VII), chloran (I) sodu, nadtlenek wodoru czy nadsiarczany. Podczas utleniania skrobia ulega znacznej depolimeryzacji za sprawą postępującej hydrolizy wiązań glikozydowych. Grupy hydroksylowe (w większości grupy przy węglach C-2, C-3, C-6) utleniane są najpierw do grup karbonylowych, a następnie do karboksylowych (Kapuśniak i wsp., 2011; Sánchez-Rivera i wsp., 2005). Udało się otrzymać również skrobie dialdehydowe, poprzez użycie bardzo silnego oksydanta - kwasu jodowego (VII), o możliwościach bezpośredniego utleniania sąsiadujących grup hydroksylowych. Utlenianie umożliwia wzrost stabilności termicznej i poprawę właściwości mechanicznych skrobi, przy równoczesnym obniżeniu jej zdolności do absorpcji wody, co jest zabiegiem bardzo pożądanym dla wykorzystania tego typu materiałów w różnych gałęziach przemysłu, szczególnie opakowaniowym (Sánchez-Rivera i wsp., 2005). W ostatnich latach w wielu ośrodkach badawczych na całym świecie podejmowano próby zastąpienia chemicznych utleniaczy skrobi ozonem jako „zielonej” alternatywy umożliwiającej ograniczenie

generowania szkodliwych produktów ubocznych (Chen i wsp., 2015; Klein i wsp., 2014; Sandhu i wsp., 2012).

Modyfikacje chemiczne, w których grupy hydroksylowe skrobi ulegają substytucji grupą karboksymetylową, hydroksypropylową lub hydroksyetylową poprzez utworzenie wiązania eterowego przyjęło się nazywać eteryfikacją. Znanych jest wiele procedur eteryfikacji, jednak większość łączy użycie zasadowego katalizatora, zazwyczaj NaOH, w celu inicjacji reakcji (Heinze i wsp., 2004; Masina i wsp., 2017). Karboksymetylacja, ze względu na szybkość i prostotę reakcji to jedna z najpowszechniej stosowanych metod eteryfikacji, podczas której grupy hydroksylowe skrobi zastępowane są anionowymi grupami karboksymetylowymi. Skrobia karboksymetylowa charakteryzuje się zwiększoną hydrofilowością, a tym samym zdolnością absorpcji wody (Lawal i wsp., 2009; Massicotte i wsp., 2008). Katalizowana zasadowo eteryfikacja skrobi tlenkiem propylenu prowadzi analogicznie do otrzymania hydroksypropylowych pochodnych skrobi w reakcjach substytucji nukleofilowej polimerowych grup hydroksylowych. W porównaniu z karboksymetylowymi, hydroksylowe pochodne skrobi wykazują bardziej zdeintegrowaną strukturę semikrystaliczną, przez co pochłaniają większe ilości wody (Masina i wsp., 2017; Singh i wsp., 2007). Wysoce rozpuszczalne w wodzie pochodne hydroksyetylowe skrobi otrzymuje się w podobny sposób jak hydroksypropylowe, z tą różnicą, że czynnikiem eteryfikującym jest tlenek etylenu (Besheer i wsp., 2007).

Duża liczba grup hydroksylowych w łańcuchu polimerowym skrobi, nadaje jej charakter polialkoholu, który to może ulegać także innej reakcji substytucji, mianowicie estryfikacji. Na każdą jednostkę anhydroglukozową przypadają aż trzy grupy OH (przy węglu C-2, C-3, C-6) z możliwością podstawienia. Zasadniczo rozróżnia się dwa rodzaje estrów skrobi, nieorganiczne i organiczne, w zależności od użytego czynnika estryfikującego (Chen i wsp., 2015). Estryfikacja to jedna z najstarszych metod hydrofobizacji skrobi, nadająca ogromny potencjał aplikacyjny temu polimerowi. Skrobie estryfikowane otrzymywane były przez dziesiątki lat głównie za pomocą tradycyjnych technologii – z wykorzystaniem ogrzewania konwekcyjnego, w fazie stałej lub z użyciem klasycznych rozpuszczalników organicznych. Estryfikacja to modyfikacja kojarzona przede wszystkim z metodami chemicznymi, choć coraz częściej w doniesieniach publikacyjnych i patentach promuje się metody dualne, a nawet mieszane. Niejednokrotnie już zaproponowano i przedstawiono możliwości syntezy estrów skrobiowych poprzedzone fizycznymi modyfikacjami hydrotermicznymi, współtowarzyszącą katalizą enzymatyczną, jak również nowatorskimi sposobami i technikami prowadzenia syntez tj. poprzez użycie nowego typu mediów

reakcyjnych, jak ciecze jonowe, CO₂ w stanie nadkrytycznym oraz technik grzewczych i wspomagających, takich jak synteza w warunkach mikrofalowego pola elektromagnetycznego, z użyciem ultradźwięków czy pulsacyjnego pola elektrycznego lub mechanochemii (Gilet i wsp., 2018; Hong i wsp., 2016). Na efektywność modyfikacji skrobi poprzez estryfikację wpływa szereg czynników takich jak jej odmiana botaniczna, stężenie reagentów, czas i temperatura reakcji, pH układu reakcyjnego, obecność katalizatorów, aktywatorów i inhibitorów (Ptak i wsp., 2014). Odpowiednia kontrola warunków prowadzonej estryfikacji daje możliwość syntezy estrów skrobiowych o różnych stopniach podstawienia, tym samym różnych właściwościach mechanicznych, przetwórczych i użytkowych, szeroko wykorzystywanych zarówno w przemyśle spożywczym jak i niespożywczym.

Grupy kwasowe mogą być wprowadzane zarówno do amylozy, jak i amylopektyny. Estryfikacja może zachodzić bezpośrednio, gdy czynnikiem estryfikującym jest kwas nieorganiczny lub organiczny, bądź pośrednio w reakcjach z bezwodnikami kwasowymi lub pochodnymi kwasów. Na podstawie dostępnej literatury dobrze znane są estry skrobi i kwasów nieorganicznych, takie jak siarczany, azotany, fosforany czy borany. Poprzez ogrzewanie skrobi z mocznikiem (lub innymi związkami takimi jak formamid, dicyjanodiamid) w reakcjach skrobi z mieszaniną kwasu fosforowego (V), siarczanem (VI) magnezu i amidów, otrzymywane są karbaminiany i fosforany skrobi o właściwościach silnie spajających, wykorzystywane w przemyśle papierniczym i włókienniczym jako środek klejący (Fortuna i Rożnowski, 2002). Azotany skrobi można otrzymać stosując mieszaninę nitrującą lub pary tlenu azotu (V) w strumieniu powietrza. Fosforany skrobiowe, syntezowane na drodze kowalencyjnego wiązania reszt ortofosforowych można podzielić na mono i diskrobiowe. Fosforany monoskrobiowe powstają przy użyciu jako reagentów wodorofosforanów i diwodorofosforanów (V) w temp. 120-170°C, a diskrobiowe z użyciem czynnika sieciującego, jak np. POCl₃ (trichlorek fosforylu), gdzie ugrupowania ortofosforowe pełnią rolę łącznika pomiędzy sąsiadującymi łańcuchami polimeru. Z kolei siarczany skrobiowe syntezowane są w reakcjach z siarką, tlenkiem siarki (VI) lub kwasem siarkowym (VI), a także z kwasem chlorosulfonowym i jego pochodnymi (Chen i wsp., 2015; Fortuna i Rożnowski, 2002). W środowisku zasadowym otrzymano również ksantogeniany skrobi w reakcjach z disiarczkiem węgla, a w kolejnych etapach poprzez utlenianie nadtlakiem wodoru czy chloranem (I) sodu otrzymano skrobię ksantydomą. Zsyntezowano także estry nieorganiczne skrobi ziemniaczanej w reakcjach nie tylko z odpowiednimi kwasami, ale bezwodnikami, solami i hydrosolami tych kwasów, wśród których można wymienić siarczany, krzemiany, estry kwasu borowego (III), seleniany, cynkany, miedziany i silikany skrobiowe (Staroszczyk i wsp. 2007a, Staroszczyk i

wsp. 2007b; Staroszczyk, 2009a; Staroszczyk, 2009b; Staroszczyk i Janas, 2010a; Staroszczyk i Janas, 2010b; Staroszczyk, 2011).

Otrzymano również hydrofobowe pochodne skrobi poprzez benzyłowanie jej chlorkiem benzyłu, przy zastosowaniu jednej z dwóch metod tj., benzyłowania powierzchniowego ziaren skrobiowych w modyfikacji heterogenicznej lub modyfikacji homogenicznej w środowisku alkalicznym (Bohrisch i wsp., 2004).

Jednym z pierwszych sposobów syntezy organicznych estrów skrobiowych były reakcje z krótkołańcuchowymi kwasami karboksylowymi (C-1–C-6). Początkowo prowadzono estryfikację nie tylko kwasami tłuszczowymi, takimi jak masłowy, kapronowy, walerianowy, ale także bezwodnikami jak octowy czy oktylenobursztynowy, a otrzymane produkty wykazywały właściwości materiałów termoplastycznych (Parandoosh i Hudson, 1993; Ptak i wsp., 2014). Syntezę długołańcuchowych estrów skrobiowych zaproponowali Thiebaud i wsp. (1997) oraz Aburto i wsp. (1999), używając odpowiednich chlorków kwasowych i pirydyny jako medium reakcyjnego. Dowiedli oni, że wraz ze wzrostem długości łańcucha acylowego oraz wraz ze wzrostem stopnia podstawienia, rosła hydrofobowość otrzymanych związków, przy jednoczesnym spadku ich wodochłonności i biodegradowalności. Z czasem zaczęto rezygnować z używania pirydyny i chlorków na rzecz nie tylko wyższych kwasów karboksylowych, ale co więcej ich estrów (Ptak i wsp., 2014). Znane są reakcje transestryfikacji skrobi stearynianem czy laurynianem winylu prowadzone w środowisku DMSO jako rozpuszczalnika i soli zasadowych jako katalizatorów (octan i wodorofosforan sodu, węglan potasu) (Junistia i wsp., 2008). DMSO okazał się również dobrym medium reakcyjnym dla estryfikacji skrobi kwasami tłuszczowymi katalizowanej nadsiarczanem potasu ($K_2S_2O_8$) (Simi i wsp., 2007) oraz przy wykorzystaniu innych czynników estryfikujących takich jak chlorki kwasowe, estry metylowe czy imidazole acylowe (Aburto i wsp., 1997; Aburto i wsp., 2005). Rola rozpuszczalników podczas estryfikacji, tak jak i podczas innych modyfikacji skrobi polega na rozluźnieniu struktury polimeru (rozrywanie wiązań wodorowych) i tym samym zwiększaniu dostępności reagentów do wolnych grup OH. Jednakże stosowane do tej pory klasyczne rozpuszczalniki organiczne jak DMSO, DMF, pirydyna czy tert-butanol mają pewne wady i ograniczenia, a mianowicie toksyczność, lotność a tym samym negatywny wpływ na środowisko naturalne. Dlatego z czasem rozpoczęto poszukiwania nowych mediów i technik reakcyjnych, bardziej proekologicznych i zgodnych z zasadami zrównoważonego rozwoju. Przykładami takich mediów może być CO_2 w stanie nadkrytycznym, ciecze jonowe, a technikami biokataliza i reakcje prowadzone z wykorzystaniem promieniowania mikrofalowego, w obecności ultradźwięków oraz mechanochemia (Gilet i wsp., 2018). CO_2 w

stanie nadkrytycznym, jako rozpuszczalnika użyto po raz pierwszy w transestryfikacji skrobi ziemniaczanej estrami winylowymi i metylowymi kwasów tłuszczowych w obecności soli zasadowych, jak również estryfikacji bezwodnikami (masłowym, stearynowym). Co więcej estryfikacje skrobi prowadzono z wykorzystaniem dializy lub reaktywnej ekstruzji (Miladinov i Hanna, 2000; Namazi i wsp., 2011). Zaproponowano również bezrozpuszczalnikową syntezę estrów skrobiowych z użyciem chlorków: oktanowego, oktadekanowego, dekanowego, dodekanowego oraz tetra i heksadekanowego w obecności kwasu mrówkowego jako czynnika inicjującego rozrywanie wiązań wodorowych i samą estryfikację (Aburto i wsp., 1999; Ptak i wsp., 2014).

Estryfikacja prowadzona w warunkach mikrofalowego promieniowania elektromagnetycznego umożliwia syntezę hydrofobowych pochodnych skrobi w znacznie bardziej ekonomicznych warunkach tj. krótszym czasie i niższych temperaturach w porównaniu z metodami opartymi na klasycznym ogrzewaniu konwencjonalnym. Po raz pierwszy tego typu reakcje prowadzono w celu zsyntezowania bursztynianów skrobi tapiokowej (Jyothi i wsp., 2005; Xing i wsp., 2006). Jako inne przykłady można wskazać estryfikację skrobi kukurydzianej kwasem i bezwodnikiem octowym, heterogeniczną estryfikację skrobi tapiokowej kwasem cytrynowym (Jyothi i wsp., 2007), katalizowaną węglanem potasu transestryfikację skrobi fasolowej octanem winylu (Ptak i wsp., 2014).

Podjęto także próby prowadzenia estryfikacji skrobi w obecności biokatalizatorów, zarówno w metodach z użyciem lub bez użycia rozpuszczalnika, z wykorzystaniem ogrzewania konwencjonalnego lub mikrofalowego. Estryfikacja skrobi z zastosowaniem enzymów jako katalizatorów to metoda przyjazna środowisku, ze względu na łagodne warunki prowadzenia syntezy, niegenerowanie uciążliwych produktów ubocznych i możliwość prowadzenia reakcji stereo i regiospecyficznych (Rajan i wsp., 2006). Stosowanie lipaz jako katalizatorów estryfikacji skrobi kwasami tłuszczowymi to jedna z nowszych alternatyw jej modyfikacji poprzez hydrofobizację. Lipazy to bardzo interesująca grupa enzymów ze względu na unikatowe właściwości katalityczne. Enzymy te w środowisku wodnym katalizują hydrolizę, rozpad triacylogliceroli do diacylogliceroli, monoacylogliceroli lub kwasów tłuszczowych i glicerolu. Jest to reakcja odwracalna, co oznacza, że w warunkach bezwodnych enzymy zdolne są do katalizowania reakcji odwrotnej czyli syntezy estrów. Komercyjnie dostępne lipazy izoluje się z bakterii takich jak np. *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia* czy rodzaju *Pseudomonas*, chociaż zdecydowanie częściej z grzybów z rodzajów takich jak *Candida* czy *Thermomyces* (Ptak i wsp., 2014).

Niekonwencjonalnym medium prowadzenia modyfikacji chemicznych, w tym głównie estryfikacji skrobi jest zagęszczony CO₂. To rozpuszczalnik niepolarny, nietoksyczny, obojętny chemicznie i łatwy do usunięcia z układu reakcyjnego poprzez rozprężanie. Szczególnie CO₂ w stanie nadkrytycznym jest zdolny do obniżenia temp. kleikowania skrobi poprzez dyfuzję do jej wnętrza i deformację obszarów krystalicznych. W środowisku tego rozpuszczalnika prowadzono estryfikację skrobi ziemniaczanej przy użyciu bezwodnika octowego i katalizatorów chemicznych takich jak K₂CO₃ lub NaOAc, a także estryfikację kwasami tłuszczowymi i transestryfikację estrami winylowymi w obecności związków o charakterze zasadowym (Muljana i wsp., 2009; Muljana i wsp. 2010a; Muljana i wsp., 2010b; Muljana i wsp., 2011).

Ogrzewanie mikrofalowe nie stanowi może optymalnej metody transferu energii do układu, ale umożliwia wydajne ogrzewanie od wewnątrz, dzięki sprzęganiu energii mikrofal ze składnikami mieszaniny reakcyjnej. Najczęściej przy użyciu mikrofal otrzymywano octany skrobiowe, gdzie czynnikiem estryfikującym był bezwodnik kwasowy z dodatkiem kwasu octowego w roli rozpuszczalnika, a reakcje katalizowane były jodem w postaci cząsteczkowej. Wysokopodstawione pochodne skrobiowe otrzymał Diop i wsp. (2011) podczas, katalizowanej jodem i z wykorzystaniem energii promieniowania mikrofalowego, estryfikacji skrobi kukurydzianej mieszaniną bezwodnika i kwasu octowego. Szeroką gamę estrów, o różnym DS w zależności od parametrów reakcji, udało się otrzymać także w środowisku wodnym i z użyciem katalizatorów chemicznych jak K₂CO₃, NaOH lub biokatalizatora takiego jak lipaza bakteryjna z *Staphylococcus aureus*. Podjęto także udaną próbę indukowanej promieniowaniem mikrofalowym biokatalizowanej estryfikacji skrobi kukurydzianej i tapiokowej. We wspomnianej reakcji użyto zhydrolizowanych olejów i wolnych kwasów tłuszczowych jako donorów grupy acylowej oraz enzymów z rodzaju lipaz pochodzenia grzybowego lub bakteryjnego jako katalizatorów, w efekcie której otrzymano produkty o różnych właściwościach w zależności od DS (Ptak i wsp., 2014). Skrobię ziemniaczaną estryfikowano kwasem oleinowym bez użycia rozpuszczalnika w warunkach ogrzewania mikrofalowego i porównawczo z wykorzystaniem DMSO w łaźni wodnej. W obu przypadkach katalizatorem była lipaza grzybowa z *Candida antarctica*, w postaci immobilizowanej na nośniku polimerowym (Ptak i wsp., 2016).

Prowadzono katalizowane enzymatycznie estryfikacje skrobi w łaźni wodnej bez użycia rozpuszczalników, z zastosowaniem klasycznych rozpuszczalników organicznych jak DMSO, DMF, tert-butanol i aceton, a także w środowisku zasadowym lub w obecności środka powierzchniowo czynnego (Hong i wsp., 2016; Ptak i wsp. 2014).

Ultradźwięki stosowano głównie podczas estryfikacji skrobi z kwasem monochlorooctowym w mieszaninie rozpuszczalników etanol – woda, w obecności NaOH jako katalizatora oraz podczas syntezy octanu i oktenylobursztynianu skrobi katalizowanych odpowiednio H_2SO_4 i K_2CO_3 . Oktenylobursztyniany woskowej skrobi ryżowej i skrobi kukurydzianej otrzymano w katalizowanych chemicznie i prowadzonych w młynach kulowych reakcjach estryfikacji, zarówno w środowisku wodnym jak i bezwodnym (Chen i wsp., 2014; Zhang i wsp., 2012).

Ciekawym rozwiązaniem wydaje się być prowadzenie estryfikacji lub eteryfikacji w cieczach jonowych (ILs). Są to związki o budowie jonowej, a dokładniej złożone z organicznego kationu oraz organicznego bądź nieorganicznego anionu. Mimo takiej budowy nie są to jednak typowe sole, dlatego, że ich temperatura topnienia jest niższa od $100^{\circ}C$. Spora przewagę w porównaniu z klasycznymi rozpuszczalnikami organicznymi dają im ich nietypowe właściwości i znaczne możliwości ich projektowania poprzez modyfikacje strukturalne. Są to związki nielotne, o wysokiej trwałości i obojętności termicznej. Charakteryzują się ponadto wysoką polarnością, przewodnością elektryczną i szerokim zakresem stabilności elektrochemicznej. Także wielofunkcyjność to cecha ILs, która odróżnia je od innych rozpuszczalników (Kubisa, 2006; Pernak, 2003; Wilkes, 2002). Ciecze jonowe zdolne są do rozpuszczania m.in. związków nieorganicznych, organicznych, metaloorganicznych (katalizatorów) i polimerów (Pernak, 2000; Wilpiszewska i Spychaj, 2011). Większość doniesień na temat możliwości prowadzenia modyfikacji polimerów węglowodanowych (głównie celulozy i ligniny) z użyciem ich jako medium reakcyjnego i rozpuszczalnika pojawiło się na przestrzeni ostatnich 20 lat. Jednym z pierwszych zastosowań tego typu związków do modyfikacji skrobi była synteza jej octanów w środowisku chlorku 1-butylo-3-metyloimidazoliowym, dodatkowo katalizowana pirydyną. Wspomniany chlorek to do tej pory najpowszechniej stosowana ciecz w niekatalizowanych lub katalizowanych chemicznie lub enzymatycznie reakcjach estryfikacji lub transestryfikacji skrobi różnego pochodzenia z użyciem bezwodników, kwasów i estrów. Jako efektywne rozpuszczalniki skrobi sprawdziły się również: chlorek 1-allylo-3-metyloimidazoliowy, dicyjanoamid 1-butylo-3-metyloimidazoliowy, octany imidazoliowe, heksafluorofosforany i tetrafluoroborany. Ciecze jonowe, tak jak i inne rozpuszczalniki, stosowane są w modyfikacjach skrobi w celu rozluźnienia jej makrostruktury poprzez rozrywanie wiązań między i wewnątrzcząsteczkowych, a tym samym zwiększenia jej reaktywności (Seoud i wsp., 2007). Aby skrócić czas częściowego lub całkowitego skleikowania skrobi reakcje w ILs mogą być prowadzone tak jak w przypadku innych modyfikacji, w łaźni lub z wykorzystaniem

promieniowania mikrofalowego. Doniesienia literaturowe z kilku ostatnich lat pokazują, że w cieczach jonowych można prowadzić wydajną biokatalizę (Gilet i wsp., 2018; Ptak i inni 2014). ILs z powodzeniem stosowano jako rozpuszczalniki lub media reakcyjne dla skrobi różnego pochodzenia botanicznego. Jednakże estryfikacji i transestryfikacji w ich obecności poddawano głównie skrobie kukurydziane o różnej zawartości frakcji amylozowej i amylopektynowej. Reakcje prowadzono bez użycia katalizatora, w obecności pirydyny jako katalizatora lub z wykorzystaniem lipaz (Tab.2.1.).

Tab.2.1. Estryfikacja i transestryfikacja skrobi w cieczach jonowych

Substrat	Reagent	Rozpuszczalnik	Katalizator	Autor, rok
skrobia kukurydziana	bezwodnik octowy, bezwodnik bursztynowy	[BMIM]Cl	pirydyna	Xie, 2010
skrobia kukurydziana	bezwodnik octowy	[BMIM]Cl	---	Luo, 2012
maltodekstryna kukurydziana	octan winylu	[BMIM]X	---	Shogren, 2010
maltodekstryna	stearynian winylu	[BMIM]DCA	---	Shogren, 2010
skrobia kukurydziana	laurynian lub stearynian metylu	[BMIM]Cl	pirydyna	Xie, 2011
wysokoamylozowa skrobia kukurydziana	palmitynian metylu	[BMIM]BF ₄ [BMIM]OAc	lipaza z <i>Candida rugosa</i>	Lu, 2012
wysokoamylozowa skrobia kukurydziana	kwas laurynowy	[BMIM]BF ₄	lipaza z <i>Candida rugosa</i>	Lu, 2013
skrobia z manioku	ester metylowy kwasu wernolowego	[BMIM]PF ₆ DMSO	lipaza Novozyme 435	Desalegn, 2014
skrobia z manioku	ester metylowy kwasu wernolowego	[BMIM]Cl	pirydyna	Desalegn, 2015
woskowa skrobia kukurydziana	bezwodnik kwasu oktenylobursztynowego	[C ₈ MIM]NO ₃	lipaza Novozyme 435	Li, 2016

Hydrofobowe pochodne skrobi kukurydzianej zsyntezowano także poprzez estryfikację bezwodnikiem dodecenylobursztynowym (DDSA). Chi i wsp. (2007) przeprowadzili w środowisku wodnym katalizowaną zasadowo reakcję wstępnie zemulgowanego bezwodnika DDSA ze skrobią ziarnistą. W innej grupie badawczej zwiększano hydrofobowość folii ze skrobi kukurydzianej poprzez modyfikację z bezwodnikiem z dodecylobursztynowym i oktenylobursztynowym (Zhou i wsp., 2009a). Z powodzeniem otrzymano również hydrofobowe skrobie w postaci spienionej (pianki). Dokonali tego Tahlawy i wsp. (2008), dzięki emulgowaniu gotowanej skrobi kukurydzianej i dimeru alkiloketenu w warunkach silnego ścinania. Nadany piankom charakter hydrofobowy nie był jednak wystarczający wobec powolnego zwilżania porowatych powierzchni takich materiałów. Barikani i Mohammadi (2007) otrzymali nowe poliuretanowe pochodne skrobi o zwiększonej odporności na warunki zewnętrzne, szczególnie wilgoć. W swoich badaniach przeprowadzili reakcje dwuetapowe z tzw. prepolimerem, składającym się z polikaprolaktonu zakończonego izocyjanianem. Zmniejszenia hydrofilowości powłok na bazie skrobi termoplastycznej dokonali także Carvalho i wsp. (2005), poprzez powierzchniową obróbkę izocyjanianem fenylu (PhNCO), poliizocyjanianem blokowanym fenolem trimetylolopropanu i diizocyjanianu toluenu (TMP-TDI-fenol), kopolimerem styrenu i metakrylanu glicydyłowego (PS-GMA) oraz chlorkiem stearoilu (StCl). Ograniczona modyfikacja na powierzchni umożliwiła poprawę właściwości użytkowych przy zachowaniu biodegradowalności materiału.

Zsyntezowane na różne sposoby estry skrobiowe i inne hydrofobowe pochodne skrobi znalazły przede wszystkim zastosowanie w produkcji różnego typu mieszanek z polimerami syntetycznymi. Jednym z przykładów takiego zastosowania są blendy otrzymane w procesie reaktywnego wytłaczania acetylowanej i utlenianej skrobi bananowej z LDPE. Dzięki reaktywnej ekstruzji sporządzono także mieszaniny z termoplastycznego maleinianu skrobi kukurydzianej z poli(adypinianem butylenu-ko-tereftalanem) i acetylowanej skrobi z manioku z poliestrem alifatycznym – poliuretanem (Cunha i Gandini, 2010). Wytwarzanie mieszanek, poprzedzone chemicznymi lub biochemicznymi modyfikacjami skrobi, ma na celu nie tylko zwiększanie kompatybilności z pozostałymi komponentami polimerowymi, ale przede wszystkim ma powodować wzrost hydrofobowości, termoplastyczności i mechanooptyczności powstałych blend.

3. Materiały na bazie skrobi dla przemysłu opakowaniowego

Przez dziesiątki lat tworzywa sztuczne były uważane za dobrodziejstwo współczesnego świata. Dopiero od niedawna w społeczeństwie zrodziła się świadomość jakim zagrożeniem i

problemem jest ich wysoka odporność na degradację. Wpływ trwałych odpadów z tworzyw sztucznych na środowisko budzi ogólne zaniepokojenie na całym świecie, a metody usuwania tych odpadów są ciągle niewystarczające. Miejsca na wysypiskach są ograniczone, utylizacja poprzez spalanie może generować toksyczne zanieczyszczenia powietrza, a metody recyklingu zmieszanych odpadów są często energochłonne i tym samym mało opłacalne (Mitrus i wsp., 2009). Ponadto warto zdawać sobie sprawę z tego, że większość polimerów syntetycznych to związki ropopochodne, a jak wiadomo zasoby ropy naftowej z roku na rok maleją. Ponowne użycie i recykling polimerów ropopochodnych poprzez procesy takie jak mielenie i wytłaczanie wtórne to może i opłacalne, ale niezbyt dobre rozwiązanie ze względu na utratę właściwości funkcjonalnych lub pogorszenie właściwości mechanicznych o strategicznym znaczeniu. W obliczu powyższych problemów istotne będzie znalezienie trwałych zamienników tworzyw sztucznych, zwłaszcza do produkcji materiałów jednorazowego użytku i opakowań krótkoterminowych. Dlatego w pełni zrozumiałe stało się zainteresowanie nad badaniem możliwości wykorzystania polimerów biodegradowalnych i odnawialnych zamiast szeroko rozpowszechnionych polimerów niedegradowalnych, takich jak polietylen, polistyren itp. Aktualnie w przemyśle opakowaniowym modnym staje się podejście, zgodnie z którym innowacje powinny iść w kierunku nie tylko wykorzystania natywnych bądź zmodyfikowanych polimerów naturalnych, ale również nadawania im nowych cech funkcjonalnych przez stosowanie ich w roli wypełniaczy i składników innych biopolimerów lub polimerów syntetycznych. Innym trendem jest koncentrowanie się na projektowaniu opakowań wielowarstwowych, o poprawionych właściwościach barierowych wobec różnych czynników zewnętrznych, zarówno biotycznych jak i abiotycznych (Bartkowiak i wsp., 2016).

Wśród biodegradowalnych materiałów polimerowych dla opakowalnictwa, największą popularnością, tuż po celulozie, cieszy się właśnie skrobia (Romero-Bastida i wsp., 2005). Polimer ten wykazuje dostatecznie dobrą barierowość wobec gazów takich jak O_2 i CO_2 . Stosowanie w sposób bezpośredni skrobi natywnej, a nawet skrobi termoplastycznej jako surowców do produkcji opakowania, ograniczone jest przez ich kruchość, brak kompatybilności z polimerami hydrofobowymi, wysoką wrażliwość na wilgoć, słabą barierowość wobec pary wodnej, a także niską odporność na czynniki mechaniczne, takie jak rozdieranie i zrywanie (Koch, 2018). Powłoki skrobiowe mają charakter silnie hydrofilowy, a produkty z niej wykonane szybko pęcznieją i ulegają znacznym deformacjom w warunkach dużej wilgotności. Dlatego, aby poprawić jej właściwości, od wielu już lat prowadzone są badania nie tylko nad modyfikacjami strukturalnymi skrobi, ale także nad opracowaniem fizycznych mieszanek z hydrofobowymi polimerami syntetycznymi, tak aby dążyć do

jednoczesnego zmniejszenia ich zużycia, jak i wzrostu biodegradowalności. Tak więc opakowania na bazie skrobi mogą zawierać jej postać natywną, termoplastyczną czy też formę modyfikatu. Zabiegi mające na celu poprawę jej właściwości przetwórczych i użytkowych, a tym samym wzrost konkurencyjności z szeroko rozpowszechnionymi polimerami syntetycznymi opierają się zazwyczaj na już wcześniej wspomnianym mieszanii (blendowaniu) i syntezie jej pochodnych (derywatyzacji). Opakowania na bazie polimerów naturalnych otrzymywane są tymi samymi technikami co w przypadku polimerów syntetycznych tj. metodą wylewania (cast) i termoformowania, przez wytłaczanie z rozdmuchiwaniami, czy prasowanie lub wtryskiwanie. W latach 80-tych ubiegłego wieku rozpoczęto próby nad trwającym do dzisiejszego dnia tworzeniem mieszanek skrobi i polimerów syntetycznych w procesie wytłaczania, a w następnym dziesięcioleciu zaproponowano pierwsze procedury otrzymywania materiałów opakowaniowych bazujących na czystych skrobiach modyfikowanych.

Opakowania na bazie skrobi są wytwarzane w większości przypadków ze skrobi kukurydzianej i ziemniaczanej, co może nie dziwić ze względu na ich znaczne zasoby na całym świecie. Zastosowanie wysokoamylozowej skrobi kukurydzianej jako materiału opakowaniowego w porównaniu ze skrobią normalną umożliwiło opracowanie i otrzymanie folii o wyższej barierowości i wytrzymałości mechanicznej. Jednym z najstarszych i najczęściej stosowanych do tej pory sposobów wykorzystania skrobi jako materiału opakowaniowego jest jej mieszanie z innymi polimerami naturalnymi bądź syntetycznymi. Tak otrzymane mieszanki stanowią materiał, który jest nie tylko biodegradowalny, ale posiada poprawione właściwości mechaniczne i co równie ważne jest dużo tańszy. Połączenie skrobi z polimerami syntetycznymi w formie blend jest prowadzone w celu zniwelowania ograniczeń w jej stosowaniu, wynikających z jej naturalnej kruchości, wrażliwości na wilgoć i słabych właściwości mechanicznych. Pierwsze próby mieszania skrobi normalnych i polimerów, ze względu na hydrofilowość polisacharydu, a tym samym słabą mieszalność, nie przyniosły oczekiwanych efektów – produkty po zakończeniu mieszania charakteryzowały się rozwarstwieniem i wykazywały słabe właściwości międzyfazowe. Blendowanie skrobi z odpornymi na wilgoć polimerami hydrofobowymi umożliwiło otrzymanie wciąż biodegradowalnej mieszaniny polimerowej o dostatecznie dobrych właściwościach mechanicznych. Sytuacja poprawiła się również wtedy, gdy zastosowano skrobię wysokoamylozową i skrobię żelowaną (Mani i Bhattacharya, 1998). W kolejnych próbach zdecydowano się na użycie skrobi splastyfikowanej. Tak jak w przypadku przetwórstwa innych polimerów, skrobię termoplastyczną (TPS) otrzymuje się głównie za pomocą wytłaczarek

(Averous i wsp., 2000). Plastyfikatory w wysokich temp. (90 – 180 °C) przekształcają skrobię ziarnistą w postać jednorodną i plastyczną, umożliwiając tym samym jej wytłaczanie, prasowanie lub formowanie wtryskowe, a także rozpuszczanie i obniżenie temp. topnienia. Rozpad ziaren skrobiowych przyczynia się do zwiększenia mobilności łańcucha makrocząsteczkowego, co skutkuje tym, że materiał mięknie i staje się mniej kruchy. W ten sposób semikrystaliczne, wysoce zorganizowane ziarna skrobiowe przekształcane są w amorficzny i jednorodny materiał zwany skrobią termoplastyczną (Liu i wsp., 2009). Plastyfikatory możemy podzielić na zewnętrzne, niejako dodawane z zewnątrz i konkurujące z grupami hydroksylowymi skrobi o współtworzenie wiązań wodorowych oraz wewnętrzne gdy przeprowadzona derywatywacja skrobi opiera się na substytucji jej grup hydroksylowych, a tym samym indukuje destrukcję istniejących wiązań wodorowych. Zaproponowano różne mechanizmy i teorie plastyfikacji, np. teorię smarowania, teorię żelu czy swobodnej objętości. Teoria smarowania zakłada, że plastyfikator przyspiesza ruchliwość cząsteczek skrobi między sobą. Teoria żelu sugeruje natomiast, że plastyfikacja to wynik zakłóceń występujących między interakcjami polimeru, ze względu na obecność wiązań wodorowych, van der Waalsa czy jonowych. Tymczasem trzecia ze wspomnianych teorii – teoria swobodnej objętości zakłada, że wolna objętość między łańcuchami polimeru zwiększa się na wskutek dodania plastyfikatora, powodując obniżenie temp. zeszklenia. Skuteczny plastyfikator powinien być hydrofilowy, polarny i małowcząsteczkowy tak, aby efektywnie penetrować obszary między łańcuchowe polimeru. Dodatkowo powinien charakteryzować się temperaturą wrzenia wyższą niż przeprowadzany proces lub zabieg, tak aby nie odparował w jego trakcie (Nafchi i wsp., 2013). Amidowa grupa funkcyjna również sprawdza się w roli dobrego plastyfikatora (mocznik, formamid, bisformamid etylenowy), jednak zgodnie z zaleceniami głównie w produkcji materiałów o zastosowaniu nieżywnościowym. Wydajność plastyfikacji zależy jednak nie tylko od budowy plastyfikatora i polimeru, ale także od zawartości wody i od czynników zewnętrznych typu wilgotność względna. Cząsteczki plastyfikatora zastępują pozycję cząsteczek wody przy niskiej wilgotności względnej – powodują spadek zawartości wody. Jednak gdy wilgotność wzrasta > 43%, to zawartość wody wzrasta ze względu na interakcje pomiędzy plastyfikatorem i wodą. Przy zbyt wysokiej zawartości plastyfikatora może dojść do rozdzielenia faz między łańcuchami skrobi i plastyfikatora. Natomiast zbyt niska zawartość plastyfikatora prowadzi do zjawiska antyplastyfikacji (Chang i wsp., 2006; Zhang i Rempel, 2012).

Mieszanie TPS z poliestrami czy innymi tworzywami sztucznymi w zdecydowanej większości przypadków poprawia jej właściwości wytrzymałościowe i zmniejsza jej

hydrofilowość, a także zwiększa odporność na czynniki biotyczne i abiotyczne. Ze względu na fakt, że skrobię możemy wyizolować z wielu źródeł botanicznych to otrzymanie skrobi termoplastycznej jest stosunkowo niedrogim sposobem wytwarzania produktów biodegradowalnych i odnawialnych. Kolejną zaletą TPS jest to, że można ją otrzymywać tradycyjnymi technikami przetwórczymi, co może stanowić alternatywę dla tworzyw ropopochodnych i niebiodegradowalnych, zwłaszcza w aplikacjach o krótkim okresie użytkowania (np. naczynia jednorazowego użytku) (Mitrus i wsp., 2009). Warto pamiętać, że zdecydowaną wadą plastyfikacji jest to, że zastosowanie higroskopijnego plastyfikatora wzmacnia wodochłonność końcowego produktu. Dlatego ze względu na charakter silnie hydrofilowy, zwiększony przez użycie plastyfikatora, sama TPS nie nadaje się na materiał opakowaniowy (Liu i wsp., 2009).

Łączenie polimerów w celu wytworzenia materiału opakowaniowego może odbywać się nie tylko przez mieszanie, ale także tworzenie warstw. W ostatnich dekadach w celu połączenia dwóch lub więcej polimerów w powłoki wielowarstwowe, szeroko stosowano współwytłaczanie (koekstruzję). Produkty wielowarstwowe złożone z TPS i poliestrów można także wytwarzać w procesach powlekania i formowania prasowego. Badania naukowe i przemysłowe nad skrobią termoplastyczną dotyczyły głównie mieszania skrobi splastyfikowanej z hydrofobowymi poliestrami biodegradowalnymi o dużo lepszych właściwościach mechanicznych, typu poli(kwas mlekowy), polikaprolakton PCL, poli(adypinian etylenu) PEA, poli(3-hydroksymaślan-ko-3-hydroksyoktanian) PHBO, poli(3-hydroksymaślan-ko-3-hydroksywalerianian) PHBV, poli(eter hydroksyestrowy) PHEE, poli(bursztynian-ko-adypinian butylenu) PBSA (Mani i Bhattacharya, 1998; Mani i Bhattacharya, 2001; Park i wsp., 2002). Wang i wsp. (2003) opracowali metodę otrzymywania materiałów biodegradowalnych z polimerów szczepionych skrobią, wykazujących szerokie spektrum aplikacyjne. Polietylen (LDPE) i skrobię ziarnistą mieszano w obecności międzyfazowego kompatybilizatora (bezwodnika maleinowego), ale bez zastosowania glicerolu jako plastyfikatora. Uzyskana mieszanina wykazywała podobne właściwości mechaniczne jak czysty polimer, co wynikało z tego, że skrobia była chemicznie szczepiona na fizycznie oddziaływującym z polimerem kompatybilizatorze. Kompatybilizację prowadzi się w celu poprawy zgodności międzyfazowej. Zazwyczaj kompatybilizator uzyskuje się modyfikując jeden ze składników polimerowych pierwotnej mieszanki. Modyfikacje te w mieszankach na bazie skrobi najczęściej odbywają się poprzez: sieciowanie skrobi/poliestru poliiizocyjanianami lub nadtlenkami, funkcjonalizowanie poliestrów bezwodnikami lub syntezę poliestrowych fosforanów, funkcjonalizację skrobi pochodnymi uretanowymi lub

metakrylanem poliglicydowym, albo syntezę kopolimerów typu skrobia – szczepiony poliester. W przypadkach kiedy kompatybilizatorem są bezwodniki, a mieszaninę stanowi hydrofobowy polimer i hydrofilowa skrobia, to ich grupy bezwodnikowe będą reagować i kowalencyjnie wiązać się z grupami hydroksylowymi ziarenek skrobi tworząc wiązania estrowe (Wang i wsp., 2003). Najefektywniej zgodność międzyfazową w niemieszającym się układzie dwu lub kilkuskładnikowym otrzymuje się wówczas gdy składnik polimerowy kompatybilizatora jest identyczny z polimerem mieszanym z ziarenkami skrobi (Ramkumar i wsp. 1997). Przykładowo, idealnym kompatybilizatorem dla polipropylenu będzie polipropylen szczepiony bezwodnikiem maleinowym (PP-g-MA). Jeżeli zmieszamy skrobię z hydrofilowym biodegradowalnym polimerem - takim jak na przykład poli(tlenkiem etylenu) (PEG, glikol polietylenowy) - to obecność kompatybilizatora nie jest już wymagana do kowalencyjnego przyłączania polietylenu do skrobi ziarnistej, co zostało opisane przez Loercks'a i wsp. (2001). Aby przekształcić skrobię natywną lub jej pochodną w postać termoplastyczną, wystarczy zastosować hydrofilowy polimer biodegradowalny, taki jak poliester alifatyczny, amid lub uretan poliestrowy, poli(tlenek etylenu) lub ich mieszaniny.

Folie skrobiowe o zwiększonej odporności na wilgoć można również otrzymać poprzez przygotowanie wielowarstwowych struktur typu „sandwich”, z centralną warstwą skrobi termoplastycznej i hydrofobowymi komponentami na warstwach zewnętrznych (Mitrus i wsp., 2009). Najpowszechniejszą metodą otrzymywania biodegradowalnych folii wielowarstwowych na bazie skrobi jest jednak współwytłaczanie. Mimo wielu wad takich jak niestabilność międzyfazowa i nierównomierny rozkład warstw jest to metoda, która w sposób jednoetapowy i ciągły umożliwia koekstruzję skrobi z wieloma polimerami typu PLA, PCL, PBSA, PHBV, PBAT, PEA. Martin i wsp. (2001) przeprowadzili koekstruzję i zbadali właściwości biodegradowalnych folii wielowarstwowych na bazie splastyfikowanej skrobi pszennej.

Już wiele lat temu opracowano częściowo biodegradowalną mieszankę skrobi z LDPE, z czasem szczególnie przydatną w produkcji opakowań żywnościowych (Griffin i wsp., 1977). Z mieszanki tej zawierającej nawet do 50% skrobi w formie natywnej lub splastyfikowanej oraz nienasycone kwasy tłuszczowe w roli przeciwutleniaczy, z powodzeniem otrzymano folie poprzez wytłaczanie z rozdmuchiwaniami. W innych badaniach uformowano wtryskowo i badano właściwości mechaniczne skrobi ziemniaczanej lub jej ftalanów (estrów skrobi i kwasu ftalowego) z LDPE (Thakore i wsp., 2001). Estryfikacja skrobi umożliwiła otrzymanie mieszanek wykazujących cechy materiału termoplastycznego, o zwiększonej hydrofobowości, stabilności termicznej, a po dodaniu polietylenu o lepszych właściwościach mechanicznych,

niż w przypadku skrobi nieestryfikowanej. Opracowano także blendy i kompozyty uszkodzonych mechanicznie ziarenek skrobi (metodą proszkowania przez ścinanie w stanie stałym) z polietylenem (Walker i wsp., 2007) czy też kompozyty skrobi z polipropylenem (Liu i wsp., 2004). W jeszcze innym eksperymencie Averous testował biodegradowalne mieszanki na bazie pszennej skrobi termoplastycznej z polikaprolaktonem, a następnie wytłaczał lub wtryskiwał gotowy produkt w celu otrzymania folii (Averous, 2004). W badaniach tych zaobserwowano, że dodatek nawet niewielkich ilości PCL poprawiał właściwości przetwórcze materiału, tj. obniżał sprężystość, skurcz technologiczny i wrażliwość na wilgoć. Bhattacharya z kolei wytłaczał w układzie dwuślimakowym współbieżnym trójskładnikowe blendy o większościowym, bo 70% udziale skrobi, 25 % zawartości HDPE i niewielkim dodatku polimerów funkcjonalizowanych typu EMA lub EVAMA (Bhattacharya, 1998). W badaniach używano bezwodnika kwasu maleinowego jako kompatybilizatora. Wytłaczano i testowano pod względem wytrzymałościowym także folie ze skrobi kukurydzianej i LDPE (Pedroso i wsp., 2005), oraz skrobi pszennej i HDPE (Petersen i wsp., 2001). Inne procedury otrzymania mieszanek skrobi z PE opracował Remkumar i wsp. (1997), gdzie jako dodatku ułatwiającego oddziaływania międzyfazowe używano oprócz znanych już w przetwórstwie poli(octanu winylu) EVA, kopolimeru etylenu z kwasem metakrylowym (EMA), EVAMA, kopolimeru etylen-octan winylu-bezwodnik maleinowy, także włókna celulozowe. Jedną z pierwszych, niestety nieudanych, prób mieszania ziarnistej skrobi ziemniaczanej zarówno z poliestrami alifatycznymi, typu APES (siarczan allilpolietoksyłowy) (APES = allilpolietoksyłowany (10) siarczan amonu, zawierający 10 moli tlenu etylenu) jak i poliolefinami typu LDPE przeprowadził Park i wsp. (2002). Przetwórstwo blend na bazie skrobi pszennej i poliesteramidów w obecności plastyfikatorów takich jak woda i glicerol, prowadził z kolei Averou i wsp. (2000). Bezwodnika tego kwasu używali także Chandra i Rustgi (1997) w przygotowaniu mieszanek skrobi z LLDPE. Tym razem bezwodnik maleinowy (MA) był szczepiony na LLDPE w obecności inicjatora - nadtlenu dikumylu (DCP). Zabieg ten był niezbędny do zapewnienia kompatybilności pomiędzy syntetycznymi polimerami a skrobią, tak aby polarne grupy funkcyjne mogły ze sobą oddziaływać. Tego typu mieszanie umożliwiło wzrost wytrzymałości i moduł Younga, a wydłużenie procentowe zmniejszało się wraz ze wzrostem zawartości komponenta polisacharydowego. W celu zachowania biodegradowalności mieszanek ze skrobią termoplastyczną zaproponowano także szereg mieszanek z innymi polimerami naturalnymi takimi jak pektyny lub częściej biodegradowalnymi poliestrami jak poli(3-hidroksymaślan-ko-3-hidroksywalerian), poli(ε-kaprolakton), polilaktyd, poliesteramidy, poli(bursztynian butylenu-ko-adypinian). Otrzymane

blendy charakteryzowały się poprawionymi właściwościami mechanicznymi, zwiększoną hydrofobowością oraz nieprzepuszczalnością pary wodnej. Ich wadą była ciągle słaba kompatybilność i słabe właściwości powierzchniowe (Chaléat i wsp., 2014). Stąd kolejne propozycje grup badawczych skupiały się na stosowaniu dodatków w postaci kompatybilizatorów lub wstępnej derywatyzacji skrobi (López i wsp., 2007). Dobrym rozwiązaniem, umożliwiającym poprawę właściwości przetwórczych, okazało się zastosowanie do produkcji opakowań kompozytów na bazie skrobi i jednego z nielicznych polimerów rozpuszczalnych w wodzie, jakim jest poli(alkohol winylowy). Tak otrzymane tworzywa odznaczały się wysoką elastycznością i wytrzymałością, co było wynikiem stosunkowo dobrej kompatybilności mechanicznej przy raczej niskim stopniu mieszalności i tworzenia tzw. ciągłej fazy polimerowej (Debiagi i wsp., 2018). Właściwości mechaniczne wytworzonych przez różne grupy badawcze mieszanek zależały nie tylko od ich składu, ale także od metody przetwarzania, przy czym w zdecydowanej większości przedstawionych przykładów rezultatem zwiększania zawartości składnika polisacharydowego było pogorszenie parametrów mechanicznych. Ogólna tendencja jest taka, że im lepsza jest dyspersja skrobi w matrycy termoplastycznej, tym lepsze są właściwości mechaniczne końcowego produktu. W rzeczywistości dodatek skrobi generalnie powoduje wzrost sztywności. Odpowiada to właśnie mniejszej wytrzymałości na rozciąganie i zmniejszającemu się wydłużeniu przy zerwaniu.

Przeprowadzono również próby wytworzenia materiałów opakowaniowych na bazie skrobi hybrydowych, tzn. skrobi mieszanych z różnych źródeł botanicznych. Skupiono się głównie na skrobiach o zwiększonej zawartości amylozy tj. skrobi kukurydzianej i ryżowej, do stworzenia hybrydowego materiału polimerowego, o poprawionych właściwościach wytrzymałościowych i przetwórczych (Marichelvam i wsp., 2019).

Innym podejściem w ramach wytwarzania skrobiowych materiałów opakowaniowych jest ekstruzja folii nanokompozytowych. Jak wiadomo, nanokompozyty dotyczą materiałów o strukturze niejednorodnej, których poszczególne komponenty, nie rozpuszczają się względem siebie i wykazują odmienne właściwości. Najczęściej nanokompozyty w opakowaniach na bazie skrobi mają postać nanowypełniacza. Wprowadza się je do układu nie tylko aby poprawić wytrzymałość mechaniczną i zwiększyć barierowość względem gazów i pary wodnej, ale także aby zredukować koszty związane z produkcją poprzez zmniejszenie zużycia droższego komponentu głównego. Znane są już nanokompozyty oparte na skrobi oraz glinie, służące jako materiał wyjściowy do opracowywania biodegradowalnych folii opakowaniowych (Issa i wsp., 2016). Nanoglinki wypełniające warstwy kompozytowe poprawiały właściwości transportowe i wytrzymałość mechaniczną. W kolejnych badaniach nanokrzemionka i popiół z łusek

ryżowych posłużył jako wypełniacz w nanokompozycie na bazie skrobi kukurydzianej (Lopez i wsp., 2015). Innymi związkami, które z powodzeniem mogą służyć jako wypełniacze w foliach skrobiowych, są zeolity. Te mikroporowate minerały glinokrzemianowe wpływają na właściwości całego kompozytu przez zmniejszenie jego rozpuszczalności w wodzie oraz zwiększenie barierowości dla gazów i wzrost modułu sprężystości. Dodatek zagęszczacza o strukturze krzemianu tzw. Laponitu[®] poprawia z kolei właściwości mechaniczne i użytkowe opakowań na bazie skrobi i polialkoholu winylowego (PVOH), które ze względu na dużą kompatybilność i biodegradowalność mogą konkurować z opakowaniami otrzymanymi z polimerów ropopochodnych (Gadhawe i wsp. 2018). Metodą castingową otrzymano też folie na bazie niewielkiej ilości skrobi kukurydzianej (do 20%), kwasu cytrynowego i karboksymetylocelulozy. W takich kompozytach oddziaływania pomiędzy grupami karboksylowymi kwasu i hydroksylowymi skrobi prowadzą do zmniejszenia dostępności tych drugich, a tym samym poprawiają odporność na wilgoć. Z kolei włókna celulozowe, stosowane jako biodegradowalny wypełniacz w kompozycie skrobiowym, poprawiają dodatkowo jego właściwości mechaniczne typu wytrzymałość na zrywanie i rozdzieranie. Chemiczne podobieństwa w budowie skrobi i celulozy zapewniają dobrą interakcję (Ghanbarzadeh i wsp., 2011).

Kolejną równie popularną metodą w przetwórstwie opakowaniowym skrobi jest kopolimeryzacja. Szczepienie polimerów syntetycznych na szkieletie skrobiowym to jeden z lepszych zabiegów w kierunku poprawy jej właściwości użytkowych. Przykładowo dobrym materiałem na biodegradowalne i zrównoważone opakowanie jest skrobia szczepiona na emulsji winylu (Nikolic i wsp., 2014). Podatny na biodegradację materiał na bazie skrobi otrzymano również przez zastosowanie wieloskładnikowych mieszanek polimerowych. Mieszanekę taką składającą się ze skrobi kukurydzianej, polikaprolaktonu i polihydroksymaślanu przygotować można za pomocą wylączarki dwuślimakowej. PCL choć wykazuje dobre właściwości przetwórcze, to jest drogi, a PHB choć ma sporą wytrzymałość na rozciąganie, to jest stosunkowo kruchy i słaboprzetwarzalny. Ze względu na słabą kompatybilność składników i niską przetwarzalność w większości z nich, konieczne w tej próbie okazało się użycie dodatkowych związków, głównie plastyfikatorów typu woda i glicerol dla skrobi oraz triacetyna dla PHB, a także środków ułatwiających mieszanie typu mieszanina kwasu stearynowego i palmitynowego zwana stearyną III. W efekcie otrzymano tańszy i biodegradowalny materiał opakowaniowy o dostatecznie dobrych właściwościach mechanicznych (Vašková i wsp., 2008). Matzinos i in. (2002), za pomocą konwencjonalnych technik wylączania, formowania wtryskowego i rozdmuchiwania folii, także przetwarzali

mieszanek trójskładnikowych: polietylenu o niskiej gęstości LDPE/plastyfikowanej skrobi/polikaprolaktonu. Wyniki badań potwierdziły, że struktura i właściwości mieszanki zależą nie tylko od składu, ale także od użytej metody przetwarzania. Drobną dyspersję fazy polikaprolaktonu w matrycy polietylen/skrobia spowodowała wzrost właściwości mechanicznych folii.

Z kolei Fang i wsp. (2005) w jednej ze swoich prac skoncentrowali się na wykorzystaniu zmodyfikowanej folii skrobiowej (acylowanej skrobi ziemniaczanej) jako składnika laminatu w połączeniu z innymi polimerami, takimi jak poli(kwas mlekowy) (PLA). Na podstawie przeprowadzonych estryfikacji skrobi kwasami oleinowym i linolowym doszli do wniosku, że im większa liczba wiązań podwójnych (nienasyconych) w estrach tym lepsze ich właściwości termoplastyczne. Badania zdolności przetwórczych i następnie wytrzymałościowych innych kompozytów na bazie skrobi, tym razem ryżowej, PLA i epoksydowanego kauczuku naturalnego przeprowadził Yew i wsp. (2005). Dodatkowo w ramach oceny właściwości otrzymanych kompozytów oznaczano absorpcję wody i podatność na degradację enzymatyczną.

Skrobia i materiały na bazie skrobi lub jej pochodnych w mieszankach z innymi polimerami naturalnymi lub syntetycznymi mogą stanowić przyszłość dla nowej generacji opakowań tzw. zrównoważonych. Komercjalizacja i wzrost popytu na tego typu materiały wymaga jednak pewnych działań, takich jak obniżenie kosztów produkcji, głównie w biodegradowalnych mieszankach niskoskrobiowych z poliestrami, zwiększenie mieszalności, a także unikanie pogorszenia właściwości mechanicznych i użytkowych w mieszankach wysokoskrobiowych, również tych poddanych działaniu kompatybilizatora lub opartych na hydrofobowych pochodnych (Gadhawe i wsp. 2018).

Estryfikacja skrobi kwasami tłuszczowymi w celu zwiększenia hydrofobowości i poprawy termoplastyczności wydaje się być modyfikacją, która może zwiększyć przydatność tego polisacharydu w produkcji opakowań. Przedstawiono wiele dowodów na to, że wprowadzane do cząsteczek skrobi łańcuchy alifatyczne (poprzez substytucję), szczególnie długołańcuchowe reszty acylowe kwasów tłuszczowych, pełnią funkcję tzw. wewnętrznych plastyfikatorów (Ptak i wsp., 2014).

Jeżeli nawet sama skrobia natywna lub splastyfikowana nie wykazuje takich właściwości przetwórczych i użytkowych aby konkurować z szeroko rozpowszechnionymi polimerami syntetycznymi, to warto jednak podkreślić fakt, że ich modyfikacja, przede wszystkim przez hydrofobizację, umożliwi nie tylko otrzymanie materiału termoplastycznego, ale co ważne materiału o zwiększonej dyspersyjności w innych hydrofobowych materiałach

termoplastycznych. Przez co można projektować materiały o zwiększonej biodegradowalności przy zachowaniu dostatecznie dobrych właściwościach przetwórczych i mechanicznych, a stosując przy tym proekologiczne warunki modyfikacji, także materiały otrzymane zgodnie z zasadami zrównoważonego rozwoju.

II. Teza i Cel pracy

Teza:

Biokatalizowana estryfikacja skrobi ziemniaczanej nienasyconymi kwasami tłuszczowymi w środowisku imidazoliowej cieczy jonowej umożliwia syntezę jej hydrofobowych pochodnych o poprawionych właściwościach przetwórczych z punktu widzenia ich zastosowania w przemyśle opakowaniowym.

Cel pracy:

Otrzymanie nowych funkcjonalnych materiałów na bazie skrobi ziemniaczanej, o poprawionych właściwościach mechanicznych, zwiększonej hydrofobowości i stabilności termicznej, a więc właściwościach korzystniejszych dla zastosowania w produkcji opakowań biodegradowalnych.

Cel szczegółowy I - estryfikacja skrobi ziemniaczanej poprzez zastosowanie czystego kwasu oleinowego lub hydrolizowanych enzymatycznie olejów z upraw ekologicznych (oleju rzepakowego i wysokooleinowego oleju słonecznikowego), prowadzona w środowisku imidazoliowej cieczy jonowej – chlorku 1-butylo-3-metyloimidazoliowego. Reakcje katalizowane lipazami pochodzenia grzybowego w roztworze lub postaci immobilizowanej.

Cel szczegółowy II – badania strukturalne, charakterystyka fizyczna i chemiczna nowo otrzymanych estrów skrobiowych, ich zastosowanie do otrzymywania materiałów polimerowych oraz określenie możliwości wykorzystania materiałów polimerowych na bazie skrobi modyfikowanej w przemyśle opakowaniowym.

III. Część eksperymentalna

1. Materiały i metody badawcze

1.1. Wykaz użytych materiałów i odczynników chemicznych

W prezentowanych badaniach użyto następujących materiałów i odczynników chemicznych:

- skrobia ziemniaczana cz.d.a. Sigma-Aldrich, Niemcy
- kwas oleinowy, cz.d.a, Chempur, Polska
- 98% chlorek 1-butylo-3-metyloimidazoliowy ([BMIM]Cl), Sigma-Aldrich, Niemcy
- lipazy grzybowe z *Thermomyces lanuginosus*:
 - w roztworze buforowym, Lipolase 100L (aktywność enzymatyczna $\geq 100\ 000$ TBU/g), Sigma-Aldrich, Niemcy
 - immobilizowana na nośniku polimerowym przez adsorpcję, Immozyme TLL-T1-350 (aktywność enzymatyczna 10 000 TBU/g), Chiral Vision, Holandia
- monooleinian polioksyetylenosorbitolu, Polysorbate 80, Chempur, Polska
- 99.8% deuterowany diemtylosulfotlenek DMSO-d₆, Armar AG, Szwajcaria
- 99.9% argon, STP & DIN Chemicals, Polska
- bromek potasu cz.d.a., Chempur, Polska
- chlorek wapnia, bezwodny, Chempur, Polska
- siarczan sodu, bezwodny, Chempur, Polska
- aceton, Avantor Performance Materials S.A., Polska
- 99,5% eter dietylowy, Avantor Performance Materials S.A., Polska
- 99,8% etanol, bezwodny, Avantor Performance Materials S.A., Polska
- mieszanina rozpuszczalnikowa złożona z 96% etanolu, 3% acetonu i 1% eteru dietylowego, Line ETOH acetonówka, Linegal Chemicals, Polska
- olej rzepakowy, Bio Planète Ölmühle Moog GmbH, Niemcy
- wysokooleinowy olej słonecznikowy, Bio Planète Ölmühle Moog GmbH, Niemcy
- glicerol, cz.d.a., bezwodny, Chempur, Polska
- ziarna owsa, *Avena sativa* L.
- nasiona rzodkiewki zwyczajnej, *Raphanus sativus* L.

1.2. Wykaz użytej aparatury i drobnego sprzętu

W prezentowanych badaniach użyto następującej aparatury i drobnego sprzętu laboratoryjnego:

- wagosuszarka AGS50, Axis, Polska
- waga analityczna AS 220, Radwag, Polska
- pH-metr HI 2221, Hanna, Polska
- uniwersalny dezintegrator (młynek) wysokoobrotowy FW80-I, Chemland, Polska
- homogenizator T25 Digital Ultra-Turrax, Ika, Niemcy
- mieszadła magnetyczne z grzaniem H3760-HS, Benchmark Scientific, USA
- mieszadła mechaniczne OS20-Pro, Chemland, Polska
- rolkowa wytrząsarka orbitalna SK-O330.3-Pro, Chemland, Polska
- łożnia wodna z wytrząsaniem SW22, Julabo, Szwajcaria
- wyparka próżniowa Rotavapor RIII, Buchi, Szwajcaria
- chromatograf gazowy z detekcją płomieniowo-jonizacyjną GC-FID (Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie)
- mikroanalizator CHNS, Vario Micro Cube, Elementar Analysensysteme GmbH, Niemcy
- spektrofotometr FT-IR z przystawką ATR, Nexus Nicolet, USA
- spektrometr ^1H NMR Avance III, Bruker, USA
- dyfraktometr proszkowy D8 Advance, Bruker, USA
- skaningowy mikroskop elektronowy VEGA 3SBU, Tescan, Czechy
- optyczny mikroskop stereoskopowy ZEISS SteREO Discovery.V12, Niemcy
- analizator termiczny STA 409C Netzsch, Niemcy
- mieszalnik planetarny P600, Brabender, Niemcy
- wyłaczarka jednoślismakowa 19/25D z głowicą płaskoszczelinową o szerokości 100 mm i kalandrem trójwałkowym, Brabender, Niemcy
- grubościomierz cyfrowy ID-C112BS, Mitutoyo Corp., Japonia
- zrywarka 27025, Tira, Niemcy
- aparat Elmendorf Pro Tear TAP 3295A, Twing-Albert Instrument Corp., USA
- goniometr Contact Angle Measuring System G10, Kruss, Niemcy

1.3. Metodyka badawcza

1.3.1. Oznaczenie aktywności enzymatycznej lipaz

Aktywność lipaz była mierzona poprzez oznaczenie kwasu masłowego uwalnianego podczas hydrolizy trybutyryny (trimaślanu glicerolu), zgodnie z metodyką opracowaną przez Chiral Vision (Stoytcheva i wsp., 2012; Żarski i wsp., 2016). Reakcję prowadzono w standardowych warunkach, tj. przy pH 7,5 i w temperaturze 40°C, a ilość powstającego podczas hydrolizy kwasu oznaczano wolumetrycznie, poprzez miareczkowanie kwasu 0,1 mol/l roztworem NaOH, z detekcją pH-metryczną. Aktywność enzymatyczna lipazy wyrażona była w jednostkach trybutyryny na gram enzymu (TBU/g). 1 TBU/g (jedna jednostka enzymu) to ilość enzymu, która uwalnia 1 μ mol zmiareczkowanego kwasu masłowego na minutę w podanych warunkach standardowych.

1.3.2. Enzymatyczna hydroliza olejów roślinnych

Olej rzepakowy i wysokooleinowy olej słonecznikowy hydrolizowano w reakcjach katalizowanych lipazą w roztworze buforowym w celu uwolnienia wolnych kwasów tłuszczowych jako późniejszych donorów grupy acylowej w reakcji estryfikacji. Reakcje prowadzono w środowisku wodnym w stechiometrycznym stosunku oleju (triglicerolu) do wody oraz z niewielkim dodatkiem czynnika powierzchniowo czynnego – monooleinianu polioksyetylenosorbitolu wynoszącym 1% (v/v). Następnie tak przygotowaną mieszaninę reakcyjną poddano homogenizacji przy 10 000 rpm przez 5 min. W kolejnym kroku do homogenizatu dodano katalizatora na poziomie 0,5% (v/v) i całość inkubowano w 50°C w łaźni wodnej z wytrząsaniem przy 130 rpm, w czasie od 2 do 12h. Aby określić postęp i stopień hydrolizy użyto techniki spektroskopowej osłabionego całkowitego odbicia w podczerwieni (ATR FTIR). W celu usunięcia produktu ubocznego reakcji, jakim był glicerol, przeprowadzono ekstrakcję eterem dietylowym z użyciem rozdzielacza. Otrzymane ekstrakty były suszone w obecności siarczanu (VI) sodu. Następnie środek suszący został usunięty w procesie filtracji, a rozpuszczalnik oddestylowany pod zmniejszonym ciśnieniem. Analizę jakościową i ilościową produktów hydrolizy enzymatycznej olejów wykonano metodą chromatografii gazowej z detekcją płomieniową jonizacyjną (GC-FID) w akredytowanym laboratorium badawczym Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno- Spożywczego z siedzibą w Warszawie.

1.3.3. Kleikowanie skrobi w cieczy jonowej

Skrobię ziemniaczaną wstępnie suszono w 105°C przez ok. 4h, do zawartości H₂O < 2%. W kolejnym kroku dodawano ją do wcześniej przedmuchanej argonem kolby okrągłodennej zawierającej chlorek 1-butylo-3-metyloimidazoliowy. Stężenie skrobi w stosunku do IL było różne i wynosiło odpowiednio 10, 20 lub 30% (w/w). Dalej postępowano zgodnie z jednym ze schematów:

- I) w metodzie tzw. bezpośredniej, skrobię z chlorkiem ogrzewano w łaźni olejowej w temp. 90-100°C, przy normalnym ciśnieniu atm. tj. >1000 hPa (mbar) mieszając mechanicznie (V_{obr} 75-125 rpm), aż do momentu stopienia IL i otrzymania transparentnego kleiku skrobiowego, czyli przez ok. 1h. Otrzymany kleik skrobiowy posłużył bezpośrednio jako substrat do dalszej modyfikacji poprzez estryfikację (Żarski i wsp., 2016),
- II) w metodzie tzw. pośredniej, skrobię z chlorkiem ogrzewano w łaźni wodnej wyparki próżniowej w temp. 60°C, przy obniżonym ciśnieniu do 20 hPa (mbar), mieszając rotacyjnie (V_{obr} 75-125 rpm), aż do momentu stopienia IL i otrzymania transparentnego kleiku skrobiowego, tj. przez ok. 30 min. W kolejnym etapie, skleikowaną skrobię wytrącano za pomocą technicznej mieszaniny rozpuszczalnikowej zawierającej etanol, aceton i eter dietylowy, a powstały osad poddawano sączeniu pod zmniejszonym ciśnieniem, suszeniu w piecu konwekcyjnym w 50°C przez 24h i mieleniu. Otrzymana tzw. suszona skrobia wstępnie skleikowana była poddawana właściwej estryfikacji kwasami tłuszczowymi (Żarski i wsp., 2019).

1.3.4. Otrzymywanie estrów skrobi z wyższymi kwasami karboksylowymi

Wstępnie skleikowaną skrobię ziemniaczaną, w postaci kleiku lub suchego ekstraktu, poddawano estryfikacji kwasami tłuszczowymi, używając immobilizowanej lipazy grzybowej z *T. lanuginosus* jako katalizatora (1,5% w/w s. m. skrobi). W przypadku użycia ekstraktu jako substratu do reakcji zastosowano kolejną porcję IL. Estry skrobiowe syntezowano przy różnym stosunku molowym jednostki anhydroglukozowej (AGU) do kwasów (1:1, 1:2 lub 1:3), różnym zakresie temperaturowym (40-80°C) i czasie (2-8h). Modelowe reakcje estryfikacji prowadzono z użyciem czystego kwasu oleinowego z dodatkiem lub bez dodatku związku powierzchniowo czynnego – monooleinianu polioksyetylenosorbitolu, zwanego również Polisorbatem 80 (P 80; 5% v/v w stosunku do kwasu tłuszczowego). Układ reakcyjny mieszano mechanicznie przy 200 rpm, z kontrolą temperatury w termostатовanej łaźni olejowej.

Najefektywniejszą z metod (pod względem wydajności i DS) wybrano do estryfikacji skrobi przy użyciu mieszaniny kwasów tłuszczowych otrzymanych podczas enzymatycznej hydrolizy oleju rzepakowego i wysokooleinowego oleju słonecznikowego.

Estry skrobiowe wytrącono przez dodanie 50 ml bezwodnego etanolu. Otrzymano osady, które odwirowano, ponownie przemywano (3 x 30 ml etanolu) i sączono pod zmniejszonym ciśnieniem, tak aby oddzielić estry skrobi od produktów ubocznych i nieprzereagowanych odczynników. Na koniec produkty suszono w piecu konwekcyjnym w temperaturze 50°C przez 24h do stałej masy, po czym je zmielono. Wydajność syntezy produktu zdefiniowano jako procent estru skrobi uzyskanego na podstawie wyjściowego substratu w przeliczeniu na suchą masę.

1.3.5. Oznaczenie stopnia podstawienia (DS) z użyciem metody miareczkowej i analizy elementarnej

Stopień podstawienia estryfikowanej skrobi określa się jako średnią liczbę podstawionych grup hydroksylowych przypadających na 1 jednostkę AGU polisacharydu. DS estrów skrobi i kwasów tłuszczowych w pierwszej kolejności oznaczono za pomocą nieznacznie zmodyfikowanej metody miareczkowej (Lin i wsp., 2014). Na początku odważono 0,5 g wysuszonego estru skrobiowego i zdyspergowano go w 25 ml wody destylowanej z dodatkiem 5 ml 0,5 mol/l roztworu NaOH. Tak przygotowaną mieszaninę kondycjonowano w łaźni wodnej przez 1 h w temperaturze pokojowej z mieszaniem magnetycznym przy 250 rpm. Nadmiar NaOH zmiareczkowano następnie za pomocą 0,5 mol/l roztworu HCl w obecności fenoloftaleiny jako wskaźnika. Do zmiareczkowania próby odniesienia użyto skrobi natywnej zamiast modyfikowanej. Dla każdej próbki oznaczenie przeprowadzono trzykrotnie, a z otrzymanych powtórzeń obliczono średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe. DS estru skrobi obliczono korzystając z następującego wzoru:

$$DS = \frac{Mw_{AGU} \times (V_0 - V) \times C_{HCl}}{W - [Mw_A \times (V_0 - V) \times C_{HCl}]}$$

gdzie:

Mw_{AGU} - masa cząsteczkowa jednostki anhydroglukozowej skrobi, Mw_A - masa cząsteczkowa grupy acylowej kwasu tłuszczowego, V_0 - objętość HCl zużyta do zmiareczkowania skrobi natywnej, próbki odniesienia [ml], V - objętość HCl zużyta do zmiareczkowania estru skrobiowego [ml], C_{HCl} - stężenie molowe HCl używanego w miareczkowaniu [mol/l], W - sucha masa próbki [g]

Wartości DS skrobi estryfikowanej obliczono dodatkowo przy zastosowaniu metody opracowanej przez Vaca-Garcia, i wsp. (2001), poprzedzonej przeprowadzeniem analizy elementarnej. Wyniki tej analizy dają możliwość weryfikacji DS wyznaczonego za pomocą przedstawionej wcześniej metody miareczkowej, dzięki porównywaniu wartości teoretycznych z wartościami eksperymentalnymi zawartości procentowej podstawowych pierwiastków (% C, % H) wchodzących w skład uzyskanych estrów skrobi, pod kątem stopnia podstawienia w pełnym zakresie tj. od 0 do 3. Pomiary przeprowadzono dwukrotnie dla każdej z próbek, za pomocą mikroanalizatora, w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk, z siedzibą w Łodzi (CBMiM PAN, Łódź). Z otrzymanych powtórzeń obliczono średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe.

1.3.6. Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR)

W celu identyfikacji i określenia struktury chemicznej skrobi natywnej i zmodyfikowanej rejestrowano widma za pomocą spektrofotometru FT-IR. Najpierw próbki w postaci sproszkowanej zostały dodatkowo utarte w moździerz agatowy. W następnym etapie każdą z nich zmieszano z bromkiem potasu (KBr) w stosunku 1:50 (w/w), po czym sprasowano na pastylki z użyciem ręcznej prasy hydraulicznej. Widma rejestrowano w zakresie falowym od 4000 do 400 cm^{-1} , przy zdolności rozdzielczej 4 cm^{-1} i liczbie skanów równej 32.

Widma absorpcji w obszarze podczerwieni próbek cieczy tj. olei, hydrolizatów olejowych i kwasów tłuszczowych rejestrowano przy użyciu tego samego spektrofotometru FT-IR, z tą różnicą, że wyposażonego w przystawkę ATR z kryształem selenku cynku służącego do pomiaru próbek ciekłych. Za każdym razem próbkę nanoszono w jednakowej objętości tj. 0,5 ml przy użyciu pipety półautomatycznej. Kryształ ATR starannie oczyszczano acetonem i suszono za pomocą gazu obojętnego po każdym doświadczeniu, tak aby zapewnić możliwie jak najczystsze widma próbek.

1.3.7. Protonowa spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H NMR)

Pomiary widm ^1H NMR wykonano w CBMiM PAN w Łodzi, za pomocą spektrometru z częstotliwością 500 MHz. Wstępne przygotowanie próbek polegało na ich rozpuszczeniu w DMSO- d_6 i ogrzewaniu w temperaturze 343 K w łaźni wodnej przez 12 h. Właściwe eksperymenty przeprowadzono w temperaturze 295 K (przy użyciu sondy BBI, Z-gradient, 5 mm). Wszystkie przesunięcia chemiczne grup funkcyjnych podano w częściach na milion (ppm).

1.3.8. Dyfrakcja promieniowania rentgenowskiego (XRD)

Dyfraktogramy rejestrowano przy użyciu dyfraktometru proszkowego zaopatrzonego w monochromator Johansson'a i detektor paskowy typu LynxEye przy zastosowaniu lampy miedziowej jako źródła promieniowania rentgenowskiego i filtru niklowego ($\lambda_{\text{Cu K}\alpha 1} = 15406 \text{ \AA}$). Pomiary przeprowadzono w zakresie kątowym od 4° do 45° (2θ) przy 1-sekundowej wielkości kroku równym $0,02^\circ$ (2θ). Badania wykonano na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

1.3.9. Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM)

Cechy morfologiczne naturalnej skrobi ziemniaczanej oraz ewentualne zmiany następujące po jej skleikowaniu i estryfikacji, badano za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego. Próbkę w postaci proszku zostały umieszczone na stolikach za pomocą dwustronnej taśmy samoprzylepnej, bez pokrywania ich jakimkolwiek materiałem przewodzącym (Żarski i wsp. 2016; Żarski i wsp., 2019). Obserwacje mikroskopowe prowadzono w warunkach wysokiej próżni i przy napięciu przyspieszającym równym 3 kV.

1.3.10. Analiza termograwimetryczna (TG), termograwimetryczna różnicowa (DTG) i skaningowa kalorymetria różnicowa (DSC)

Analizę stabilności termicznej skrobi przed i po modyfikacjach przeprowadzono za pomocą analizatora termicznego z zastosowaniem dwóch metod: termograwimetrycznej (TG) i termograwimetrycznej różnicowej (DTG). Pomiary wykonywano w środowisku gazu obojętnego - argonu. Odważone próbki (po 10 mg) umieszczono w tygielkach korundowych i ogrzewano w zakresie temperaturowym od 25 do 500°C , przy stałym wzroście temperatury wynoszącym $10^\circ\text{C}/\text{min}$.

Analiza temp. zeszklenia i innych przemian fazowych skrobi przed i po modyfikacji została wykonana przy użyciu skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC). Pomiary przeprowadzono na skaningowym kalorymetrze różnicowym DSC 822e/ 700 firmy Mettler – Toledo stosując zakres temp. pomiaru $0 - 300^\circ\text{C}$, z szybkością wzrostu temperatury $10^\circ\text{C}/\text{min}$., w atmosferze azotu przy przepływie $60 \text{ ml}/\text{min}$. Badania zostały przeprowadzone w Sieci Badawczej Łukasiewicz – Instytucie Inżynierii Materiałów Polimerowych i Barwników w Toruniu (Ł-IMPIB, Toruń).

1.3.11. Zdolność wiązania oleju (olejochłonność, OBC)

Zdolność wiązania oleju przez natywne i zestryfikowane próbki skrobi oznaczono metodą grawimetryczną opisaną przez Yousif i wsp. (2012), wprowadzając niewielkie modyfikacje. W pierwszym etapie próbki zostały zmielone za pomocą dezintegratora wysokoobrotowego i mechanicznie przesiane na sitach laboratoryjnych o średnicy oczek równej 250 µm, umieszczonych w rolkowej wytrząsarce orbitalnej przy 300 rpm przez 10 min. Z tak przygotowanych proszków odważono po 0,5 g i zdyspergowano w 25 ml oleju (rzepakowego lub wysokooleinowego oleju słonecznikowego) w probówkach wirówkowych o znanej masie. Otrzymaną zawiesinę mieszano wytrząsając przez 30 minut, a następnie odwirowano przy 9000 rpm w czasie 5 min. Supernatant zdekantowano i ponownie ważono probówkę wirówkową. Badanie dla każdej z próbek wykonano w trzech powtórzeniach, z obliczeniem średniej arytmetycznej i odchylenia standardowego. Zdolność wiązania oleju wyrażono w ujęciu procentowym i obliczono za pomocą następującego równania:

$$OBC(\%) = \frac{W_w - W_d}{W_d} \times 100 \%$$

gdzie: W_w – masa próbki po kondycjonowaniu z olejem [g] ; W_d – początkowa masa próbki wysuszonej do s.m. [g]

1.3.12. Wytwarzanie folii ze skrobi natywnej lub estrów skrobiowych

W celu sprawdzenia możliwości wykorzystania uzyskanych estrów skrobi w przemyśle opakowaniowym, w pierwszej kolejności przeprowadzono ich plastyfikację z użyciem mieszalnika planetarnego, a następnie wytłaczano z nich folie za pomocą wytłaczarki. Badania prowadzono w Ł-IMPIB w Toruniu. Do plastyfikacji stosowano czysty glicerol (w stosunku wagowym plastyfikatora do estru wynoszącym 20:80), a proces prowadzono przy 70 rpm przez 10 min., z momentem obrotowym równym 5 Nm. Folie wytłaczano przy użyciu wytłaczarki jednoślimakowej (ślimak trójstrefowy o stopniu sprężania 3:1 i $L/D = 25$), wyposażonej w czterostrefowy system grzewczy i płaską głowicę wąskoszczelinową o szerokości 100 mm. Prędkość obrotową ślimaka podczas wytłaczania utrzymywano na poziomie 30-40 rpm, a profil temperaturowy, kierując się od strefy zasilania do głowicy przedstawiał się następująco: 85°C, 110°C, 130°C, 110°C. Mierzona podczas wytłaczania wartość momentu obrotowego na końcu ślimaka mieściła się w przedziale 40-60 Nm.

1.3.13. Oznaczanie właściwości mechanicznych i przetwórczych otrzymanych folii

W celu określenia podstawowych właściwości mechanicznych i przetwórczych przeprowadzono pomiary wytrzymałości na zrywanie, na rozdzielanie oraz pomiary absorpcji wody, zwilżalności i energii powierzchniowej. Wszystkie opisane poniżej pomiary przeprowadzono pięciokrotnie dla każdej z próbek folii. Z otrzymanych powtórzeń obliczono średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe. Wszystkie próbki poddane oznaczeniom, na 24 h przed właściwym badaniem przechowywano w standardowych warunkach pomiaru tj. temp. 23°C i wilgotności 50%.

1.3.13.1. Pomiary grubości folii

Grubość folii mierzono według normy PN-ISO 4593:1999 *Tworzywa sztuczne. Folie i płyty. Oznaczanie grubości metodą skaningu mechanicznego*. Badania przeprowadzono przy użyciu grubościomierza Mahr Extramess 2000, Hildebrand z naciskiem stopki 0,298 N.

1.3.13.2. Pomiary wytrzymałości folii na zerwanie

Właściwości mechaniczne przy statycznym rozciąganiu folii oznaczano według polskiej normy PN-EN ISO 527-1:1998 *Oznaczanie właściwości mechanicznych przy statycznym rozciąganiu. Część 1: Zasady ogólne* oraz PN-EN ISO 527-3:1998 *Oznaczanie właściwości mechanicznych przy statycznym rozciąganiu. Część 3: Warunki badań folii i płyt*. Badania wykonano na kształtkach folii wyciętych przy użyciu szablonu i prasy hydraulicznej. Długość całkowita kształtek to 115 mm, szerokość uchwytów $25 \text{ mm} \pm 0,25$, szerokość odcinka pomiarowego $6 \text{ mm} \pm 0,4$ i długość $25 \text{ mm} \pm 0,25$. Pomiary przeprowadzono na zrywarcie TIRA test 27025, na kształtkach z każdej próbki folii, wyciętej zarówno w kierunku maszynowym (wzdłużnym) jak i poprzecznym. W trakcie próby kształtkę rozciągano wzdłuż jej osi głównej przy stałej prędkości (100 mm/min), aż do jej zerwania. Wytrzymałość na rozciąganie to maksymalne naprężenie rozciągające, przenoszone przez kształtkę w czasie badania rozciągania. Dodatkowo podczas pomiarów zostały zarejestrowane inne właściwości mechaniczne takie jak wydłużenie względne i moduł sprężystości przy rozciąganiu zwany inaczej modułem odkształcalności liniowej lub tzw. modułem Younga.

1.3.13.3. Pomiary wytrzymałości folii na rozdzielanie

Wytrzymałość folii na rozdzielanie określano przy zastosowaniu metody Elmendorfa, według normy PN-EN ISO 6383-2:2005 *Tworzywa sztuczne. Folie i płyty. Oznaczanie wytrzymałości na rozdzielanie. Część 2: Metoda Elmendorfa*. Próbki do pomiarów miały postać

kształtek wyciętych z badanej folii za pomocą szablonu o stałym promieniu z określonym wstępnym nacięciem ($20\text{ mm} \pm 0,5$). Kształtki wycięte w kierunku maszynowym i poprzecznym były poddawane działaniom siły rozdzierającej, wywołanej energią zmagazynowaną w wahadle (6400g). Badanie prowadzono na testerze Pro Tear Tearing, Twing-Albert Instrument Co. w temperaturze 23°C i przy wilgotności 50%. Do obliczania wytrzymałości na rozdzielanie wykorzystano energię zużytą do rozdzielania próbki. Siłę potrzebną do rozdarcia odczytywano w niutonach [N].

1.3.13.4. Oznaczanie absorpcji wody

W celu oznaczenia absorpcji wody potocznie zwanej wodochłonnością zastosowano metodę zanurzeniową (imersyjną), według standardowej metody PN-EN ISO 62:2008. Kształtki w postaci kwadratów o wymiarach $6 \times 6 \times 1,5$ [cm], wcześniej wysuszone w temp. 80°C , zważono z dokładnością $\pm 0,0001\text{g}$, a następnie zanurzono w wodzie destylowanej. Pomiaru absorpcji dokonano po 24h. Po tym czasie kształtki wyłowiono i ponownie zważono. Ilość pochłoniętej przez kształtkę wody oznaczono mierząc zmiany jej masy, tj. różnicę pomiędzy masą po poddaniu działaniu wodą, a masą początkową. Dlatego wodochłonność była wyrażona w procentach masy początkowej próbki:

$$C = \frac{m_2 - m_1}{m_1} \times 100\%$$

gdzie:

m_1 - masa początkowa kształtki po wysuszeniu [mg]

m_2 - masa kształtki po zanurzeniu [mg]

1.3.13.5. Oznaczanie zwilżalności i energii powierzchniowej

Dla scharakteryzowania hydrofobowości, folie poddano badaniom zwilżalności powierzchni folii według metody ISO 8296:2003 *Tworzywa sztuczne. Folie i płyty. Oznaczanie zwilżalności oraz porównawczo swobodną energię powierzchniową, metodą Owensa – Wendta*. Pomiar kąta zwilżania powierzchni folii przeprowadzono za pomocą goniometru firmy KRUSS GmbH. Zastosowano metodę „siedzącej kropli”, używając dwie wzorcowe ciecz pomiarowe: wodę (polarną) i diiodometan (niepolarną).

1.3.14. Oznaczanie podatności folii na biodegradację

W celu oceny biodegradowalności wytłoczonych folii skorzystano z metody pomiaru ubytku masy w trakcie biodegradacji w glebie (Rychter i wsp., 2010; Rychter i wsp., 2016) z

niewielką modyfikacją. Glebę użytą w doświadczeniu zakwalifikowano do gleby piaszczystej, ze względu na zawartość jej poszczególnych frakcji granulometrycznych, które wyglądały następująco: 77% piasku, 16% pyłu i ok. 7% iłu. Dla dokładniejszego jej scharakteryzowania oznaczono także inne parametry, takie jak zawartość węgla organicznego (ok. 1,6%), kwasowość (pH_{KCl} 6,6) i zawartość wilgoci (16%). Aby przetestować biodegradowalność otrzymanych folii najpierw wycięto z nich dyski o średnicy ok. 30 mm i umieszczono je w doniczkach polipropylenowych wypełnionych ok. 300 g wyżej opisanej gleby, tak aby znajdowały się na głębokości 2 cm i były rozstawione w równych odległościach od siebie. Przygotowane w ten sposób doniczki pozostawiono w hali wegetacyjnej w ściśle kontrolowanych warunkach, przy stałej zawartości wilgoci (70%), stałej temperaturze ($20^{\circ}\text{C} \pm 2$) i stałym natężeniu światła (7000 lux), odpowiednio przez 3, 6, 9 lub 12 tygodni. Po upływie określonego czasu próbki folii lub jej pozostałości zebrano i ostrożnie przemywano wodą destylowaną. W kolejnym kroku suszono je w temperaturze pokojowej przez 7 dni. Każdą próbkę ważono przed i po okresie degradacji za pomocą wagi analitycznej (z dokładnością $\pm 0,0001\text{g}$) w celu obliczania ewentualnych ubytków masy, zgodnie z zaprezentowanym niżej równaniem. Zmiany morfologiczne folii, takie jak wszelkie deformacje powierzchniowe lub wgłębne obserwowano i zarejestrowano przy użyciu technik mikroskopowych - optycznej mikroskopii stereoskopowej i skaningowej mikroskopii elektronowej.

$$\% \Delta w = \frac{W_0 - W_t}{W_0} \times 100$$

gdzie:

W_0 - początkowa masa próbki, przed degradacją,

W_t - masa próbki po określonym czasie degradacji

1.3.15. Oznaczanie fitotoksyczności

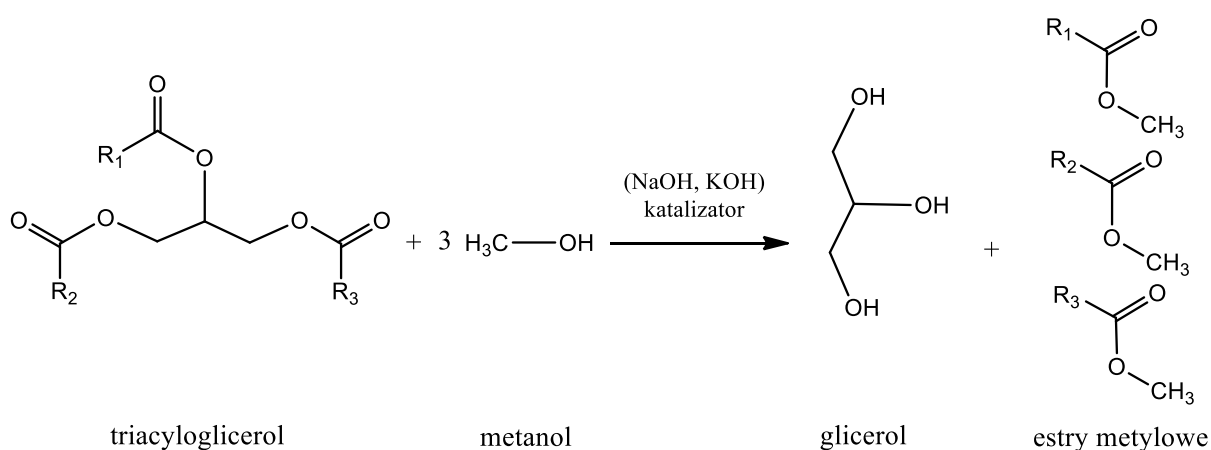
Badania fitotoksyczności wyłoczonych folii zostały oparte o przewodnik OECD 208 (Guideline for the Testing of Chemicals. Terrestrial Plant Test: 208: Seedling Emergence and Seedling Growth Test) oraz normę ISO 11269-2 (Rychter i wsp., 2010; Rychter i wsp., 2016). Analiza dotyczyła oceny wpływu różnych stężeń (0, 250, 500, 750, 1000 mg/kg suchej masy gleby) badanego tworzywa na wschody i wczesne stadia wzrostu roślin: jednoliściennego owsa zwyczajnego (*Avena sativa* L.) i dwuliścienną rzodkiewkę zwyczajną (*Raphanus sativus* L.). Zmielone na drobny proszek folie implikowano w różnym stężeniu do gleby jako środowiska wzrostu roślin. Badania przeprowadzono w hali wegetacyjnej należącej do Katedry Biochemii,

Biotechnologii i Ekotoksykologii Uniwersytetu im. Jana Długosza w Częstochowie, w ściśle kontrolowanych warunkach (intensywność światła ok 7000 lux, 16h dzień/ 8h noc, temp. $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$). W ramach oceny ewentualnej fitotoksyczności dokonano obserwacji makroskopowej próbek, rejestrowano ich ubytek suchej masy oraz zmiany w zawartości podstawowych barwników roślinnych.

2. Wyniki i dyskusja

2.1. Wybór metody otrzymywania hydrofobowych pochodnych skrobi

W prezentowanych badaniach zdecydowano, aby prowadzić estryfikację poprzedzoną hydrolizą, a nie bezpośrednią transestryfikację. Transestryfikacja enzymatyczna jest często spotykana w modyfikacjach różnego typu związków. Jednakże zazwyczaj sprawdza się w odniesieniu do reagentów małocząsteczkowych, np. w produkcji biodiesla wykorzystuje się transestryfikację chemiczną lub enzymatyczną etanolu lub metanolu olejem rzepakowym (Ma i Hanna, 1999) (Rys.2.1.). W przypadku transestryfikacji skrobi olejami (estrami wyższych kwasów tłuszczowych i glicerolu) zadanie jest utrudnione. Zespoły badawcze z różnych ośrodków badawczych na świecie, przeprowadzały już takie próby i za każdym razem mimo, że w dyskusji wyników twierdzono inaczej lub nie przedstawiono wystarczających dowodów, otrzymano mieszaniny skrobi z olejami, a nie jej estry (Ptak i wsp., 2014). Świadczy to o tym, że w przypadku polimerów wielkocząsteczkowych z wieloma grupami hydroksylowymi (polialkohole) transestryfikacja olejami jest wręcz niemożliwa. Ze względu na występowanie mniejszej zawady przestrzennej bardziej prawdopodobna jest ponowna substytucja grup hydroksylowych alkoholu triwodorotlenowego, czyli glicerolu, niż polialkoholu jakim jest skrobia. Poza tym w skrobi na jedną jednostkę AGU przypada tylko jedna pierwszorzędowa grupa hydroksylowa, a w przypadku glicerolu na jedną cząsteczkę przypadają aż dwie takie grupy, które jak wiadomo są najbardziej podatne na substytucję.

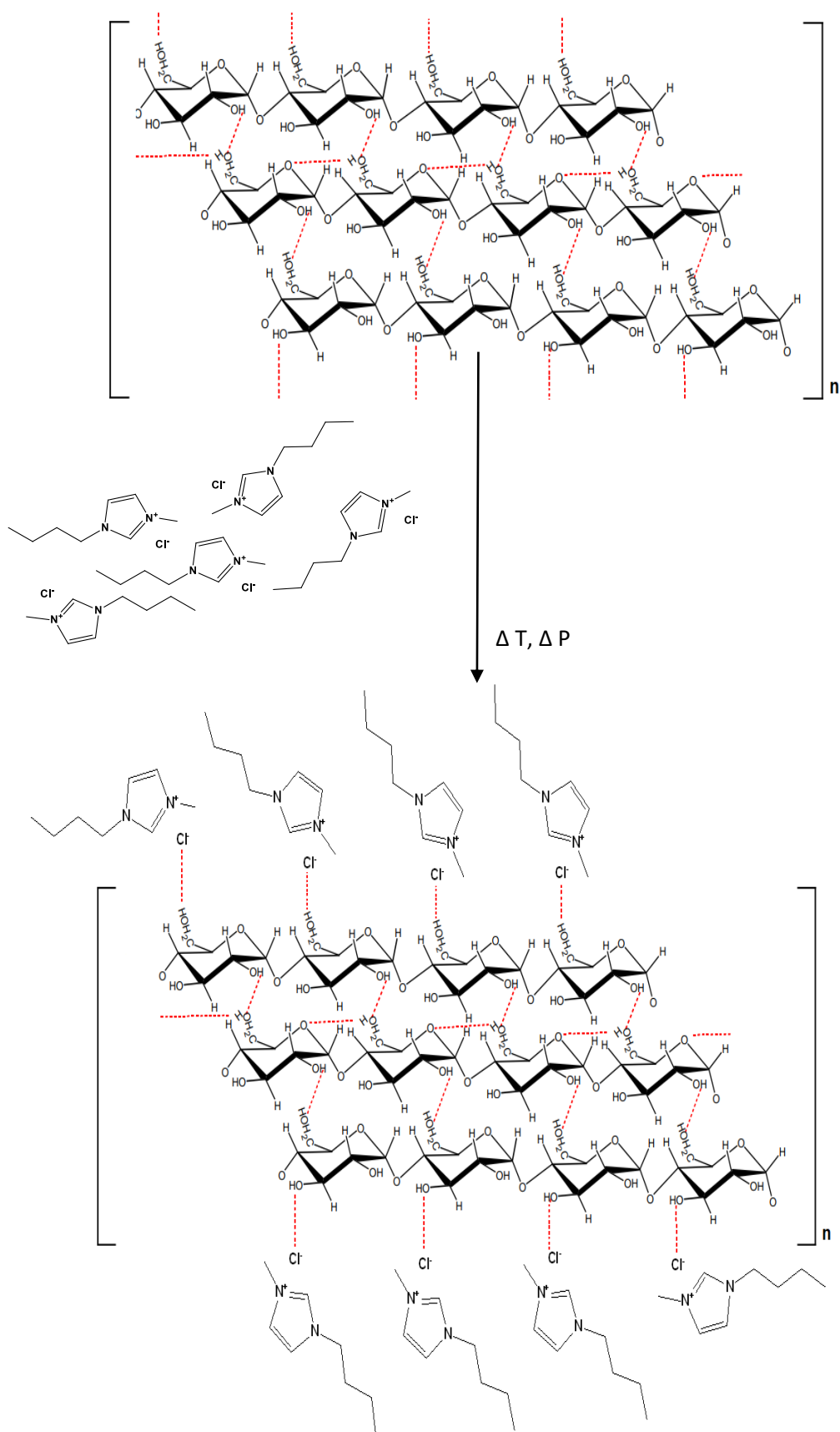


Rys.2.1. Transestryfikacja triacyloglicerolu przy użyciu alkoholu jednowodorotlenowego

2.2. Kleikowanie skrobi w cieczy jonowej

Półkryształiczna struktura ziarenek skrobi ogranicza jej efektywną estryfikację przy prowadzeniu jej w warunkach heterogenicznych (Lu i wsp., 2012). Chociaż często stosowana do tej pory woda była dobrym czynnikiem kleikującym dla skrobi, to jest ona wysoce niepożądana w reakcjach estryfikacji katalizowanych przez lipazy. Wynika to z faktu, że nawet niewielka jej ilość może przesunąć równowagę w kierunku hydrolizy, a nie syntezy (Villeneuve i wsp., 2000). Jej grupa hydroksylowa podczas reakcji enzymatycznej może przyjąć rolę czynnika nukleofilowego i doprowadzić w efekcie do rozszczepienia kompleksu przejściowego enzym-acyl i przerwania syntezy estru. Może zatem stanowić silną konkurencję wobec grupy hydroksylowej polialkoholu. Z tego powodu w zaprezentowanych badaniach, w reakcjach bezpośrednich i pośrednich, zamiast wody zastosowano aprotonową ciecz jonową do wstępnego kleikowania skrobi oraz jako medium do przeprowadzenia jej modyfikacji biochemicznej. Chlorek 1-butylo-3-metyloimidazoliowy ([BMIM]Cl) jest związkiem mniej polarnym niż H_2O . Jego polarność jest zbliżona do etanolu. Jest słabszym czynnikiem kleikującym niż wspomniana woda, ale nie jest efektywnym czynnikiem nukleofilowym i dlatego nie zakłóca estryfikacji ani nie sprzyja hydrolizie.

Mechanizm kleikowania polimerów węglowodanowych, zarówno w przypadku użycia klasycznych hydrofilowych związków organicznych jak i hydrofilowych cieczy jonowych polega na rozerwaniu wewnątrzcząsteczkowych i międzycząsteczkowych wiązań wodorowych (Lappalainen i wsp., 2013; Wilpiszewska i Spychaj, 2011). Przy stosowaniu imidazolowych cieczy jonowych podczas kleikowania powstają nowe wiązania wodorowe głównie pomiędzy anionem chlorkowym oraz w mniejszym stopniu kationem imidazolu, a protonem grupy hydroksylowej polisacharydu (Rys.2.2.). Skuteczność rozpuszczania i inne właściwości IL zależą ściśle od ich budowy (Hunt i wsp., 2015; Ueno i wsp., 2010). Użyta w badaniach ciecz jonowa zbudowana z kationu z niewielką liczbą podstawników i krótkim łańcuchem alifatycznym, a także prostym anionem pierwiastka silnie elektroujemnego, wykazuje większą biegunowość w porównaniu z innymi ILs, a tym samym większą zdolność do rozpuszczania związków hydrofilowych (Zhang i wsp., 2005).



Rys.2.2. Mechanizm kleikowania skrobi w chlorku 1-butylo-3-metyloimidazoliowym (zmodyfikowany; Tako i wsp., 2014)

Wysoka polarność związków stosowanych w modyfikacji skrobi lub innych biopolimerów jest pożądaną cechą podczas ich rozpuszczania lub żelowania, ale niepożądaną w reakcjach bezwodnych i biokatalizowanych. Higroskopijność rozpuszczalników powoduje problemy związane z usuwaniem wody jako produktu ubocznego reakcji. Ponadto może być głównym powodem inaktywacji enzymu poprzez interakcje z wiązaniami wodorowymi triady katalitycznej aminokwasów i zmiany konformacyjne w obrębie centrum aktywnego enzymów (Kaar, Jesionowski, Berberich, Moulton i Russell, 2003).

Solvatowanie anionowych nukleofilów jest słabsze w rozpuszczalnikach polarnych aprotonowych niż w polarnych protonowych. W rozpuszczalnikach polarnych aprotonowych brak wiązań wodorowych pomiędzy nukleofilem a rozpuszczalnikiem powoduje wzrost charakteru nukleofilowego odczynnika. Solwatowaniu kationów sprzyjają głównie rozpuszczalniki polarne aprotonowe - stabilizują karbokation. Stąd zasadność zastosowania jako medium reakcyjnego w estryfikacji skrobi prostej aprotonowej cieczy jonowej na bazie chlorku imidazoliowego z krótkim podstawnikiem alifatycznym.

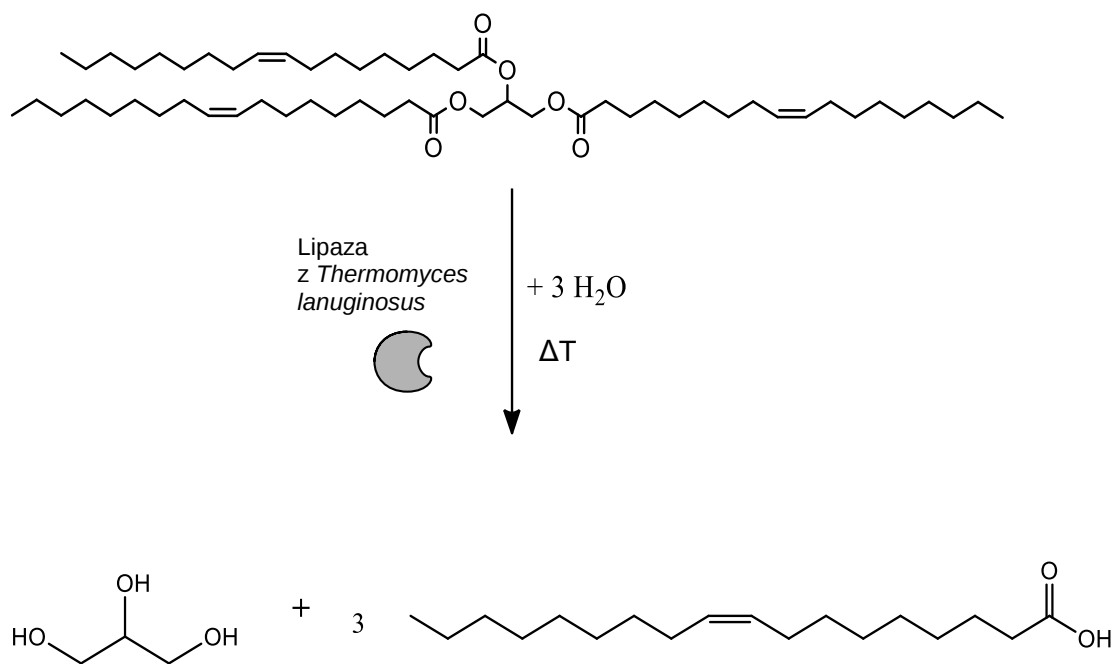
W przeprowadzonych badaniach wykorzystano dwie różne metody kleikowania skrobi w cieczy jonowej tj. standardowe kleikowanie przy normalnym ciśnieniu atmosferycznym (≈ 1000 hPa) oraz w warunkach ciśnienia znacznie obniżonego (>20 hPa) (Żarski i wsp., 2016; Żarski i wsp., 2019). W pierwszej metodzie, prowadzonej w dość wysokiej temperaturze bo ok. 100°C w czasie 1h, otrzymano skrobię częściowo skleikowaną, tzn. wykazującą wciąż w pewnym stopniu cechy semikrystaliczności i ziarnistości. W drugim przypadku, zastosowanie obniżonego ciśnienia pozwoliło otrzymać skrobię całkowicie skleikowaną, czyli amorficzną, w zdecydowanie niższej temperaturze (60°C) i dużo krótszym czasie (30 min.). Analizę strukturalną i zmiany morfologiczne w skrobi przed i po skleikowaniu omówiono szerzej w kolejnych podrozdziałach, dotyczących głównie badań XRD i SEM. Na co jednak warto jeszcze zwrócić uwagę i co świadczy o wydajności procesu, w metodzie standardowej otrzymano kleik skrobi o max. stężeniu do 10%, co zgodne jest z wcześniejszymi doniesieniami literaturowymi (Ptak i wsp., 2014). Druga z opracowanych metod pozwoliła na skleikowanie trzykrotnie większej ilości skrobi, dodatkowo w warunkach bardziej ekonomicznych (max. stężenie skrobi przy całkowitym skleikowaniu wyniosło aż 30% w/w, w stosunku do chlorku 1-butylo-3-metyloimidazoliowego). Tak więc nowo opracowana metoda kleikowania okazała się być metodą szybszą i wydajniejszą (Rys.2.3.).



Rys.2.3. Skrobia skleikowana przy użyciu chlorku 1-butylo-3-metyloimidazoliowego (postać mokra i wstępnie wysuszona)

2.3. Analiza jakościowa i ilościowa produktów hydrolizy olejów roślinnych

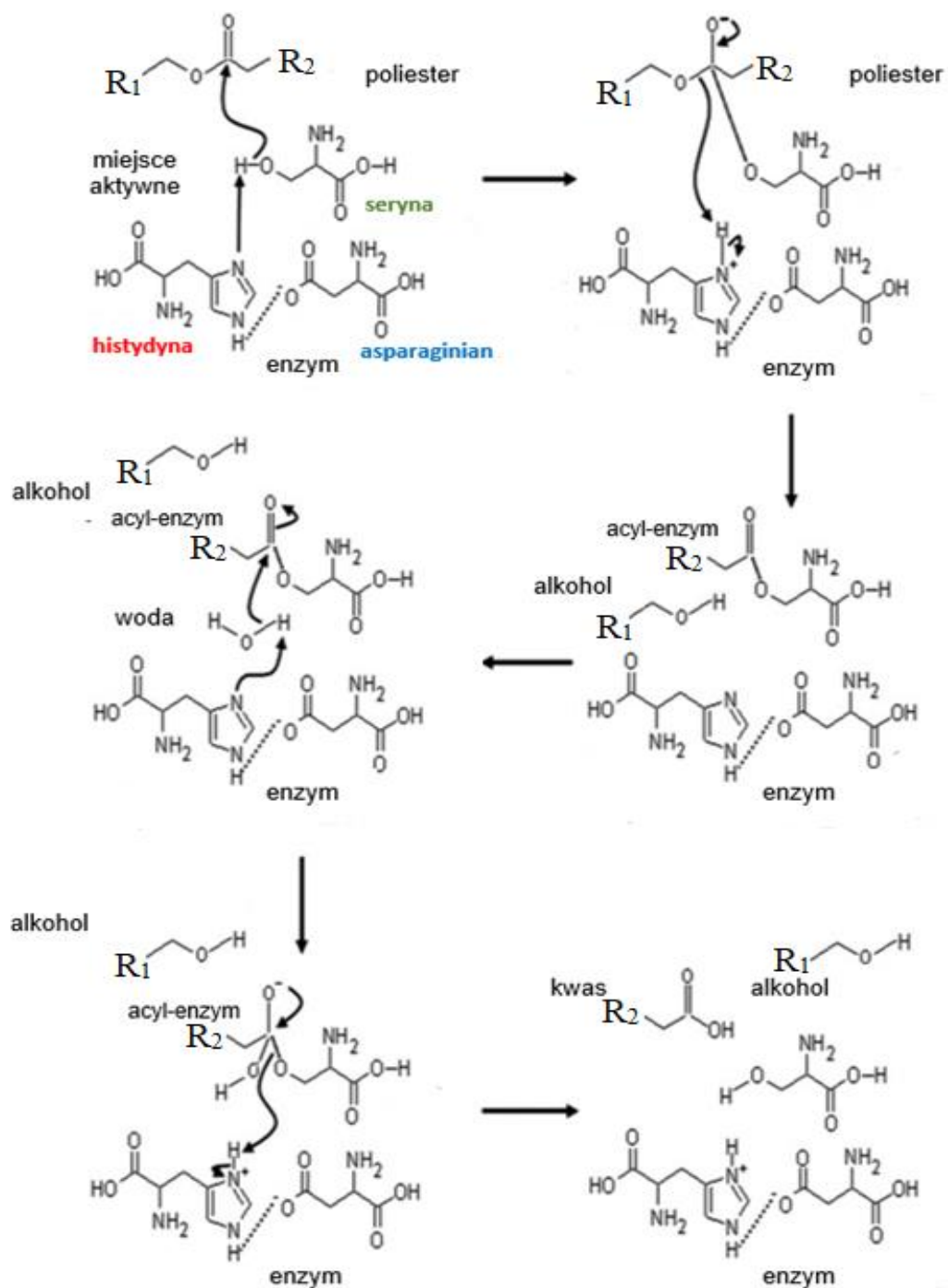
Warunki przeprowadzonej hydrolizy enzymatycznej i ogólny mechanizm reakcji katalizowanej lipazą przedstawiono schematycznie odpowiednio na Rys.2.4. i Rys.2.6. Zarejestrowane widma ATR-FTIR olejów i ich produktów po hydrolizie potwierdziły, że pełna hydroliza katalizowana lipazą z *T. lanuginosus*, prowadzona w temperaturze 50°C, jest możliwa do osiągnięcia już po 12h prowadzenia reakcji (Rys.2.5). W widmach czystych, niezhydrolizowanych olejów najbardziej charakterystyczne pasmo - typowe dla triglicerydów - było widoczne przy liczbie falowej w zakresie 1746-1744 cm^{-1} . Można je przypisać drganiom rozciągającym wiązań współtworzących grupę karbonylową. W zależności od czasu prowadzonej reakcji (3, 6, 12h, Rys.2.7.-2.8.), zarejestrowano mniej lub bardziej intensywne współwystępujące pasma przypisywane również drganiom rozciągającym C=O, z tą różnicą, że z maksimum absorpcyjnym przy zdecydowanie innej liczbie falowej tj. 1711-1708 cm^{-1} . Opisane wyżej pasma pochodzą od innych związków zawierających grupę karbonylową tzn. nasyconych bądź nienasyconych czystych kwasów tłuszczowych.



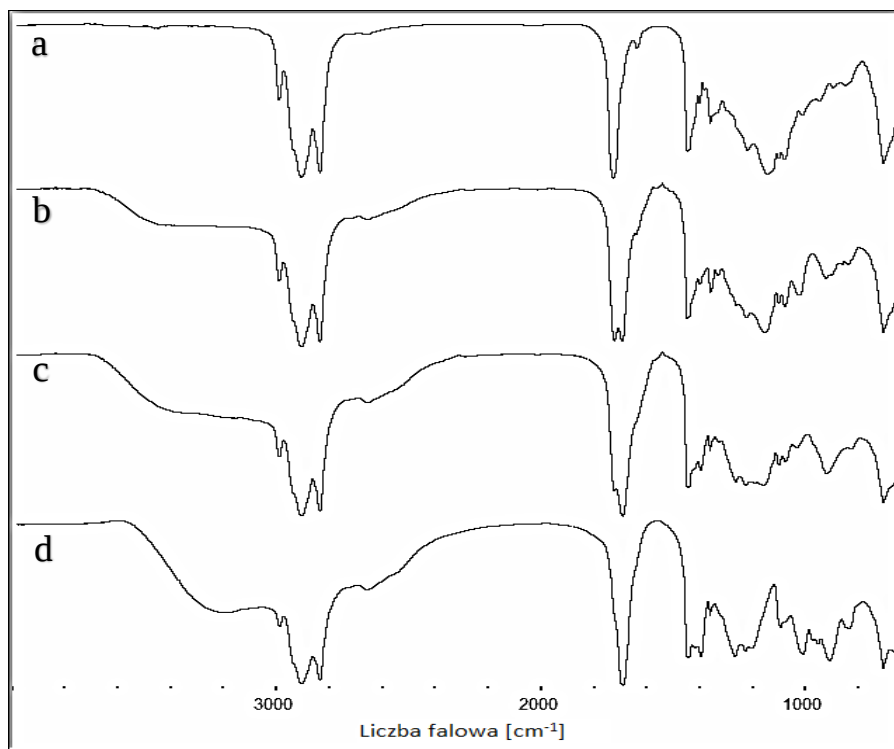
Rys.2.4. Schemat hydrolizy enzymatycznej triacyloglicerolu



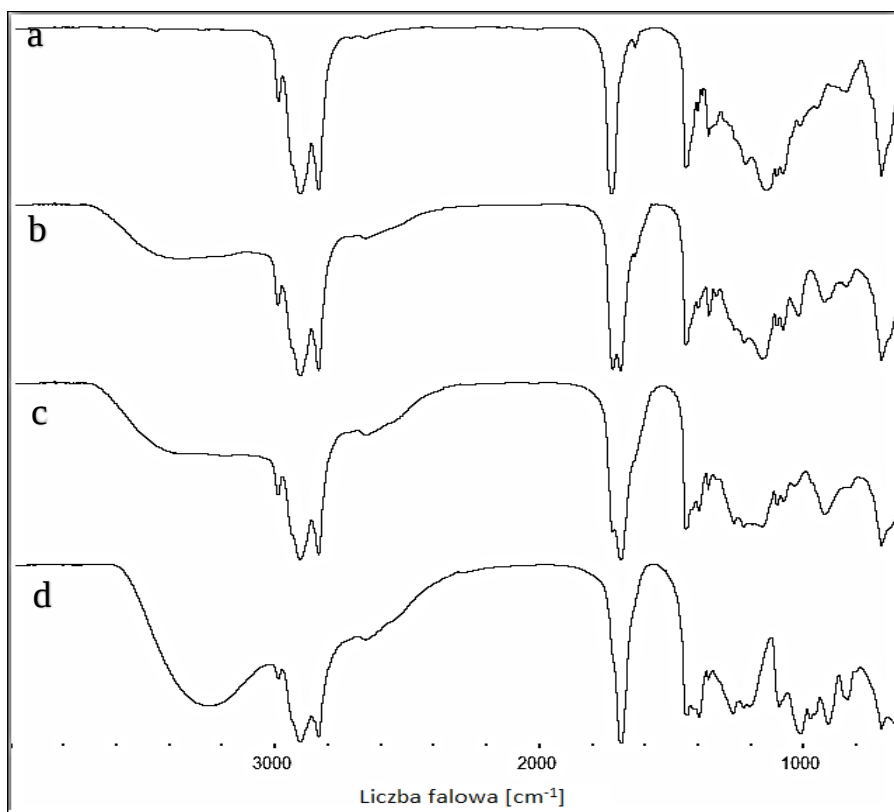
Rys.2.5. Otrzymane hydrolizaty olejów roślinnych (po 12h) i rozdzielanie mieszaniny kwasów tłuszczowych od produktów ubocznych



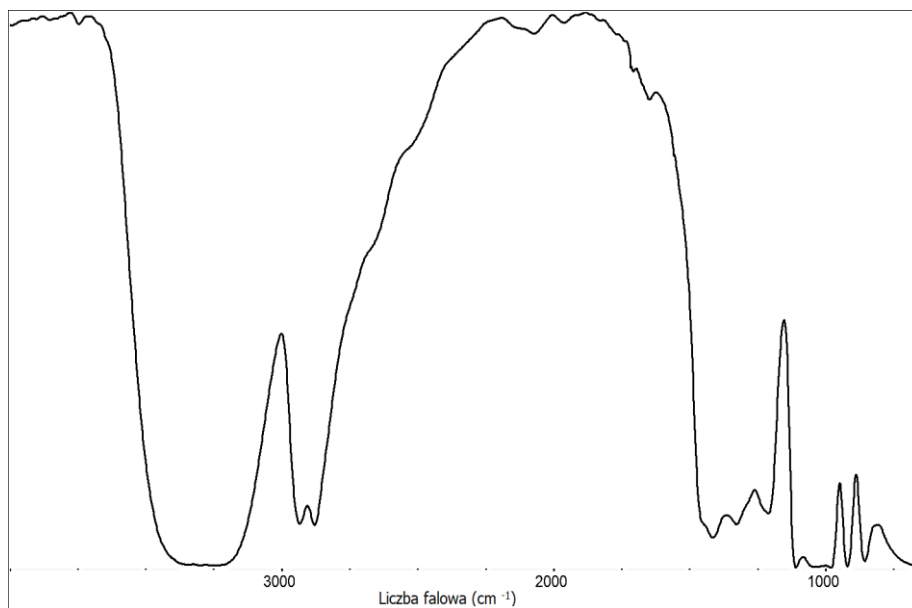
Rys.2.6. Mechanizm enzymatycznej hydrolizy estrów (zmodyfikowany; Lucas i wsp., 2008)



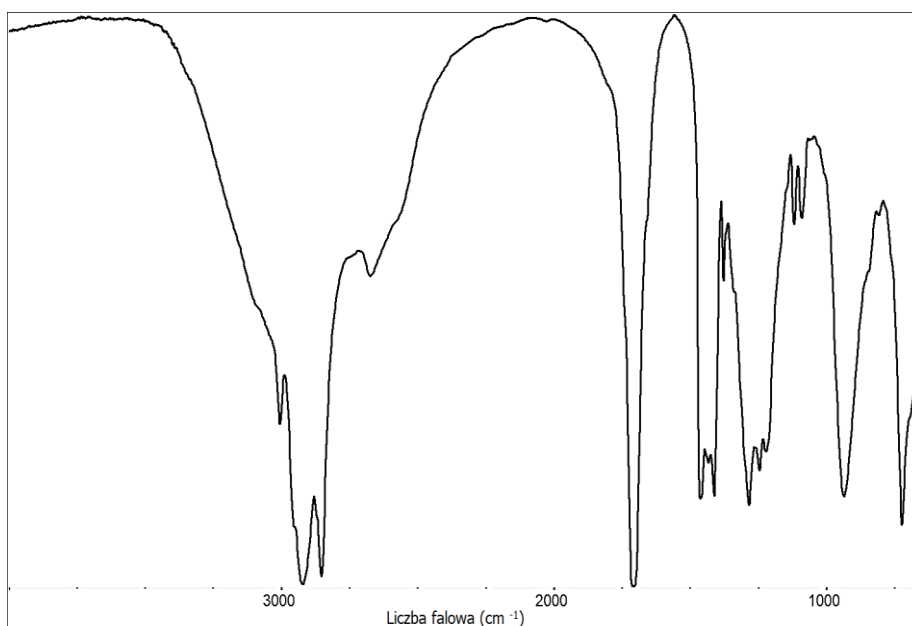
Rys.2.7. Widma ATR-FTIR a) oleju rzepakowego oraz jego hydrolizatów: b) po 3h, c) po 6h, d) po 12h hydrolizy enzymatycznej



Rys.2.8. Widma ATR-FTIR a) wysokooleinowego oleju słonecznikowego oraz jego hydrolizatów: b) po 3h, c) po 6h, d) po 12h hydrolizy enzymatycznej



Rys.2.9. Widmo ATR-FTIR czystego glicerolu



Rys.2.10. Widmo ATR-FTIR czystego kwasu oleinowego

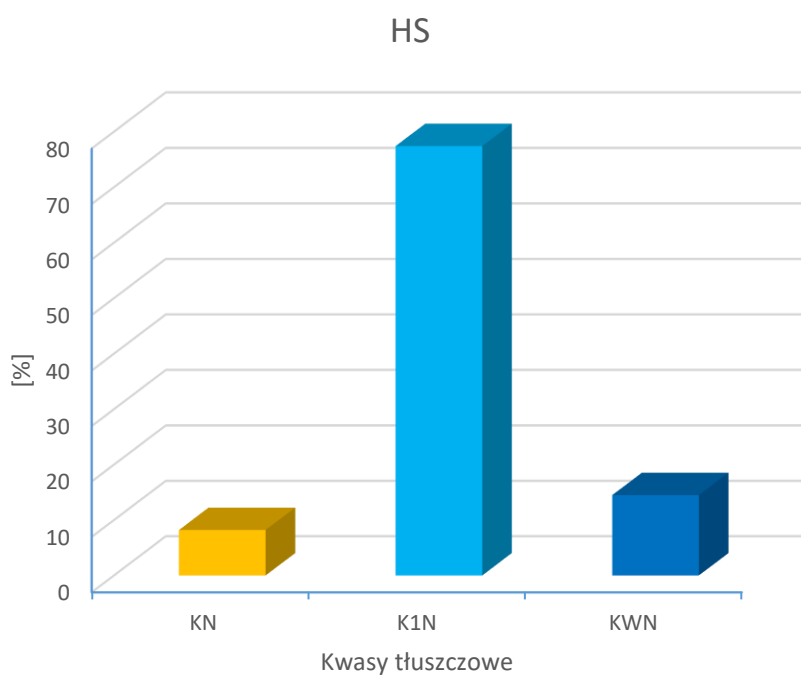
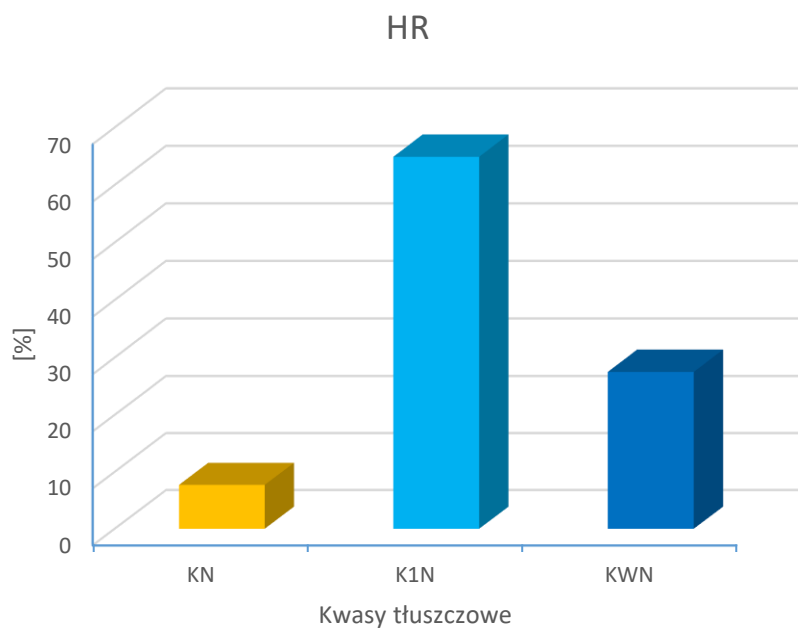
Występowanie tylko jednego pasma karbonylowego czystego kwasu w widmach hydrolizatów po 12h prowadzonej reakcji, a także obecność szerokiego pasma przy ok. 3300 cm^{-1} pochodzącego od drgań rozciągających grup hydroksylowych glicerolu (Rys.2.9.), jako produktu ubocznego hydrolizy, dało podstawy do zakończenia hydrolizy. Inne silne pasma, które zarejestrowano w widmach, występujące przy liczbach falowych w zakresie $3006\text{--}3004\text{ cm}^{-1}$ (drgania rozciągające $\text{C}=\text{C}$) oraz przy 2922 i 2853 cm^{-1} (drgania rozciągające wiązań

C-H, związków alifatycznych), są charakterystyczne zarówno dla czystych wyższych kwasów tłuszczowych (Rys.2.10.) jak również ich estrów (Spectral Database for Organic Compounds, SDBS, 2019).

O ile analiza widm ATR-FTIR umożliwiła wstępną ocenę i identyfikację produktów hydrolizy, o tyle analiza GC-FID pozwoliła na określenie składu jakościowego i ilościowego tych produktów (Tab.2.1.).

Tab.2.1. Skład jakościowy i ilościowy hydrolizatów otrzymanych w wyniku hydrolizy oleju rzepakowego (HR) i wysokooleinowego oleju słonecznikowego (HS)

Nazwa kwasu tłuszczowego (zwyczajowa)	Wzór półstrukturalny kwasu	Symbol kwasu	Zawartość kwasów tł. [% m/m]	
			HR	HS
laurynowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	C12:0	0,1	0,1
mirystynowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	C14:0	0,1	0,1
palmitynowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	C16:0	4,6	4,5
oleopalmityn.	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	C16:1	0,3	0,3
margarynowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{COOH}$	C17:0	0,1	0,1
elaidynowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	C17:1	0,1	0,1
stearynowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	C18:0	1,8	2,2
trans oleinowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	C18:1 trans	0,1	0,1
cis9 oleinowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	C18:1 cis9	58,7	74,0
cis11 oleinowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	C18:1 cis11	3,2	2,0
trans linolowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	C18:2 trans	0,1	0,1
linolowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	C18:2	18,5	10,8
trans linolenowy	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	C18:3 trans	0,2	0,2
linolenowy	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	C18:3	8,7	3,4
arachidowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	C20:0	0,6	0,4
eikozenowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	C20:1	1,7	0,7
behenowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	C22:0	0,3	0,6
erukowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}\text{COOH}$	C22:1	0,7	0,1
lignocerynowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	C24:0	0,1	0,2
nerwonowy	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{13}\text{COOH}$	C24:1	0,1	0,1



Rys.2.11. Udział procentowy kwasów nasyconych (KN), jednonienasyconych (K1N) i wielonienasyconych (KWN) w mieszaninach po hydrolizie oleju rzepakowego (HR) i wysokooleinowego oleju słonecznikowego (HS)

Otrzymane wyniki pozwoliły na niezwykle precyzyjne ustalenie składu otrzymanych hydrolizatów olejów roślinnych. Były to mieszaniny, które składały się w zdecydowanej większości z wolnych kwasów tłuszczowych: nasyconych (7,7–8,2 % m/m) i nienasyconych, zarówno jednonienasyconych (64,9–77,4 % m/m) jak i wielonienasyconych (14,5–27,5% m/m).

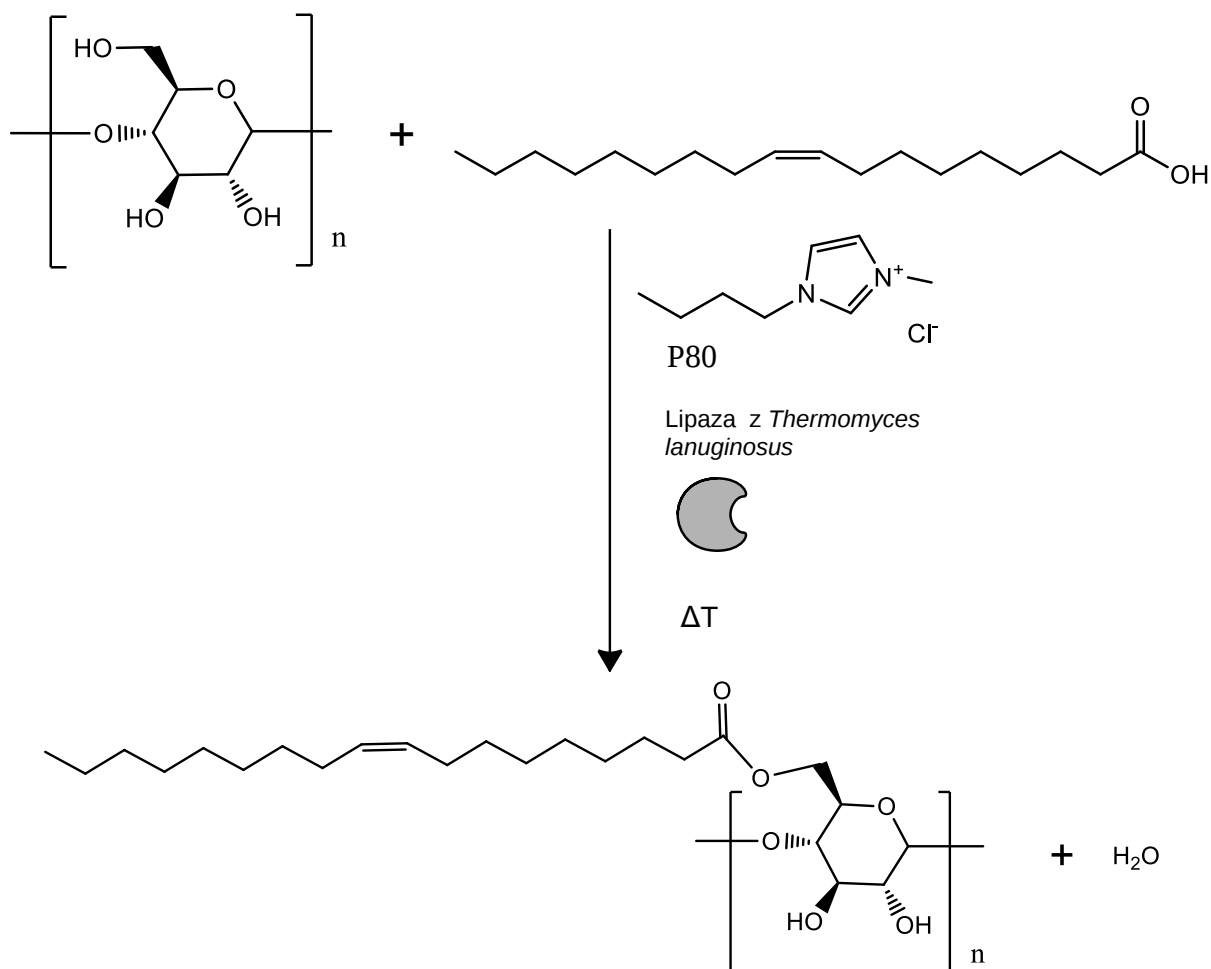
Wyniki te potwierdziły znaczną przewagę ilościową kwasów nienasyconych nad nasyconymi (Rys.2.11.). Ponadto hydrolizat oleju rzepakowego składał się głównie z kwasu oleinowego (18:1; 61,9%), kwasu linolowego (18:2; 18,5%), kwasu linolenowego (18:3; 8,7%), kwasu palmitynowego (16:0; 4,6%) i kwasu stearynowego (18:0; 1,8%). Druga z analizowanych mieszanin, czyli hydrolizat wysokooleinowego oleju słonecznikowego charakteryzował się nieco odmienną zawartością kwasów tłuszczowych, szczególnie w odniesieniu do kwasów nienasyconych. Skład i udział procentowy przedstawiał się następująco: kwas oleinowy (18:1; 76%), kwas linolowy (18:2; 10,8%), kwas linolenowy (18:3; 3,4%), kwas palmitynowy (16:0; 4,5%) i kwas stearynowy (18:0; 1,2 %).

2.4. Stopień podstawienia

2.4.1. Wyniki uzyskane na podstawie metody miareczkowej

Dla reakcji prowadzonych przy stosunkach molowych 1:1 i 1:2 (jednostka anhydroglukozowa skrobi : kwas oleinowy; AGU:KO) metoda wolumetryczna i analiza elementarna, stosowane do wyznaczenia stopnia podstawienia, wykluczyły możliwość powstania hydrofobowych estrów skrobi z wyższymi kwasami tłuszczowymi. Wyznaczony z użyciem obydwu metod DS wyniósł poniżej 0,01. Także zarejestrowane widma FT-IR praktycznie wykluczyły możliwość zajścia reakcji estryfikacji. Pierwsze istotne zmiany w strukturze skrobi zaobserwowano przy stosunku molowym AGU do KO równym 1:3 i to niezależnie od stosowanej metody prowadzenia reakcji tj. w sposób jednoetapowy (bezpośredni) lub dwuetapowy (pośredni).

Tak jak wspomniano na wstępie, reakcjami modelowymi w pracy były reakcje prowadzone z użyciem czystego kwasu oleinowego. Początkowo estryfikowano skrobię częściowo skleikowaną w ILs (10% kleik; Tab.2.2.). W pierwszej fazie badań syntezy prowadzono w zakresie temperatur 60-80°C. Nie stosowano temperatur wyższych z uwagi na ryzyko denaturacji białek enzymatycznych lipazy, a temperatur niższych ze względu na fakt, że temperatura topnienia chlorku imidazoliowego mieści się w granicach od 60 do 70°C. Przy temperaturze poniżej 60°C dochodzi do jego rekrystalizacji i prowadzenie reakcji nie jest możliwe. Wąski zakres temperatur, w którym można było prowadzić reakcje pozwolił na uzyskanie tylko niskopodstawionych estrów skrobiowych (Tab.2.2.).



Rys.2.12. Schemat katalizowanej lipazą estryfikacji skrobi w środowisku cieczy jonowej i polisorbatu P80

Estry o DS poniżej 0,05 to pochodne skrobi o na tyle słabych właściwościach hydrofobowych, że ze względu na główny cel pracy nie zostały uwzględnione w dalszych badaniach doświadczalnych. Najwyższy stopień podstawienia oznaczono dla reakcji prowadzonej w 60°C przez 4h i wyniósł on 0,22 i 0,20, odpowiednio w przypadku zastosowania metody bezpośredniej i pośredniej (Tab.2.2.; Tab.2.3). Wraz ze wzrostem temperatury i wydłużaniem czasu estryfikacji enzymatycznej osiągnano coraz niższy stopień podstawienia produktów. Można to tłumaczyć tym, że wzrost temperatury powodował powolną inaktywację enzymu, a im dłuższy był czas modyfikacji tym pojawiała się więcej wody w środowisku reakcyjnym. W konsekwencji mogło dojść do przesunięcia równowagi reakcji w kierunku hydrolizy kosztem reakcji syntezy estrów skrobiowych (Eckstein i wsp., 2002; Fernandes i wsp., 2004; Villeneuve i wsp., 2000) .

Tab.2.2. Wartości DS dla estryfikacji kwasem oleinowym skrobi częściowo skleikowanej (metoda bezpośrednia)

Temperatura [°C]	Czas [h]			
	2	4	6	8
60	-	0,22±0,01	0,19±0,01	0,15±0,03
70	-	0,21±0,01	0,18±0,01	0,14±0,02
80	-	0,14±0,02	0,11±0,02	0,09±0,02

Tab.2.3. Wartości DS dla estryfikacji kwasem oleinowym skrobi częściowo skleikowanej (metoda pośrednia)

Temperatura [°C]	Czas [h]			
	2	4	6	8
60	-	0,20±0,01	0,17±0,03	0,13±0,04
70	-	0,18±0,01	0,13±0,02	0,13±0,02
80	-	0,13±0,01	0,11±0,02	0,07±0,03

W następnym kroku przeprowadzono reakcje poprzedzone wydajniejszym sposobem kleikowania (pod zmniejszonym ciśnieniem) w celu porównania czy wzrost stężenia substratu poddawanego reakcji substytucji spowoduje istotne zmiany w odniesieniu do stopnia podstawienia i wydajności reakcji. W tym przypadku całkowite skleikowanie skrobi pozwoliło na osiągnięcie nieco wyższych stopni podstawienia estrów skrobiowych. Najbardziej efektywnymi warunkami były, tak jak w przypadku poprzednich reakcji – temperatura 60°C i czas 4h. Poza tym utrzymała się tendencja zmniejszenia DS wraz ze wzrostem temperatury i czasu modyfikacji (Tab.2.4.; Tab.2.5.).

Tab.2.4. Wartości DS dla estryfikacji kwasem oleinowym skrobi całkowicie skleikowanej (metoda bezpośrednia)

Temperatura [°C]	Czas [h]			
	2	4	6	8
60	0,05±0,02	0,35±0,02	0,22±0,03	0,15±0,02
70	-	0,32±0,04	0,20±0,02	0,13±0,01
80	-	0,24±0,02	0,16±0,02	0,11±0,02

Tab.2.5. Wartości DS dla estryfikacji kwasem oleinowym skrobi całkowicie skleikowanej (metoda pośrednia)

Temperatura [°C]	Czas [h]			
	2	4	6	8
60	0,03±0,02	0,30±0,02	0,19±0,02	0,16±0,02
70	-	0,27±0,03	0,16±0,02	0,13±0,03
80	-	0,19±0,03	0,13±0,02	0,10±0,02

Aby poprawić wydajność reakcji i zwiększyć DS, przez co tym samym otrzymać bardziej hydrofobowe pochodne skrobi zdecydowano się na użycie związku powierzchniowo czynnego, którym była mieszanina polioksyetylenowych pochodnych sorbitanu i kwasu oleinowego (Polisorbatu 80, monooleinianu polioksoetylenosorbitolu). Przebieg reakcji i wyniki estryfikacji enzymatycznej przy jego użyciu okazały się skuteczne. Dodatek niewielkich ilości Polisorbatu 80 zapobiegał przede wszystkim rekryształizacji IL poniżej 60°C, a tym samym umożliwił prowadzenie estryfikacji w temperaturach bardziej zbliżonych do optymalnych dla lipazy tj. 40-50°C (Maheshwari i wsp., 2000). Dodatkowo ze względu na swój amfifilowy charakter zwiększył dostępność reagentów, zwiększył kontakt fazy hydrofilowej z hydrofobową, a także był czynnikiem utrudniającym dostęp cieczy jonowej do centrum aktywnego enzymu i tym samym ograniczył jego dezaktywację jako efekt wymuszonych zmian konformacyjnych w obrębie triady katalitycznej (Fernandez-Lafuente, 2010). Wszystkie wyżej wskazane czynniki doprowadziły do otrzymania estrów skrobi i wyższych kwasów tłuszczowych o stopniu podstawienia nawet kilkukrotnie wyższym niż w przypadku reakcji prowadzonych bez środka powierzchniowo czynnego, zarówno w reakcji modelowej z czystym kwasem oleinowym jak i reakcji z wykorzystaniem zhydrolizowanych olejów (Tab.2.6. - 2.8.).

Podsumowując przebieg i rezultaty zastosowanych metod syntezy, można stwierdzić, że najbardziej efektywną metodą estryfikacji była metoda bezpośrednia prowadzona w obecności P80. Poza tym była to metoda prostsza i bardziej ekonomiczna. W metodzie pośredniej, konieczne jest użycie dodatkowej porcji cieczy jonowej jako medium reakcyjnego. Wynika to z faktu, że po wysuszeniu skleikowanej skrobi następuje spontaniczna retrogradacja, czyli ponowne, częściowe odtworzenie wewnątrz i międzycząsteczkowych wiązań wodorowych. Retrogradacja powoduje utrudniony dostęp do reaktywnych grup hydroksylowych i tym samym obniża podatność polialkoholu na modyfikację, co można było zaobserwować przy porównaniu wyznaczonych wartości DS.

Tab.2.6. Wartości DS dla estryfikacji kwasem oleinowym skrobi całkowicie skleikowanej - reakcje prowadzone z użyciem P80 (metoda bezpośrednia)

Temperatura [°C]	Czas [h]		
	4	6	8
40	0,18±0,03	0,16±0,01	0,15±0,04
50	1,51±0,04	1,42±0,06	1,36±0,02
60	0,74±0,05	0,67±0,04	0,62±0,03

Tab.2.7. Wartości DS dla estryfikacji hydrolizatem oleju rzepakowego skrobi całkowicie skleikowanej - reakcje prowadzone z użyciem P80 (metoda bezpośrednia)

Temperatura [°C]	Czas [h]		
	4	6	8
40	0,15±0,02	0,12±0,03	0,10±0,03
50	1,46±0,02	1,39±0,01	1,30±0,02
60	0,69±0,02	0,63±0,03	0,58±0,01

Tab.2.8. Wartości DS dla estryfikacji hydrolizatem wysokooleinowego oleju słonecznikowego skrobi całkowicie skleikowanej - reakcje prowadzone z użyciem P80 (metoda bezpośrednia)

Temperatura [°C]	Czas [h]		
	4	6	8
40	0,17±0,02	0,15±0,03	0,14±0,03
50	1,49±0,02	1,41±0,01	1,34±0,02
60	0,72±0,02	0,61±0,03	0,56±0,01

2.4.2. Wyniki uzyskane na podstawie analizy elementarnej

Dla reakcji, które przebiegały z największą wydajnością DS dodatkowo zweryfikowano z wykorzystaniem analizy elementarnej, porównując procentowe zawartości teoretyczne i eksperymentalne poszczególnych pierwiastków (Żarski i wsp. 2019). Wyniki zestawiono w tabeli, wraz z wyznaczonymi wzorami cząsteczkowymi i obliczoną wydajnością reakcji estryfikacji (Tab.2.9.). Porównując DS oznaczone przy wykorzystaniu dwóch różnych metod, można stwierdzić, że są one zbliżone (różnice oscylują w granicach $\pm 0,05$).

W dalszej części prezentacji wyników i ich dyskusji w celu usystematyzowania i łatwiejszej identyfikacji próbek przed i po modyfikacjach, wprowadzono następujące skróty:

SN- skrobia natywna

SKL – skrobia skleikowana

KO – kwas oleinowy

HR – hydrolizat oleju rzepakowego

HS – hydrolizat wysokooleinowego oleju słonecznikowego

B – metoda bezpośrednia estryfikacji

P – metoda pośrednia estryfikacji

P80 – dodatek surfaktanta (monoleinianu polioksyetylenosorbitolu)

Dodatkowo w oznaczeniach prób podano warunki reakcji, przykładowo:

KO 4/60/10/B – *ester skrobi otrzymany w reakcji modelowej z kwasem oleinowym w 60°C przez 4h, przy stężeniu 10% skrobi do IL, w metodzie bezpośredniej (jednoetapowej)*

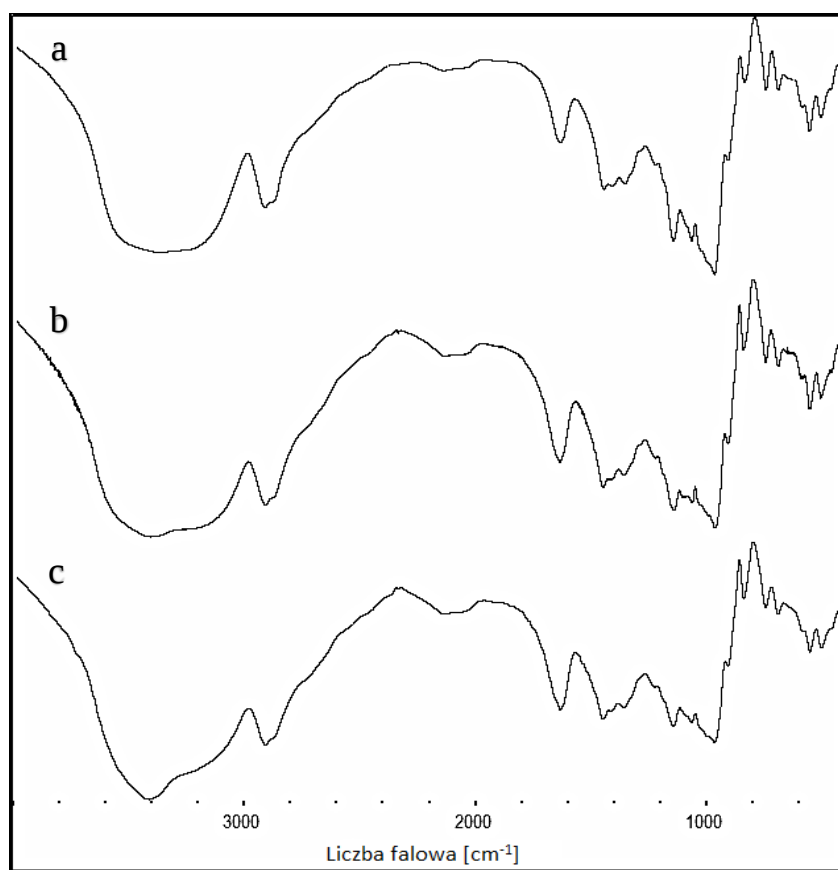
HR 4/50/30/B/P80 – *ester skrobi otrzymany w reakcji z hydrolizatem oleju rzepakowego w 50°C przez 4h, przy stężeniu 30% skrobi do IL, w metodzie bezpośredniej (jednoetapowej) z dodatkiem surfaktantu P80*

Tab.2.9. Wzory cząsteczkowe, stopnie podstawienia estrów skrobiowych obliczone z wyników analizy elementarnej oraz wydajność reakcji estryfikacji

Próbka	Wartości teoretyczne			Analiza elementarna			Wzór cząsteczkowy	DS	Wydajność [%]
	%C	%H	%O	%C	%H	%O			
Skrobia natywna	44,44	6,17	49,39	43,05	7,19	49,76	$C_6H_{10}O_5$	-	-
KO 4/60/10/B	53,63	7,64	38,73	53,82	7,41	38,77	$C_{9,4}H_{4116,1}O_{5,06}$	0,20	81
KO 4/60/10/P	52,55	7,46	39,99	52,30	6,70	41,00	$C_{8,77}H_{14,9}O_{5,04}$	0,17	79
KO 4/60/30/B	57,51	8,25	34,24	57,64	7,9	34,46	$C_{11,4}H_{19,7}O_{5,06}$	0,33	80
KO 4/60/30/P	56,72	8,13	35,15	56,85	8,15	35,07	$C_{11,3}H_{19,47}O_{5,04}$	0,30	77
KO 4/50/30/B/P80	70,84	10,38	18,78	70,91	9,99	19,10	$C_{25,4}H_{44,6}O_{5,03}$	1,48	85
HR 4/50/30/B/P80	70,65	10,34	19,01	70,62	10,24	19,14	$C_{24,8}H_{43,6}O_{5,00}$	1,44	88
HS 4/50/30/B/P80	70,97	10,39	18,64	70,94	10,01	19,05	$C_{25,41}H_{44,6}O_{5,00}$	1,50	86

2.5. Analiza widm FT-IR

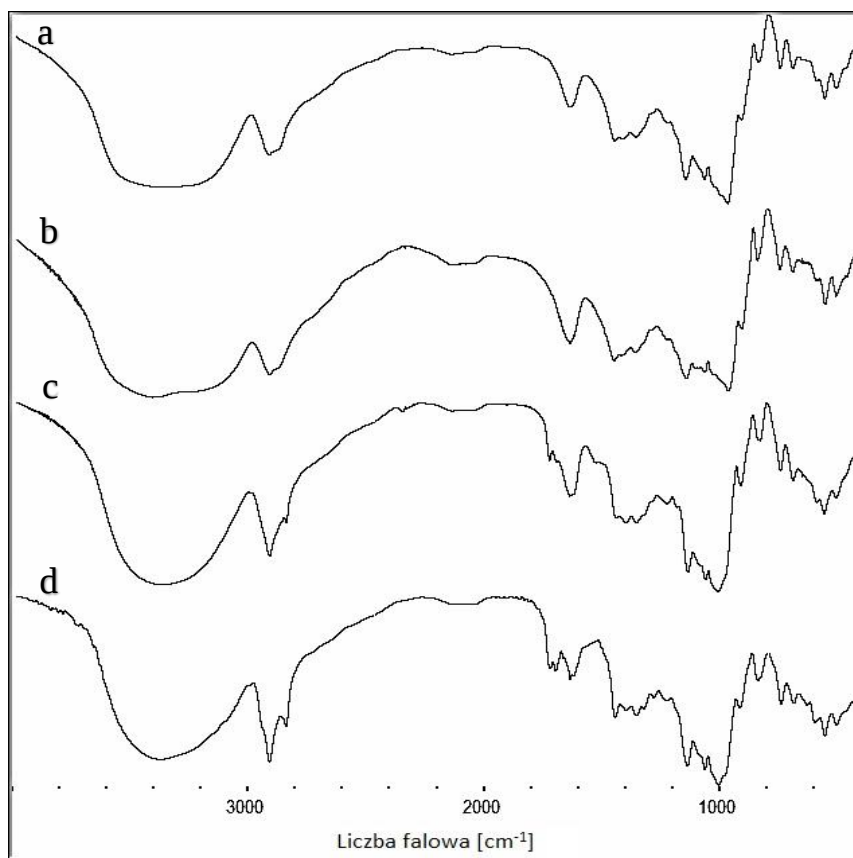
W celu potwierdzenia zajścia reakcji estryfikacji skrobi ziemniaczanej lub stwierdzenia jej braku zarejestrowano szereg widm w podczerwieni oraz przeprowadzono ich szczegółową interpretację mającą na celu znalezienie pasm typowych dla reakcji estryfikacji. Biorąc pod uwagę założone cele pracy zdecydowano się zaprezentować, zinterpretować i porównać tylko wybrane widma FT-IR. Porównano następujące widma: a) widma skrobi natywnej z widmami skrobi skleikowanej w cieczy jonowej przy różnych stężeniach polisacharydu i zastosowanych metodach kleikowania (Rys.2.13), b) widma skrobi niemodyfikowanej z widmami produktów o najniższym DS, otrzymanych w najmniej efektywnych reakcjach modelowych z użyciem czystego kwasu oleinowego (Rys.2.14.); c) widma skrobi niemodyfikowanej z widmami estrów o najwyższym DS, otrzymanych w reakcjach modelowych prowadzonych pomiędzy skrobią częściowo lub całkowicie skleikowaną z czystym kwasem oleinowym metodą bezpośrednią lub pośrednią, bez użycia P80 (Rys.2.15.-2.16.); d) widma skrobi niemodyfikowanej z widmami estrów o najwyższym DS, otrzymanych w reakcjach modelowych prowadzonych pomiędzy skrobią całkowicie skleikowaną z czystym kwasem oleinowym oraz w reakcjach z hydrolizatami olejów metodą bezpośrednią, z użyciem P80 (Rys.2.17.).



Rys.2.13. Widma FT-IR: skrobi natywnej (a), skrobi skleikowanej w cieczy jonowej w warunkach ciśnienia zredukowanego (b) i normalnego (c)

W widmach niemodyfikowanej skrobi ziemniaczanej można zaobserwować najbardziej charakterystyczne dla polisacharydów, szerokie pasmo w obszarze daktyloskopowym odpowiadające drganiom szkieletowym pierścienia glukopiranozowego przy liczbie falowej w zakresie $720\text{--}420\text{ cm}^{-1}$, szerokie pasmo składające się z trzech maksimów o różnej intensywności, przy odpowiednio 985 , 1081 i 1161 cm^{-1} , które można przypisać drganiom rozciągającym wiązań glikozydowych (C-O-C). Kolejnym charakterystycznym dla skrobi pasmem jest występujące przy liczbie falowej 1648 cm^{-1} przypisane drganiom zginającym wiązań H-O-H zaabsorbowanych przez polimer cząsteczek wody oraz przy 2929 cm^{-1} pochodzące od drgań rozciągających wiązania C-H. Równie dobrze widoczne w widmach skrobi natywnej jest bardzo szerokie pasmo w zakresie $3500\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$, z maksimum absorpcyjnym przy około 3420 cm^{-1} , odpowiadające drganiom rozciągającym między- i wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych grup hydroksylowych (Żarski i wsp., 2016; Żarski i wsp., 2019). Porównując widma skrobi przed i po skleikowaniu w cieczy jonowej, niezależnie od zastosowanej metody i warunków kleikowania, nie obserwowano istotnych zmian w ich wyglądzie (Lu i wsp., 2013). Oprócz zmian w intensywności, nie zarejestrowano

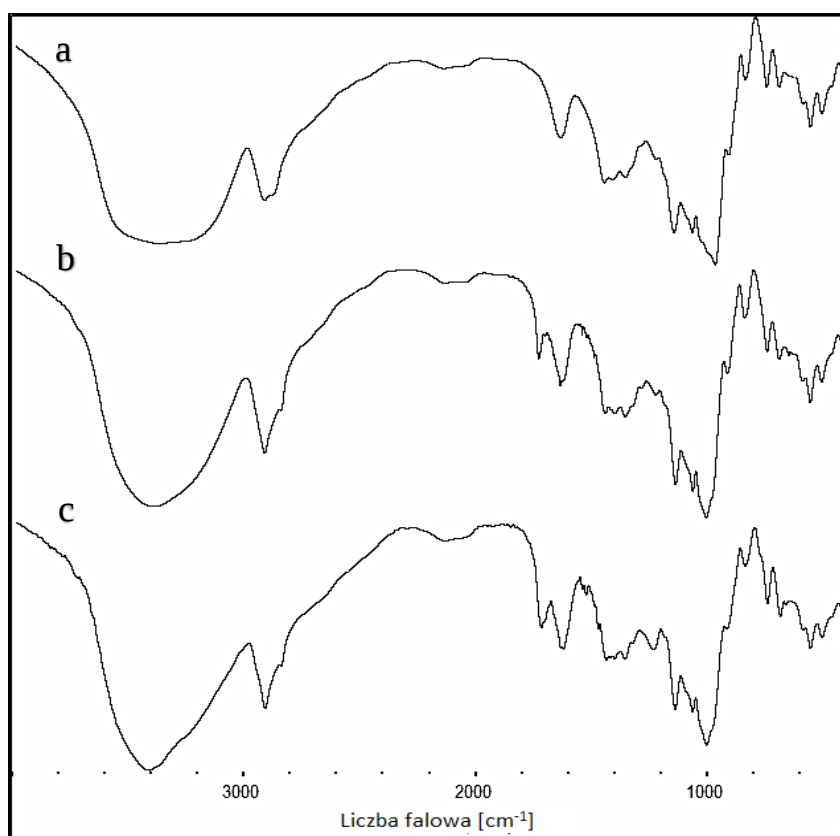
znaczących przesunięć pasm pochodzących zarówno od drgań rozciągających jak i zginających, a drobne różnice obserwowane w ich maksimach absorpcyjnych mieściły się w granicach błędu pomiarowego zastosowanej metody badawczej (uwzględniając rozdzielczość spektrometru FT-IR, czyli $\pm 4 \text{ cm}^{-1}$). W widmach produktów o najniższym DS, otrzymanych w reakcjach modelowych z czystym kwasem oleinowym nie zaobserwowano zmian świadczących o przeprowadzonej modyfikacji polisacharydu. Mogło to być spowodowane zbyt krótkim czasem (2h) prowadzenia reakcji (Rys.2.14.). Poza zmianą intensywności i nieznacznymi przesunięciami pasm pochodzących od drgań rozciągających wiązań C-H łańcuchów alifatycznych, dodatkową istotną zmianą jest pojawienie się bardzo słabych pasm przy 1732 cm^{-1} oraz 1710 cm^{-1} związanych z drganiami rozciągającymi wiązań w grupie karbonylowej C=O, odpowiednio od estru i nieprzereagowanego kwasu oleinowego, co dodatkowo potwierdza zbyt krótki czas prowadzenia reakcji estryfikacji.



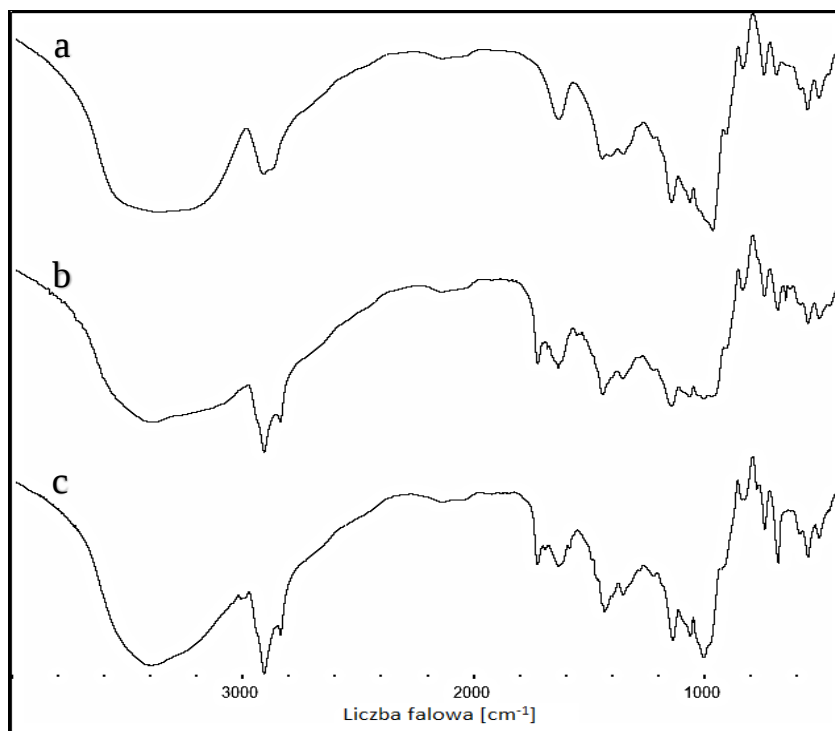
Rys.2.14. Widma FT-IR: skrobi niemodyfikowanej (a), całkowicie skleikowanej (b) i jej estrów o najniższym DS, otrzymanych w reakcjach modelowych, tj. KO 2/60/30/B (c) oraz KO 2/60/30/P (d)

Zwiększenie DS produktów estryfikacji znajdowało coraz bardziej wyraźne odzwierciedlenie w widmach FT-IR produktów, a w szczególności w intensywności pasm przypisywanych tworzącym się estrom. (Rys.2.15. – 2.17.). W widmach estrów o najwyższym

DS, zsyntezowanych niezależnie od użytego schematu estryfikacji, w reakcjach modelowych z czystym kwasem oraz w reakcjach z hydrolizatami, możemy zaobserwować występowanie nowych pasm charakterystycznych dla estrów oraz zmian w wyglądzie już istniejących, specyficznych dla reakcji podstawienia w polialkoholu jakim jest skrobia. Pasma charakterystyczne dla estrów to silne pasma pochodzące od drgań rozciągających C=O (grupy karbonylowej estrów) przy liczbach falowych w zakresie 1735-1733 cm^{-1} oraz od drgań rozciągających C-H (z długołańcuchowych estrów alifatycznych) przy liczbie falowej w zakresie 2855-2853 cm^{-1} (Fang i wsp., 2002; Mathew i Abraham, 2007). Co do zmian w wyglądzie pasm charakterystycznych dla reakcji podstawienia, porównując widma skrobi po estryfikacji, szerokie pasmo w zakresie 3500 - 3000 cm^{-1} , odpowiadające drganiom rozciągającym między- i wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych grup hydroksylowych, jest dużo mniej intensywne. Zmiany w intensywności tego pasma można tłumaczyć redukcją liczby wolnych, niepodstawionych grup hydroksylowych polisacharydu, co tym samym dodatkowo potwierdzałoby estryfikację skrobi (Żarski i wsp., 2016; Żarski i wsp., 2019) (Tab.2.10.).



Rys.2.15. Widma FT-IR: skrobi niemodyfikowanej (a), estrów o najwyższym DS otrzymanych w reakcjach modelowych prowadzonych ze skrobią częściowo skleikowaną bez użycia P80, tj. KO 4/60/10/B (b) oraz KO 4/60/10/P (c)

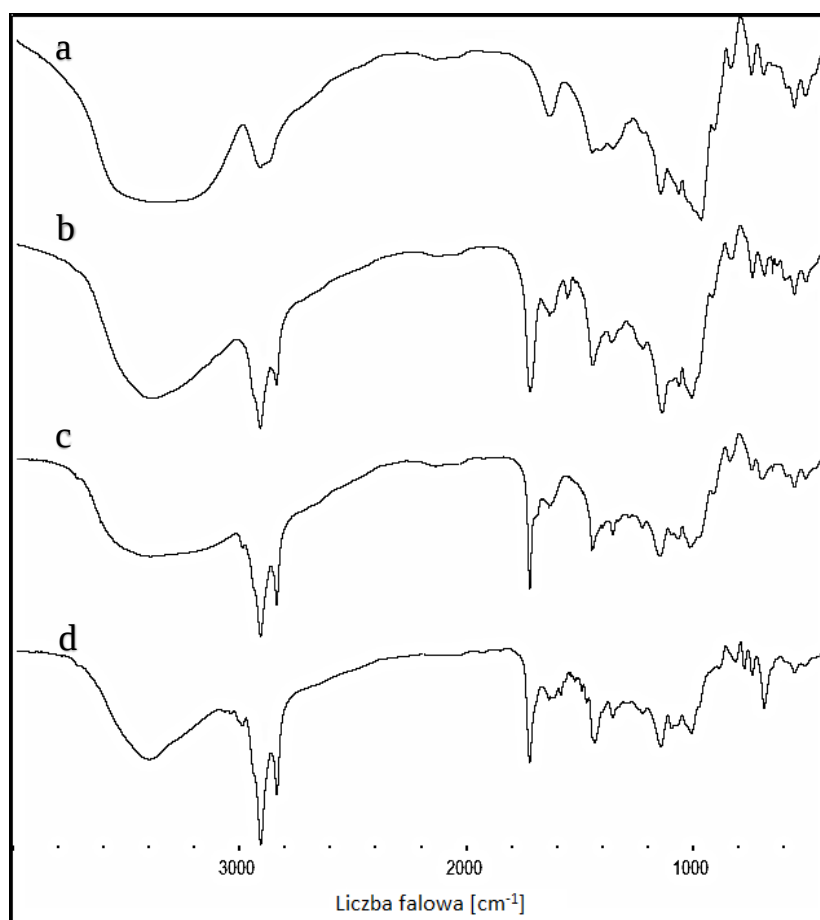


Rys.2.16. Widma FT-IR: skrobi niemodyfikowanej (a), estrów o najwyższym DS otrzymanych w reakcjach modelowych prowadzonych ze skrobią całkowicie skleikowaną bez użycia P80, tj. KO 4/60/30/B (b) oraz KO 4/60/30/P (c)

Tab. 2.10. Wybrane pasma (w cm^{-1}) wraz z przypisanymi typami drgań w widmach FT-IR skrobi natywnej i estrów skrobiowych

SN	KO 4/50/30/B	HS 4/50/30/B	HR 4/50/30/B	Typ drgania
3420	3419	3418	3422	ν (OH)
2929	2925	2925	2927	ν (C-H)
-	2855	2853	2854	ν (C-H)
-	1733	1735	1734	ν (C=O)
1648	1652	1650	1653	δ (OH)
1463	1463	1459	1465	δ (CH ₂)
1373	1374	1375	1374	δ (C-H)
1240	1245	1242	1243	ν (C-O)
1161	1165	1162	1164	ν (C-C), ν (C-O), δ (C-OH)
1081	1082	1082	1084	ν (C-O-C) w.gl
985	1025	1027	1023	ν (C-C), ν (CO), δ (C-OH)
929	930	929	931	δ (C-O-C) w.gl.
855	854	860	855	ν (C-O-C) w.gl.
765	761	760	763	ν (C-C)
720-420			szkieletowe pierścienia glukopiranozy	

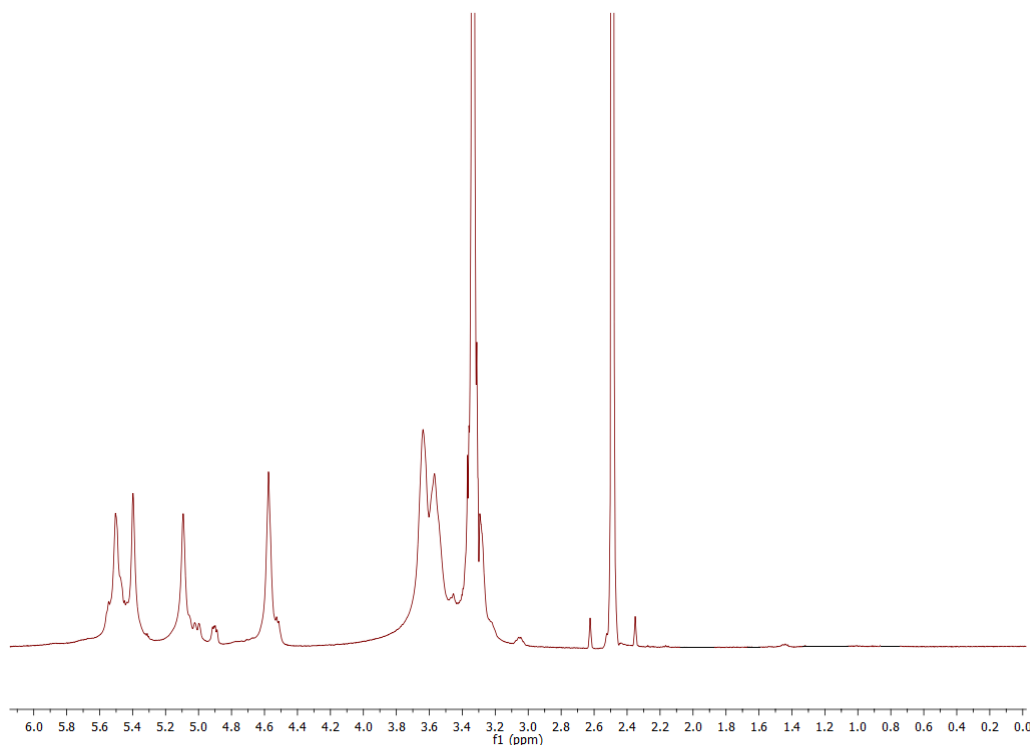
ν – drgania rozciągające; δ – drgania zginające (deformacyjne); w.gl. – wiązań glikozydowych



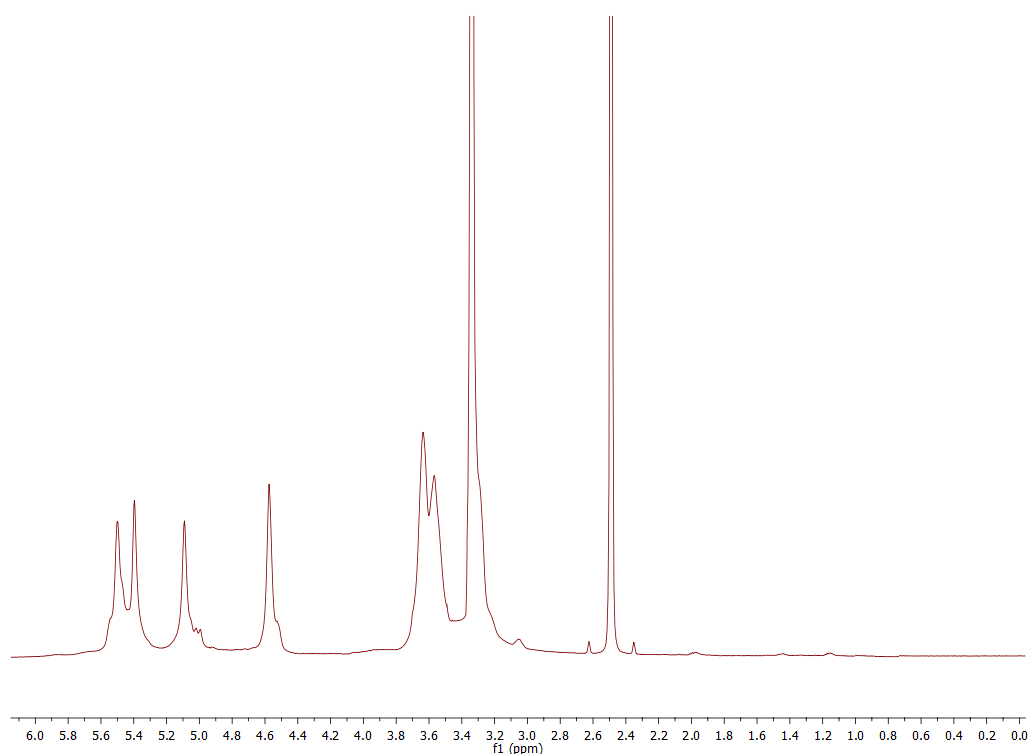
Rys.2.17. Widma FT-IR: skrobi niemodyfikowanej (a), estrów o najwyższym DS otrzymanych w reakcjach modelowych i w reakcjach z hydrolizatami prowadzonych ze skrobią całkowicie skleikowaną, z użyciem P80, tj. KO 4/50/30/B/P80 (b), KO 4/50/30/B/P80 (c), KO 4/50/30/B/P80 (d)

2.6. Analiza widm ^1H NMR

Analiza widm zarejestrowanych przy użyciu spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR pozwoliła na dalszą identyfikację chemiczną produktów estryfikacji skrobi. W celach porównawczych w pracy zestawiono tylko najbardziej istotne widma, tj. skrobi natywnej, skrobi skleikowanej w IL pod zmniejszonym ciśnieniem oraz jej estrów o najwyższym stopniu modyfikacji otrzymanych w metodzie bezpośredniej przy zastosowaniu różnych czynników estryfikujących. We wszystkich widmach można zaobserwować silny sygnał od użytego w metodzie rozpuszczalnika tj. deuterowanego dimetylosulfotlenku (DMSO- d_6) przy 2,5 ppm. Widmo protonowe skrobi niemodyfikowanej ilustruje najbardziej charakterystyczne przesunięcia chemiczne w zakresie 3,2– 5,6 ppm pochodzące od protonów pierścienia glukopiranozowego (Rys.2.18.). Poszczególne sygnały z tego zakresu odpowiadają określonym protonom AGU: przy 3,3 ppm H-C2; przy 3,65 ppm H-C3, a przy 3,55 ppm H-C5. Z kolei w zakresie 4,6–5,6 ppm stwierdzono przesunięcia protonów grup hydroksylowych skrobi (OH-C2, OH-C3, OH-C6) (Kapusniak i Siemion, 2007; Namazi i wsp., 2011). W widmie skrobi skleikowanej w chlorku 1-butylo-3-metyloimidazoliowym nie zarejestrowano żadnych nowych przesunięć chemicznych poza tymi, które przypisano skrobi natywnej (Rys.2.19.). Świadczy to o tym, że kleikowanie to proces fizyczny, podczas którego nie dochodzi do powstania nowego związku chemicznego.

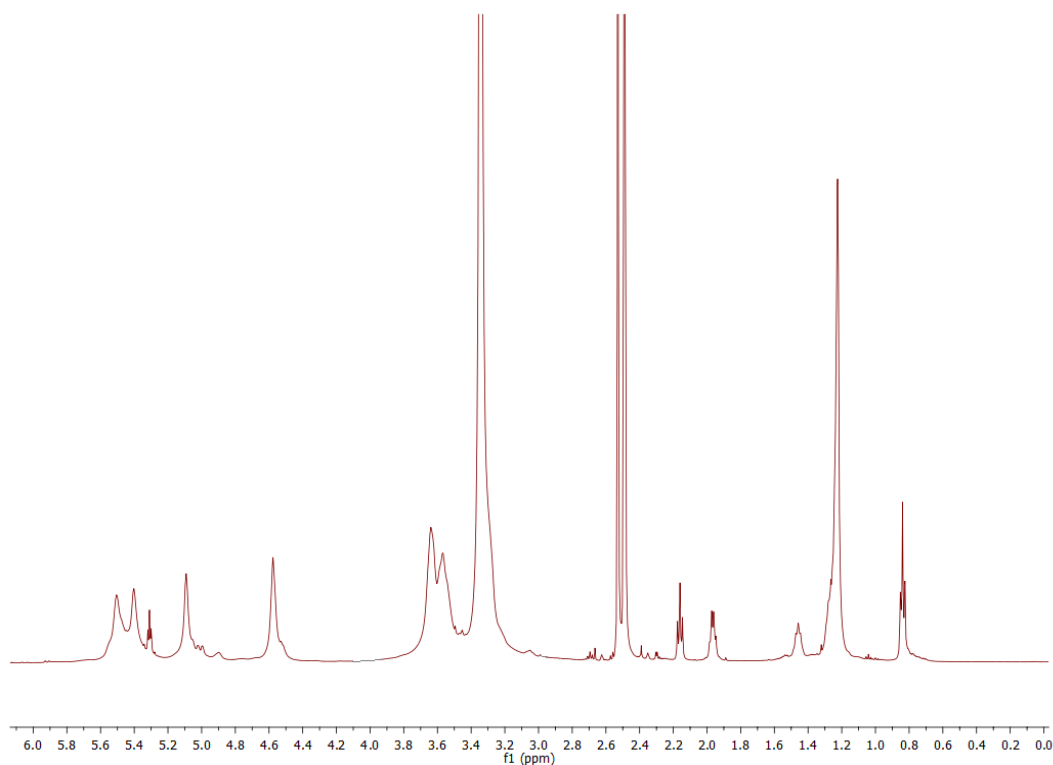


Rys.2.18. Widmo ^1H NMR skrobi natywnej



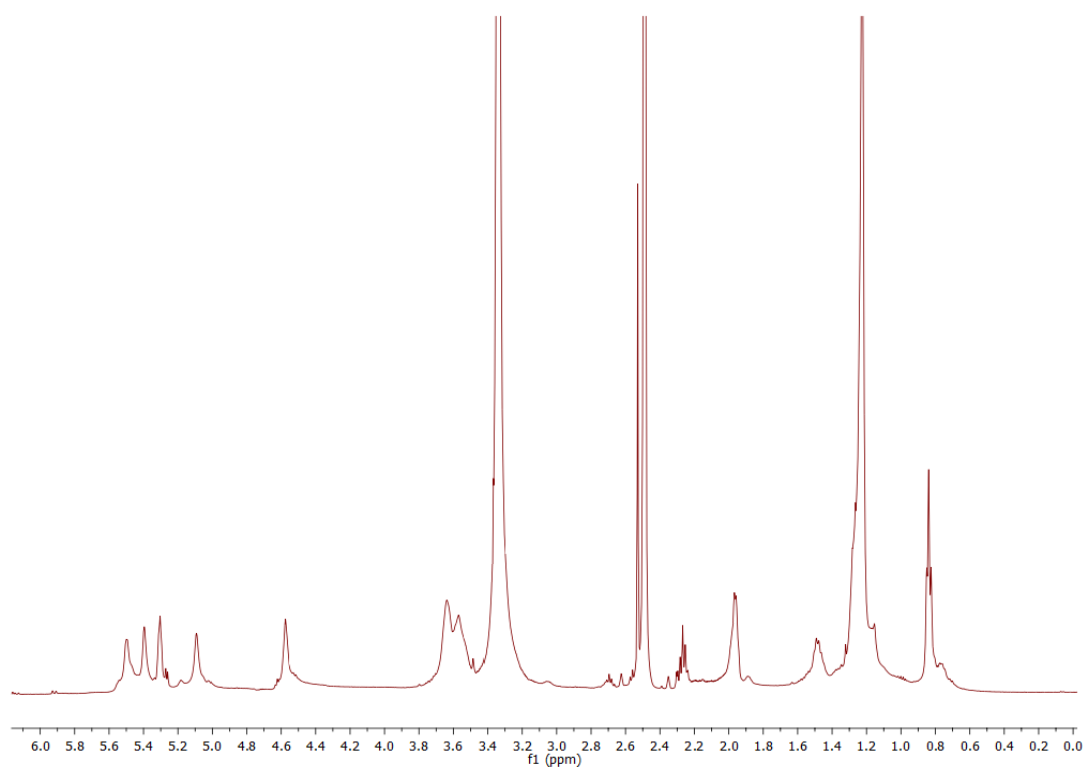
Rys.2.19. Widmo ^1H NMR skrobi całkowicie skleikowanej w IL

Porównując natomiast widma ^1H NMR skrobi natywnej oraz skleikowanej z widmami skrobi zestryfikowanej, można dostrzec istotne różnice w ich wyglądzie, w tym obecność całkiem nowych przesunięć chemicznych. Potwierdza to powodzenie przeprowadzonej estryfikacji biochemicznej polisacharydu. Zmiany w rezonansach protonowych jednostek anhydroglukozy wynikają z faktu substytucji w wolnych grupach hydroksylowych. Podczas estryfikacji atomy wodoru grup hydroksylowych natywnej skrobi ziemniaczanej zostały zastąpione grupą acylową (pochodząca z wyższych kwasów tłuszczowych jako czynników estryfikujących). Do nowo zarejestrowanych sygnałów chemicznych w widmach protonowych, a tym samym charakterystycznych dla estrów skrobi i wyższych kwasów tłuszczowych, szczególnie nienasyconych, można przypisać przesunięcia chemiczne z bardzo szerokiego zakresu spektralnego, bo od 0,8 aż do 5,5 ppm. Mowa tu o sygnałach chemicznych protonów grupy metylowej, poszczególnych grup metylenowych czy protonów związanych z atomami węgla współtworzącymi wiązanie podwójne w estrach nienasyconych (Luo i Zhou, 2012; Zarski i wsp., 2016). Widma estrów skrobi o najwyższym DS, otrzymanych w reakcji modelowej i z hydrolizatami, przedstawiono na rysunkach 2.20 - 2.22.

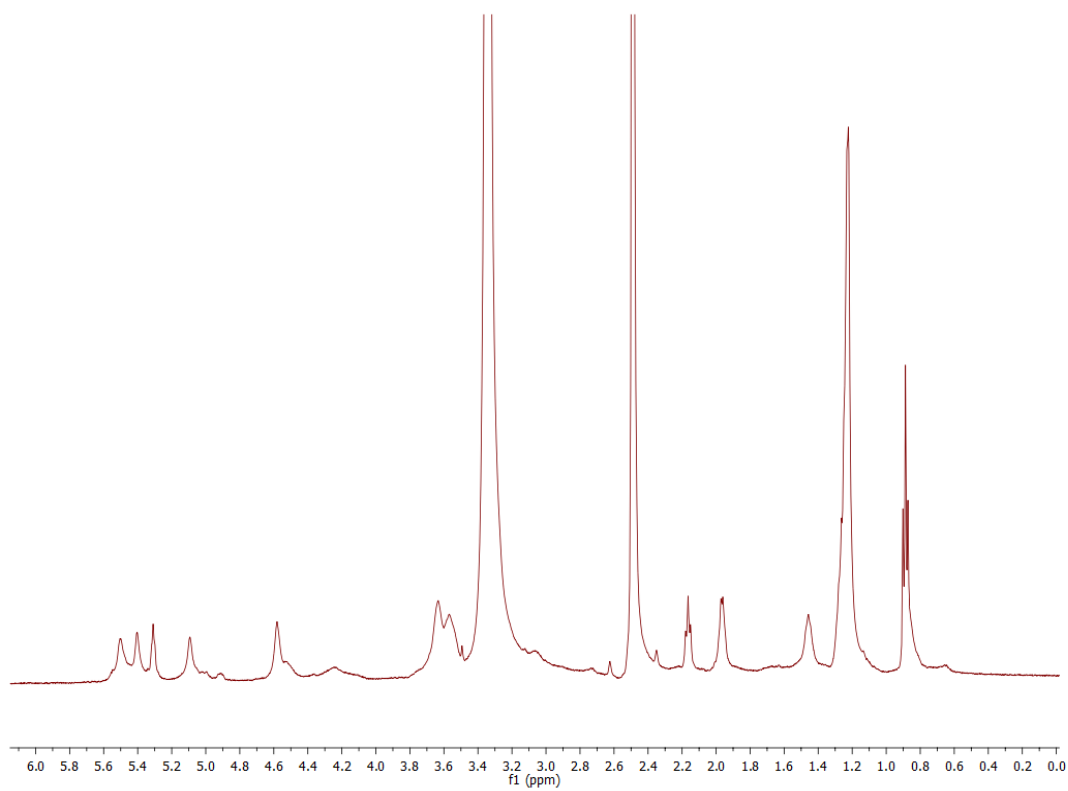


Rys.2.20. Widmo ^1H NMR estru skrobiowego KO 4/50/30/B

Tryplet w zakresie 0,8–0,9 ppm to sygnał trzech protonów terminalnej grupy metylowej w łańcuchu acylowym (t, 3H, C18). Przesunięcie chemiczne przy 2,3 ppm przypisano protonom grupy metylenowej, pierwszej od strony grupy karbonylowej w estrze (m, 2H, C2), a przy 1,63 ppm – od kolejnej, czyli drugiej grupy metylenowej w łańcuchu (m, 2H, C3). Kolejne z charakterystycznych sygnałów chemicznych dla tego typu związków można zaobserwować przy ok 1,95 ppm, 1,25 ppm oraz 5,3 ppm, a pochodzą one odpowiednio od protonów grup metylenowych położonych w sąsiedztwie wiązania podwójnego (m, 2H, C8; m, 2H, C11), pozostałych grup metylenowych w łańcuchu alifatycznym estru (m, 20H) oraz protonów związanych z atomami węgla współtworzącymi wiązanie podwójne w alifatycznym estrze nienasyconym (m, 2H, C9-C10). W widmach estrów zaobserwowano również zmniejszenie intensywności sygnałów chemicznych protonów grup hydroksylowych należących do skrobi (OH-C2, OH-C3, OH-C6), co potwierdzałoby, że część z nich uległa podstawieniu. W widmach estrów skrobi i kwasów tłuszczowych dodatkowo nie zarejestrowano przesunięcia chemicznego od protonu grupy karboksylowej przy 11 ppm (s, 1H, OH-C1) co dodatkowo może świadczyć o otrzymaniu estrów, a nie np. mieszanek z kwasami, gdyż podczas estryfikacji taki proton współtworzy cząsteczkę wody, stanowiącą produkt uboczny reakcji.



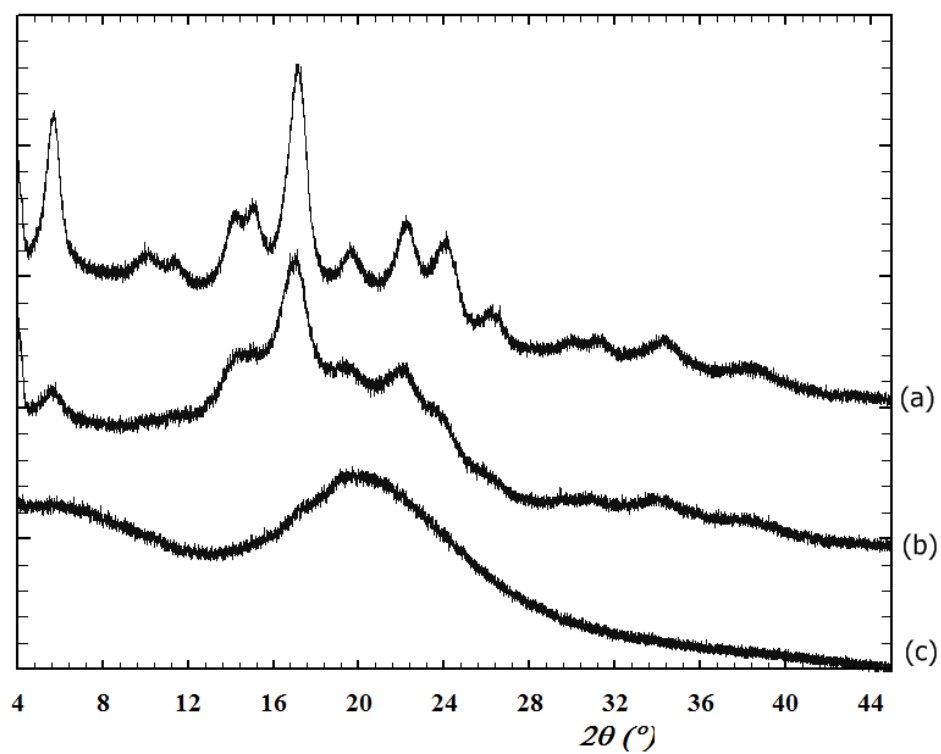
Rys.2.21. Widmo ^1H NMR estru skrobiowego HR 4/50/30/B



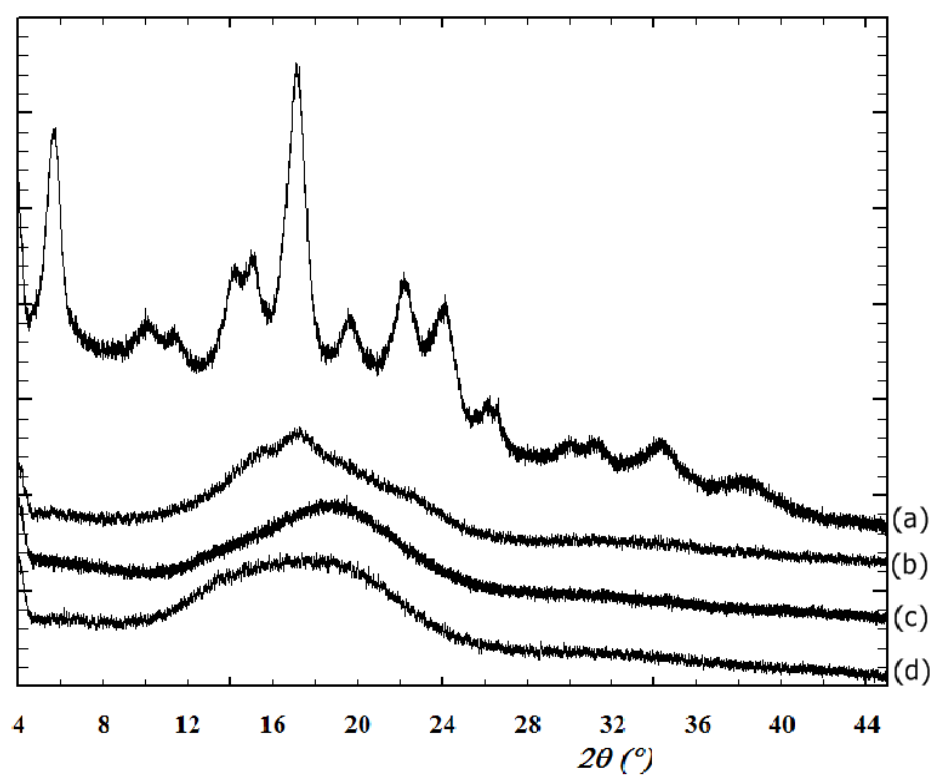
Rys.2.22. Widmo ^1H NMR estru skrobiowego HS 4/50/30/B

2.7. Analiza rentgenowska

W celu zbadania różnic w krystaliczności między skrobią niemodyfikowaną, skleikowaną w cieczy jonowej oraz modyfikowaną biochemicznie została przeprowadzona analiza dyfrakcji rentgenowskiej. Ogólny wygląd dyfraktogramu natywnej skrobi ziemniaczanej oraz rejestracja kilku silniejszych refleksów przy około $5,6^\circ$ i 17° (2θ) oraz słabszych przy około 15° , 20° , 22° , 24° (2θ), świadczy o budowie semikrystalicznej i typie krystalicznym B – charakterystycznym dla tej odmiany botanicznej skrobi (Mathew i Abraham, 2007; Zobel, 1988). Na dyfraktogramie skrobi tzw. wstępnie skleikowanej w chlorku 1-butylo-3-metyloimidazoliowym metodą standardową (w 90°C przez 1h przy ok. 1000 mbar) można zaobserwować pierwsze, choć stosunkowo niewielkie zmiany potwierdzające częściową utratę tej krystaliczności tj. redukcję intensywności lub całkowity zanik refleksów dyfrakcyjnych specyficznych dla formy natywnej. Obszar postaci krystalicznej skrobi po wstępnym skleikowaniu został nieznacznie zniszczony, co można tłumaczyć tym, że ciecz jonowa w zadanych warunkach częściowo zakłóciła wewnątrz- i międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w cząsteczkach skrobi, które są odpowiedzialne za wysoce uporządkowaną strukturę krystaliczną (Xu i wsp., 2004). Kleikowanie drugą z zastosowanych metod czyli w 60°C przez 30 min. w warunkach obniżonego ciśnienia – 20 mbar, okazało się sposobem zdecydowanie bardziej efektywnym. Dyfraktogram skrobi skleikowanej w tych warunkach wskazuje jednoznacznie na otrzymanie związku bezpostaciowego (Gao i wsp., 2012) (Rys.2.23). Takie same wyniki analizy rentgenowskiej uzyskano dla estrów o najwyższych stopniach podstawienia, niezależnie od metody ich syntezy i użytych czynników estryfikujących. Brak obecności jakichkolwiek wyraźnych refleksów dyfrakcyjnych, a tym samym obszarów krystalicznych dowodzi, że otrzymane produkty były związkami amorficznymi. Wynika to z faktu, że wiązania wodorowe odpowiedzialne za półkrystaliczność zostały rozerwane przez zastosowanie hydrofilowej cieczy jonowej. Ponadto podczas estryfikacji skrobi jej grupy hydroksylowe, które wcześniej współtworzyły te wiązania, zostały podstawione. Podczas estryfikacji reszty acylowe zastępują niektóre lub wszystkie grupy hydroksylowe w skrobi ziemniaczanej (w zależności od wielkości stopnia podstawienia), co skutkuje zmniejszeniem potencjału tworzenia wewnątrz i międzycząsteczkowych wiązań wodorowych, a tym samym destrukcją uporządkowania strukturalnego w kierunku amorficzności (Desalegn i wsp., 2014; Zhang i wsp., 2014).



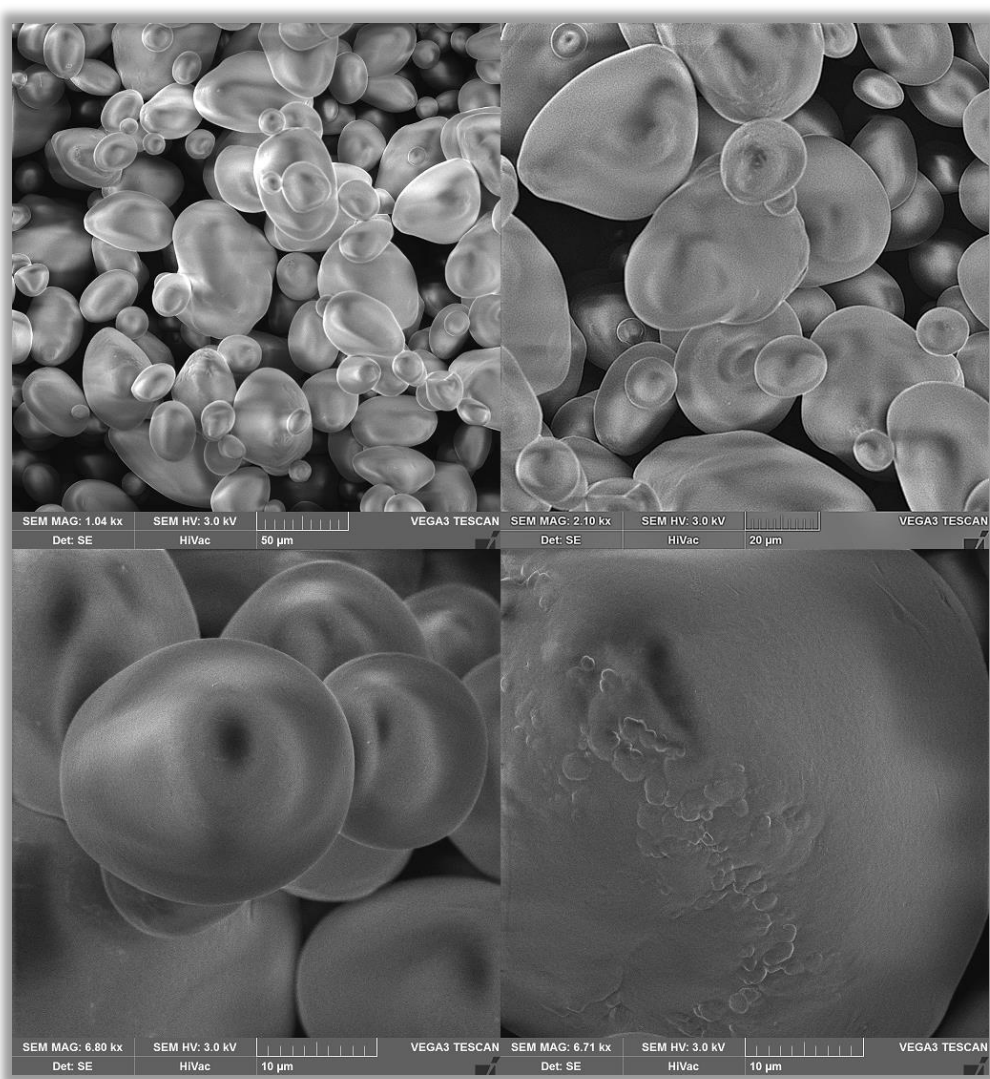
Rys.2.23. Dyfraktogramy skrobi natywnej (a), częściowo skleikowanej (b) i całkowicie skleikowanej (c)



Rys.2.24. Dyfraktogramy skrobi natywnej (a) i estrów skrobiowych o najwyższym DS, tj. KO 4/50/30/B (b), HR 4/50/30/B (c) i HS 4/50/30/B (d)

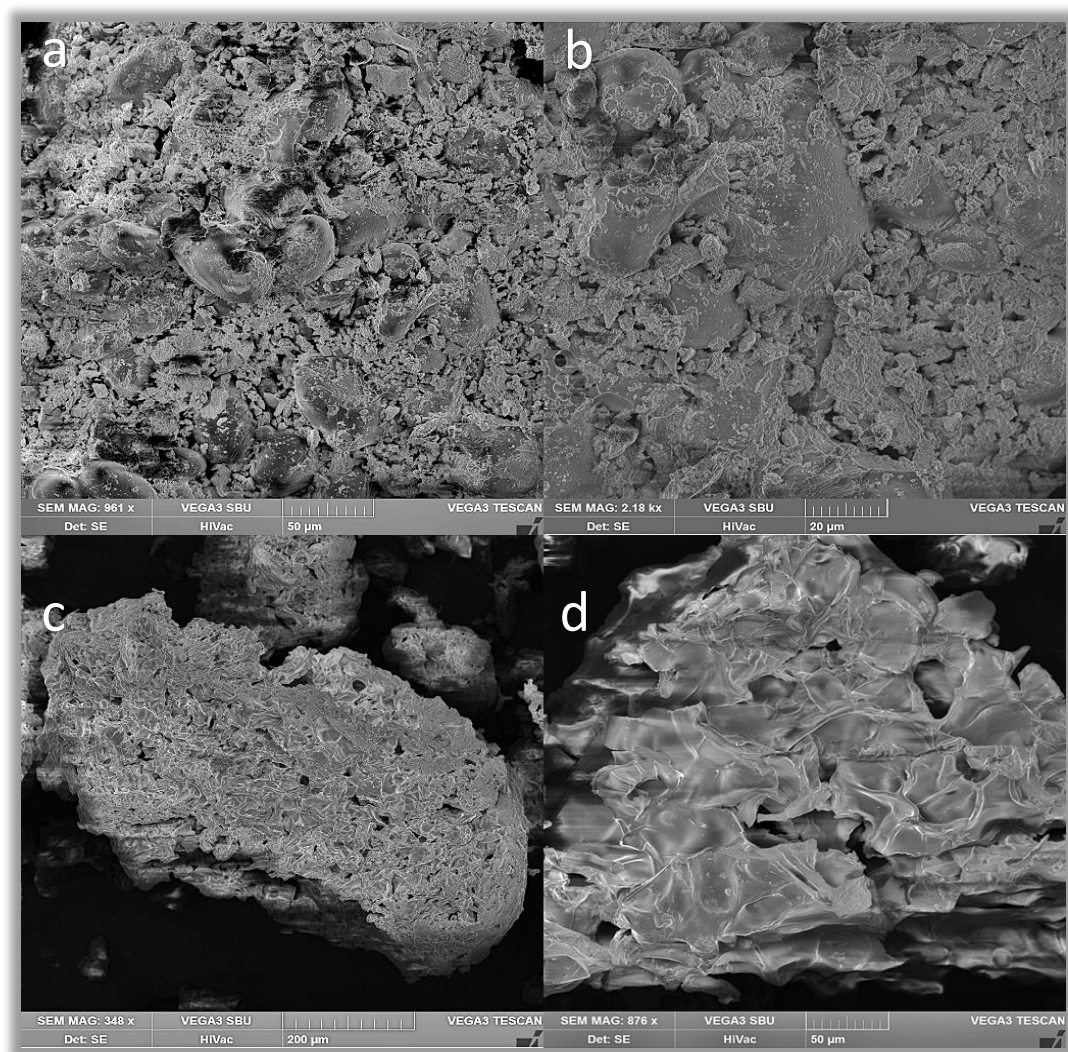
2.8. Analiza SEM

W celu zaobserwowania i opisanie ewentualnych zmian morfologicznych skrobi ziemniaczanej natywnej, częściowo i całkowicie skleikowanej oraz zmodyfikowanej biochemicznie poprzez estryfikację enzymatyczną, zastosowano skaningową mikroskopię elektronową. Dodatkowo w celach porównawczych zobrazowano przy jej użyciu powierzchnię ziaren skrobiowych w przypadku niepowodzenia estryfikacji i otrzymania mieszanin fizycznych (adduktów) skrobi z kwasami tłuszczowymi (Rys.2.27.). Co do samych ziaren niemodyfikowanej skrobi ziemniaczanej, to zgodnie z tym co przedstawiono na rysunku 2.25, ziarna miały w większości przypadków owalny lub kulisty kształt z wyraźnymi krawędziami i bardzo gładką powierzchnią, czyli kształt wysoce zdefiniowany (Molenda i wsp., 2006). Wielkość większości ziarenek skrobiowych była także różna i mieściła się w szerokim przedziale od 10 do 70 μm .

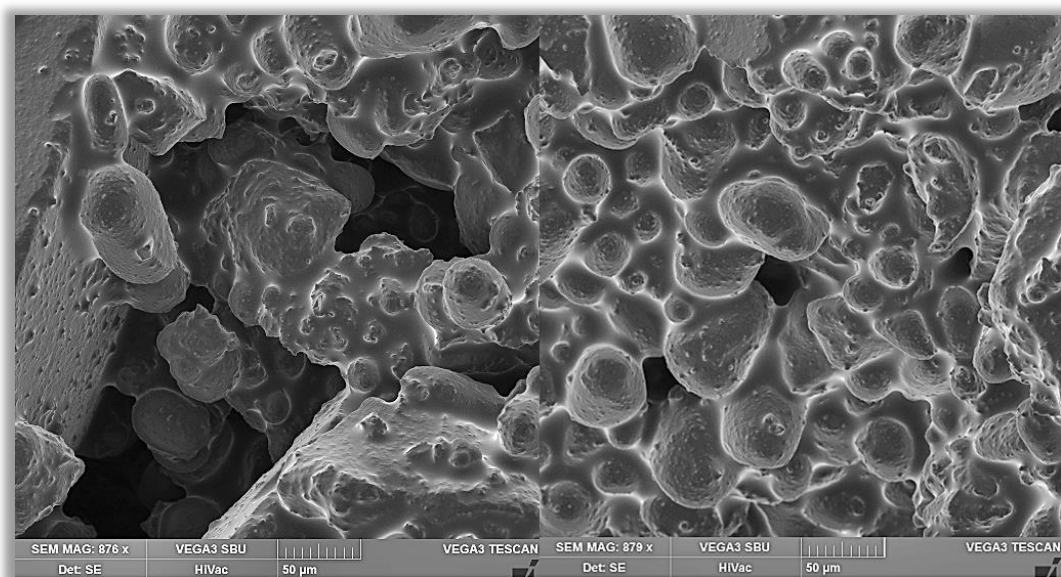


Rys.2.25. Zdjęcia SEM natywnej skrobi ziemniaczanej

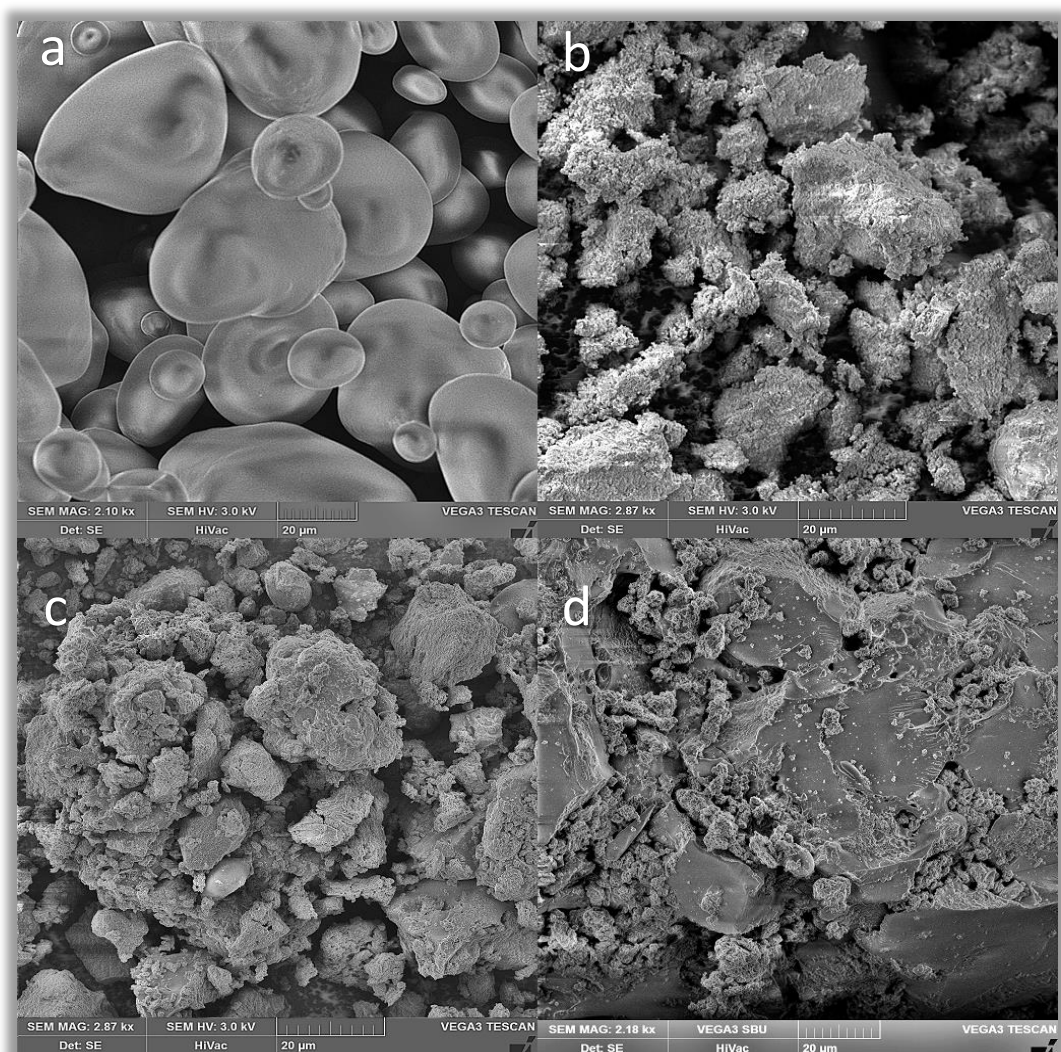
W skrobi częściowo skleikowanej w [BMIM]Cl (Rys.2.26.a,b) obok produktu bezpostaciowego występowały mniej lub bardziej zdeformowane ziarna skrobiowe. Nie znaleziono zorganizowanych i uporządkowanych struktur ziarnistych w skrobi całkowicie skleikowanej i skrobi zestryfikowanej (Rys.2.26.c,d; Rys.2.28.). W obu przypadkach zaobserwowano produkty o nieregularnych powierzchniach, kształcie, a więc produkty amorficzne, które dodatkowo wykazywały tendencję do aglutynacji. Zmiany morfologiczne w otrzymanych estrach można przypisać efektowi procesu kleikowania w cieczy jonowej. Chlorek imidazoliowy jako medium reakcyjne i czynnik kleikujący doprowadził do rozerwania istniejących wewnątrz i międzycząsteczkowych wiązań wodorowych odpowiedzialnych za utrzymywanie semikrystalicznej struktury ziaren skrobi (Lu i wsp., 2013). Ponadto zmiany można przypisywać efektowi podstawienia grup hydroksylowych jaki następuje podczas estryfikacji (Xie i Wang, 2011).



Rys.2.26. Zdjęcia SEM skrobi częściowo skleikowanej (a, b) oraz całkowicie skleikowanej (c, d)



Rys.2.27. Zdjęcia SEM adduktów skrobi z kwasami tłuszczowymi



Rys.2.28. Zdjęcia SEM skrobi natywnej (a) i estrów skrobiowych o najwyższym DS, tj. KO 4/50/30/B (b), HR 4/50/30/B (c) i HS 4/50/30/B (d)

2.9. Analiza zdolności wiązania oleju (OBC)

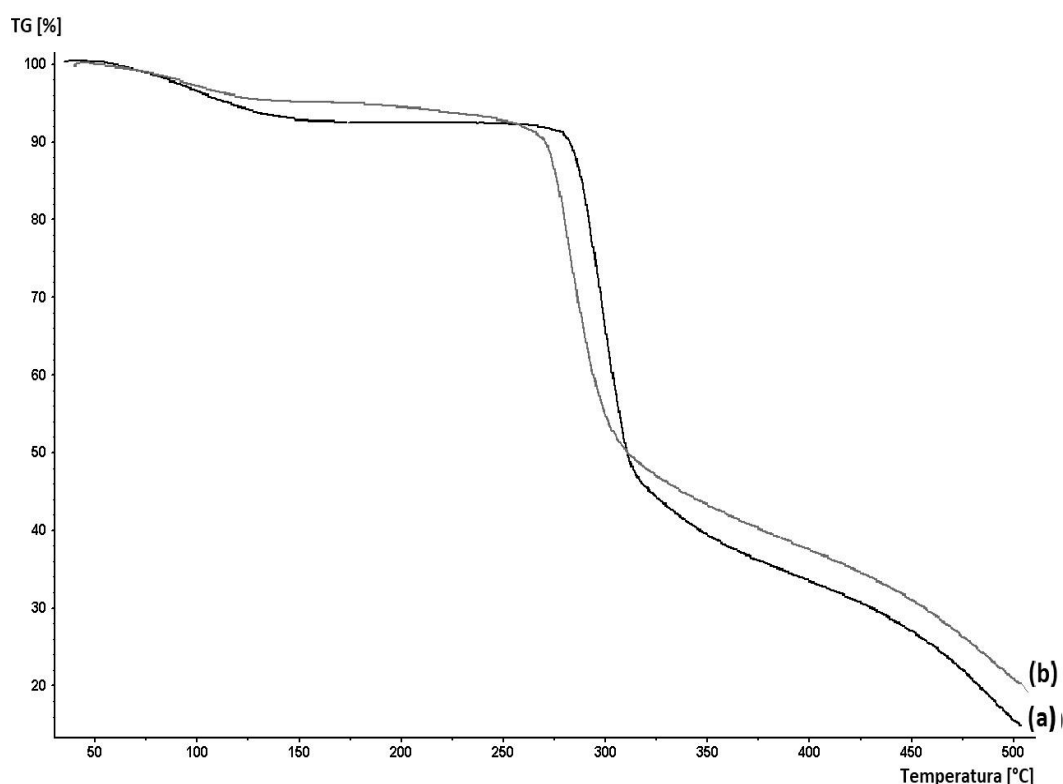
Skrobia, która jest powszechnie uważana za związek hydrofilowy dzięki swojej specyficznej budowie ma zdolność oddziaływania także ze związkami hydrofobowymi. Przykładem takiego oddziaływania może być tworzenie kompleksów inkluzyjnych pomiędzy amylozą a lipidami, w których alifatyczne łańcuchy tłuszczów zajmują hydrofobowe wnętrza pojedynczej helisy amylozy. Zdolność skrobi do wiązania oleju zależy od wielu czynników, z których najważniejszymi są rozmiar, kształt, struktura i skład ziaren, a także ewentualny stopień jego deformacji. Wysoka olejochłonność to właściwość, która może być w pewnym sensie potwierdzeniem zwiększonej hydrofobowości skrobi, ponieważ wraz z jej wzrostem, rośnie także zdolność polimeru do wiązania innych substancji lipofilowych (Ikegwu, i wsp., 2010). Analizę zdolności wiązania oleju przeprowadzono na skrobi natywnej, skleikowanej oraz estrach skrobiowych z najwyższym stopniem podstawienia. Wartości OBC dla poszczególnych próbek wyrażono wagowo (g/g) oraz procentowo w stosunku do próbki wyjściowej. OBC dla skrobi natywnej wynosiła $0,71 \pm 0,02$ g/g, co odpowiadało pochłanianiu oleju na poziomie 71% jej wagi. Po skleikowaniu skrobi jej olejochłonność zmalała do $0,53 \pm 0,01$ g/g (53%). Można to tłumaczyć tym, że zdolność wiązania oleju maleje wraz ze wzrostem amorficzności materiału (destrukcja helis uniemożliwia tworzenie kompleksów, a zacieśnienie przestrzeni międzycząsteczkowej jako efekt kleikowania przyczynia się do zwiększenia zawady przestrzennej i utrudnia absorpcję). Natomiast po przeprowadzeniu estryfikacji skrobi, jej zdolność do wiązania oleju zdecydowanie wzrosła, powyżej 100% wagi próbki. I tak odpowiednio dla KO 4/50/30/B (DS 1,51) wynosiła $1,35 \pm 0,02$ g/g (135%), dla HR 4/50/30/B (DS 1,46) wyniosła $1,27 \pm 0,01$ g/g, a dla HS 4/50/30/B (DS 1,49) $1,32 \pm 0,03$ g/g (132%). Oznacza to wzrost zdolności wiązania oleju odpowiednio o 78, 85 i 90% w stosunku do próbek przed modyfikacją. Im wyższy był DS estrów, tym większa ich hydrofobowość, a tym samym wyższa olejochłonność. Im wyższa z kolei była olejochłonność, tym polimer był bardziej odporny na działanie wilgoci, czyli wykazywał ulepszone właściwości przetwórcze w porównaniu do formy natywnej (Adak i Banerjee, 2016).

2.10. Analiza właściwości termicznych

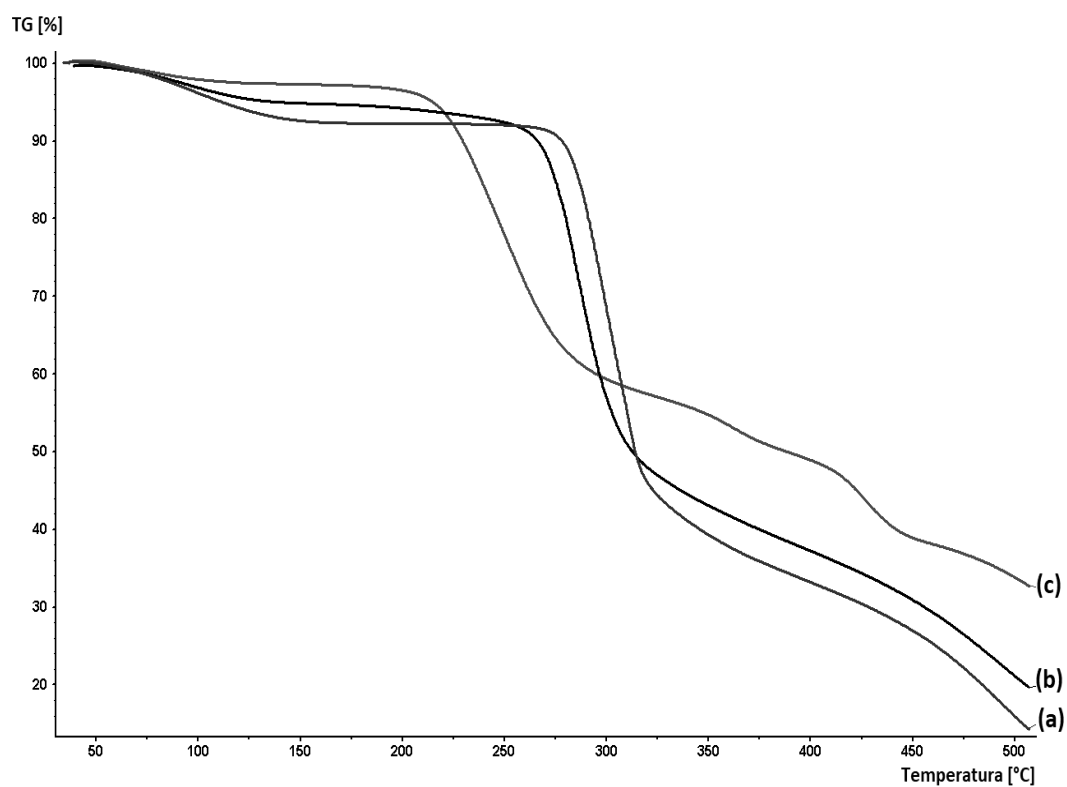
W celu analizy stabilności termicznej i przejść fazowych charakterystycznych dla przeprowadzonej modyfikacji biochemicznej skrobi ziemniaczanej, przeprowadzono analizę termiczną w określonym przedziale temperaturowym tj. od temp. pokojowej do 500°C. Zarejestrowane krzywe TG posłużyły do określenia ubytków masy próbek i temperatur

początkowych, przy których te ubytki występowały. Z kolei analiza przy użyciu skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC) umożliwiła wyznaczenie temperatur zeszklenia. Pierwsze ubytki masy, nie przekraczające 10% zaobserwowano już w temperaturze poniżej 100°C. Był to prawdopodobnie efekt odparowywania zaabsorbowanej wcześniej wody. Temperatury początkowe dla tego etapu były niższe dla skrobi niemodyfikowanej (36,6°C) i skleikowanej (42,7°C), niż w przypadku estrów o najwyższym DS (46,7 – 55,4°C). Kolejny, tym razem znaczny już ubytek masy, bo powyżej 40%, związany z termiczną degradacją, rozkładem łańcucha polisacharydowego, zarejestrowano przy dużo wyższych początkowych temperaturach rozkładu tj. 252,1°C dla skrobi natywnej, 266,7°C dla skleikowanej i w zakresie 186 – 192,1°C dla estryfikowanej. Na podstawie analizy krzywych TG i DTG, można stwierdzić jednoznacznie, że estryfikacja skrobi doprowadziła do obniżenia początkowych temperatur rozkładu polimeru, a tym samym do zmniejszenia jego stabilności termicznej. Jest to zgodne z wcześniejszymi doniesieniami literaturowymi (Desalegn i wsp., 2014; Horchani i wsp. 2010; Shogren, 1996, Żarski i wsp., 2016). Zmiany te można tłumaczyć tym, że podczas estryfikacji poprzedzonej skleikowaniem skrobi dochodzi do całkowitej lub częściowej destrukcji wiązań wodorowych, które jak wiadomo są odpowiedzialne za semikrystaliczność tego polimeru. Im związek jest mniej uporządkowany wewnętrznie, im jest mniej krystaliczny, tym mniej odporny na działanie wysokich temperatur i tym samym łatwiej ulega przejściom fazowym. Podstawienie grup hydroksylowych, do którego doszło w estrach skrobiowych uniemożliwia odtworzenie sieci półkrystalicznej, którą grupy te współtworzyły w ramach oddziaływań wodorowych. Pomiar temperatury przejścia w stan plastyczny dla skrobi i jej pochodnych jest trudny ze względu na to, że zmiana pojemności cieplnej jest słabsza niż w przypadku innych polimerów. Dodatkowo pomiary utrudnia głównie zawartość wody, niestabilność przez jej odparowanie lub wielokrotne przemiany fazowe (Zelesznak i Hosenej, 1987). Dlatego badania przejść fazowych w skrobi przed i po modyfikacjach, poprzedzono oznaczeniem zawartości procentowej wody w warunkach standardowych, tj. 23°C, 50% wilgotności powietrza. %H₂O dla skrobi natywnej wynosił ok. 12%, a w przypadku estrów skrobiowych zmalał prawie trzykrotnie. Z tego powodu, mając na uwadze wpływ wody jako plastyfikatora, zdecydowano się na porównanie estrów ze skrobią natywną, ale z zastosowaniem wstępnego suszenia, do poziomu < 2 % H₂O. Im wyższa jest zawartość wody w polisacharydzie, tym niższa jest jego temperatura zeszklenia (Liu i wsp., 2009). Wynika to z faktu, że woda jest dla skrobi dobrym plastyfikatorem zewnętrznym. Badania DSC pozwoliły na zarejestrowanie przemian fazowych estru skrobiowego. Analizując temperatury zeszklenia, przedstawione w tabeli 2.11. należy zwrócić uwagę na duży spadek T_g estrów, w porównaniu

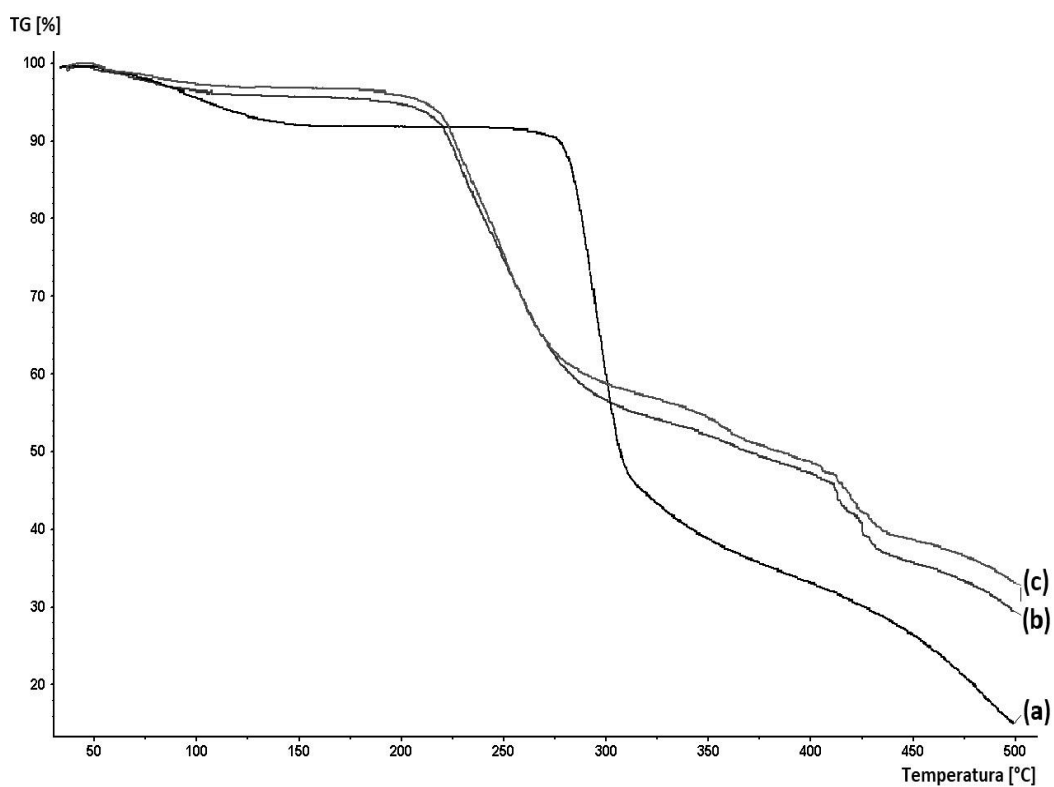
ze skrobią nieestryfikowaną (zmniejszenie temperatury z 250 do ok. 150°C). Świadczy to prawdopodobnie o tym, że przeprowadzona estryfikacja skrobi długołańcuchowymi kwasami tłuszczowymi doprowadziła do zwiększenia plastyczności polimeru. To efekt wzrostu amorficzności w wyniku rozerwania wewnątrz i międzycząsteczkowych wiązań wodorowych oraz substytucji grup hydroksylowych. Wprowadzenie nowych grup do struktury polimeru przyczyniło się do wzrostu wolnej objętości w jego cząsteczkach i zwiększenia mobilności molekularnej, mobilności łańcuchów polisacharydowych, a tym samym „płynności” polimeru. Skoro temp. zeszklenia ulega obniżeniu wraz ze wzrostem amorficzności, to T_g skrobi skleikowanej powinna być dużo niższa od T_g skrobi nieskleikowanej i bardziej zbliżona do T_g jej estrów. Tymczasem różnica nie była wyraźna. Można to tłumaczyć tym, że na skutek procesu retrogradacji część semikrystalicznej struktury skrobi może zostać po pewnym czasie odbudowana. Przejściu polimeru w stan szklisty niejako przeszkadza jego hydrofilowość. Redukując liczbę wolnych grup hydroksylowych, poprzez chociażby estryfikację, obniżamy potencjał do retrogradacji. Dlatego nawet po pewnym okresie przechowywania estrów skrobiowych ich retrogradacja jest dużo bardziej utrudniona niż w przypadku nieestryfikowanej skrobi skleikowanej. Stąd różnice we właściwościach termicznych tych związków.



Rys.2.29. Krzywe TG skrobi natywnej (a) i skleikowanej (b)



Rys.2.30. Krzywe TG skrobi natywnej (a), skrobi skleikowanej (b) oraz estru skrobiowego KO/4/50/30/B (c)



Rys.2.31. Krzywe TG skrobi natywnej (a) oraz estrów skrobiowych HR/4/50/30/B (b) i HS/4/50/30/B (c)

Tab.2.11. Porównanie właściwości termicznych skrobi natywnej, skleikowanej i estrów skrobiowych o najwyższym DS

Próbka	TG		DTG	DSC
	T _i [°C]	Δm [%]	T _{max} [°C]	T _g [°C]
SN	36,6	8,61	87,3	258,16
	252,1	51,62	305,8	
SKL 30	42,7	7,63	74,4	225,65
	266,7	56,29	287,5	
KO 4/50/30/B	46,7	2,03	67,6	152,38
	186	40,03	247,2	
HR 4/50/30/B	52,3	2,62	66,2	157,17
	192,1	40,17	240,1	
HS 4/50/30/B	55,4	2,96	65,1	164,02
	190,2	47,21	244,4	

T_i – temp. początkowa rozkładu; T_{max} – temp. maksymalna rozkładu; T_g – temp. zeszklenia; Δm – ubytek masy

2.11. Wytłaczanie folii ze skrobi ziemniaczanej i jej estrów. Właściwości mechaniczne i przetwórcze

Skrobia wysuszona, nie zawierająca wody jako wewnętrznego plastyfikatora jest polimerem bardzo kruchym nie wykazującym plastyczności, a więc materiałem o niewielkim znaczeniu dla przetwórstwa. Z kolei materiały otrzymane na bazie skrobi modyfikowanej, bez względu na stopień modyfikacji, wykazują granicę plastyczności. Z samej skrobi, nie wykazującej cech materiału termoplastycznego, nie jest możliwe zatem otrzymanie folii i to niezależnie od tego czy zastosuje się metodę wylewania czy wytłaczania (Dias i wsp., 2010). Dodatkowo przy stosowaniu wyższych temperatur obróbki a także na wskutek działania sił ścinających (tarcia wewnętrznego), dochodzi do przyspieszonego rozkładu skrobi, czyli depolimeryzacji. Próby wytłoczenia folii z czystych estrów skrobiowych zakończyły się niepowodzeniem, nie ulegały termoplastyfikacji. Zdecydowano się użyć glicerolu jako zewnętrznego plastyfikatora dlatego, że jest to produkt uboczny reakcji przeprowadzonej hydrolizy olejów roślinnych, który można ponownie użyć w otrzymaniu materiału bardziej termoplastycznego. Stosując ten sam zewnętrzny plastyfikator i w tym samym stosunku wagowym zarówno dla skrobi natywnej jak i zestryfikowanej, było możliwe porównywanie właściwości mechanicznych, przetwórczych i wpływu na środowisko oraz końcowa ocena w celu określenia, który z materiałów byłby bardziej atrakcyjny dla zastosowań opakowaniowych.

Mając na uwadze zdolność wody do plastyfikacji skrobi, zmierzono jej zawartość w próbach przed rozpoczęciem ekstruzji (Chocyk i wsp. 2015). Pomiar przeprowadzono po ich 24 godzinnej inkubacji w warunkach standardowych, tj. w 23°C i przy 50% wilgotności powietrza. Wyniki przedstawiały się następująco: procentowa zawartość wody dla skrobi wyniosła 12%, dla estrów KO 4/50/30/B - 4,12%, HR 4/50/30/B - 4,08%, a dla HS 4/50/30/B - 3,97%. W kolejnym kroku w celu zapewnienia jednakowych warunków wytłaczania folii, wszystkie próby skrobi natywnej i zestryfikowanej wysuszono do stałej zawartości wody < 2%.

Wytłaczano folie z natywnej skrobi splastyfikowanej i splastyfikowanych estrów skrobi o najwyższym stopniu podstawienia, tj. KO 4/50/30B, HR 4/50/30/B oraz HS 4/50/30/B. Otrzymane próbki miały grubość $1,5 \pm 0,2$ mm i szerokość $10 \pm 0,1$ mm. Folie na bazie splastyfikowanych estrów skrobiowych charakteryzowały się lepszymi właściwościami mechanicznymi w porównaniu z folią otrzymaną ze splastyfikowanej skrobi nieestryfikowanej, tj. wyższą wytrzymałością na zerwanie i wytrzymałością na rozrywanie, niezależnie od kierunku badania, czyli maszynowym i poprzecznym. Wytrzymałość na zerwanie wzrosła w większości przypadków ponad dwukrotnie, a wytrzymałość na rozdzieranie ponad trzykrotnie. Dwa dodatkowe ważne parametry wyznaczone podczas prób statycznego rozciągania jednoosiowego to wydłużanie względne przy zerwaniu (A_B lub ϵ_B) i moduł sprężystości wzdłużnej, inaczej zwany modułem Younga (E_t). Wspomniane wydłużenie to innymi słowami wyrażony w procentach stosunek zmiany długości próbki w momencie zerwania do jej długości początkowej. Drugi z parametrów, E_t charakteryzuje materiał pod względem odkształcenia, a dokładniej określa zależność względnego odkształcenia liniowego polimeru od występującego w nim naprężenia. Im większa jego wartość tym materiał sztywniejszy i bardziej odporny na odkształcenia, zarówno rozciąganie jak i ściskanie. Wzrost temperatury prowadzi do stopniowego mięknienia polimerów, a tym samym spadku modułu Young'a (Combrzyński i wsp., 2013). Z punktu widzenia realizacji założonego celu pracy istotna była ocena czy właściwości mechaniczne folii wytłoczonej ze skrobi przed i po jej hydrofobizacji się zmieniły, a jeżeli tak, to w jakim kierunku. Przeprowadzając badania mechaniczne próbek folii wytłoczonych z estrów skrobiowych oraz folii otrzymanych ze skrobi niemodyfikowanej, w przypadku tych pierwszych obserwowano zachowanie typowe dla materiałów bardziej plastycznych, a drugich bardziej sztywnych i kruchych. Głównie świadczył o tym fakt, że materiały na bazie skrobi estryfikowanej charakteryzowały się zwiększonym wydłużeniem względnym, nawet o 50% oraz nawet kilkukrotnym spadkiem wartości modułu sprężystości wzdłużnej (Tab.2.12.).

Tab.2.12. Właściwości mechaniczne folii ze splastyfikowanej skrobi przed i po estryfikacji

Folia	Kierunek pomiaru	Właściwości mechaniczne			
		Wytrzymałość na zerwanie σ_M [MPa]	Wydłużenie wzgl. przy zerwaniu ϵ_B [%]	Moduł sprężystości E_t [MPa]	Wytrzymałość na rozdzieranie [N/mm]
SN	KM	2,33±0,21	22,4±3,05	51,36±3,58	7,21±0,31
	KP	2,1±0,15	19,26±1,1	48,23±5,11	9,96±0,1
SKL 30	KM	2,1±0,17	25,16±2,3	34,12±1,33	6,59±0,22
	KP	2,25±0,3	21,89±3,2	35,31±1,48	9,32±0,18
KO 4/50/30/B	KM	6,2±0,11	56,39±1,4	11,16±2,01	26,22±0,27
	KP	5,41±0,27	52,5±2,7	14,21±1,76	33,01±0,12
HR 4/50/30/B	KM	5,52±0,05	51,01±0,5	12,12±1,05	22,18±0,15
	KP	4,22±0,11	49,2±0,72	10,88±1,55	29,23±0,34
HS 4/50/30/B	KM	5,9±0,31	55,52±2,51	11,36±0,48	24,01±0,43
	KP	4,72±0,13	53,7±2,12	12,66±2,73	32,07±0,33

KM- kierunek maszynowy (wzdłużny) ; KP –kierunek poprzeczny

Tab.2.13. Inne właściwości folii ze splastyfikowanej skrobi przed i po estryfikacji

Folia	Absorpcja wody [% m]	Kąt zwilżania (woda/dijodometan) [°]	Energia powierzchniowa [mJ/m ²]
SN	35,4±0,3	32,5±0,5/42,2±0,4	62,57±0,2
SKL 30	30,1±0,4	30,4±0,3/47,2±0,3	59,19±0,2
KO 4/50/30/B	15,8±0,2	91,2±0,2/15,2±0,1	50,39±0,4
HR 4/50/30/B	18,1±0,3	78,1±0,1/25,01±0,2	46,31±0,2
HS 4/50/30/B	17,7±0,5	85,9±0,5/20,7±0,3	48,07±0,1

Trudno porównywać otrzymane materiały na bazie skrobi estryfikowanej z innymi polimerami ze względu na dość istotne różnice w budowie i strukturze, a co za tym idzie we właściwościach fizykochemicznych i mechanicznych. Otrzymane średniopodstawione estry skrobi ziemniaczanej wykazywały dużo lepsze właściwości mechaniczne w porównaniu ze skrobią niemodyfikowaną, jednak wciąż mało konkurencyjne wobec większości polimerów syntetycznych. Wytrzymałość na rozciąganie była praktycznie o połowę niższa niż w przypadku polietylenu (LDPE) czy elastomerów i trzykrotnie niższa niż w przypadku polikaprolaktonu. Podobnie wygląda sytuacja, gdy porównamy wartości modułu sprężystości. Nie tylko pochodzenie botaniczne, skład ilościowy i jakościowy skrobi ma znaczenie, ale także inne czynniki, takie jak metoda otrzymania folii (wytlaczanie proste, wytlaczanie reaktywne, współwytlaczanie, rozdmuchiwanie itd.), stopień modyfikacji, użyte komponenty, plastyfikatory zewnętrzne czy w końcu warunki procesu i samego otoczenia (Chocyk i wsp., 2015; Graaf i wsp., 2003). Zazwyczaj w każdym z przeprowadzonych eksperymentów otrzymywano materiały termoplastyczne, o obniżonej temperaturze przemiany szklistej, jednak o znaczących różnicach w module sprężystości oraz odporności na zrywanie i rozciąganie. Nastąpił także znaczny wzrost względnego wydłużenia przy maksymalnym naprężeniu, z ok. 20% do powyżej 50% dla poszczególnych estrów. Było to zgodne z wcześniejszymi doniesieniami literaturowymi, w których dodanie plastyfikatora skutkowało elastycznością folii (Sagar i Merrill, 1995). Podstawienie grup hydroksylowych w skrobi również zwiększyło hydrofobowość, co było jednym z głównych celów przedstawionych badań (Cyras i wsp., 2006). Kąt zwilżania powierzchni folii w układzie woda/dijodometan zmierzony goniometrem wynosił dla natywnej skrobi $32,5^{\circ}/42,2^{\circ}$, a w przypadku estrów nawet do $91,2^{\circ}/15,2^{\circ}$. Wyniki zwilżalności i spadek swobodnej energii powierzchniowej folii skrobi zestryfikowanej świadczą, że otrzymano materiał dużo bardziej hydrofobowy. Dodatkowo, na co warto zwrócić uwagę, ponad dwukrotnie zmalała zdolność pochłaniania wody, co ma pozytywne znaczenie w kontekście wpływu wilgoci w trakcie przechowywania otrzymanych estrów skrobiowych. Absorpcja wody wynosiła 35,4% dla folii skrobi natywnej oraz 15,8% - 18,1% dla folii z estrów skrobi. Skrobia estryfikowana na poziomie ok. 50% umożliwia więc otrzymanie folii o zwiększonej hydrofobowości oraz poprawionych właściwościach mechanicznych i przetwórczych w porównaniu ze skrobią nieestryfikowaną.

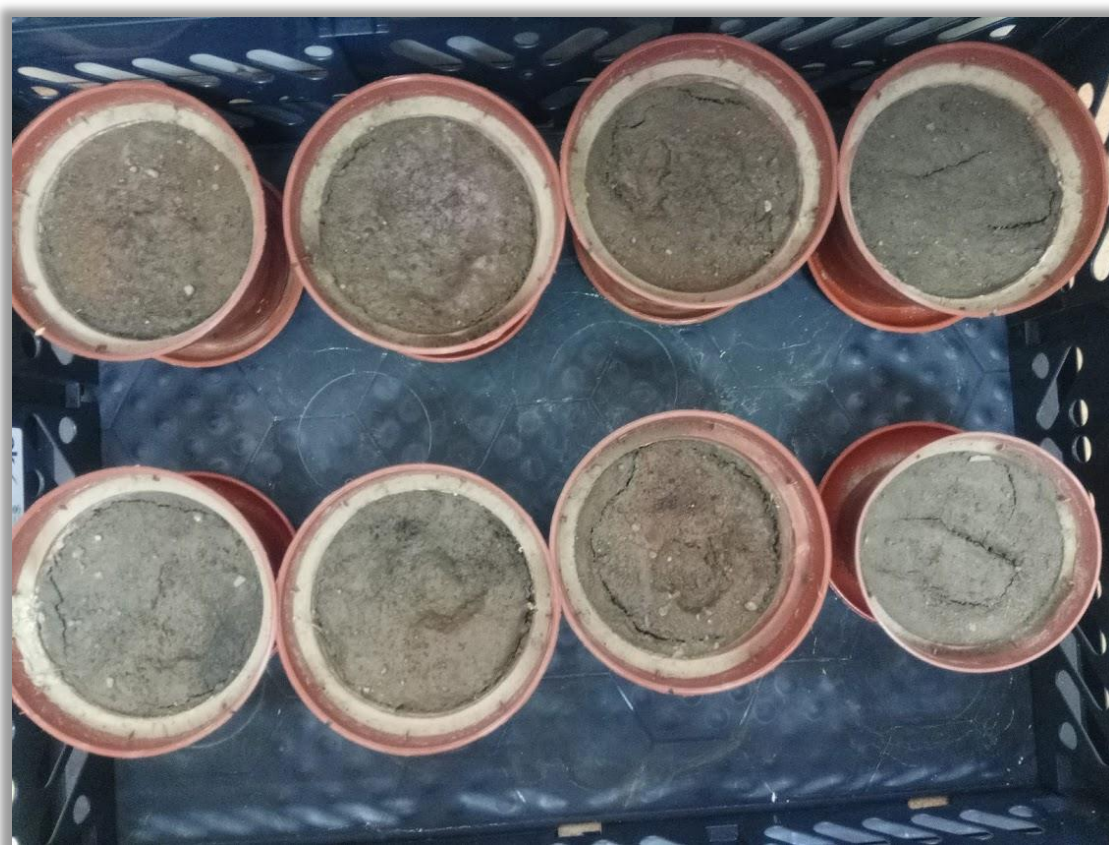


Rys.2.32. Ester skrobiowy HR/4/50/30/B w formie proszku (a) i w formie folii wytłoczonej na wytłaczarce jednoślindakowej (b, c), (Ł-IIMPiB, Toruń, 2018)

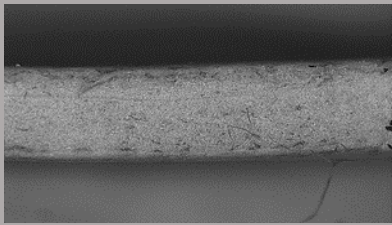
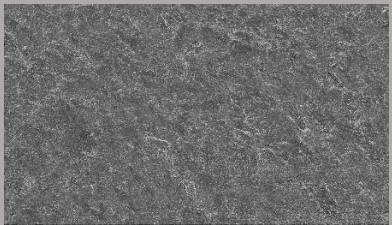
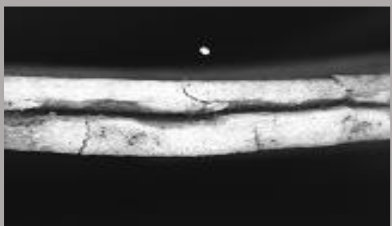
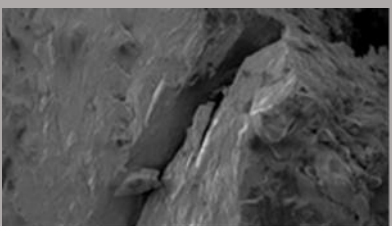
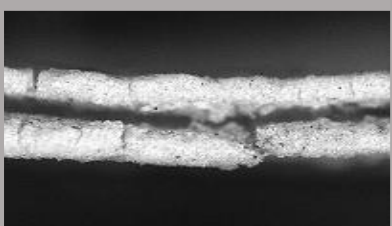
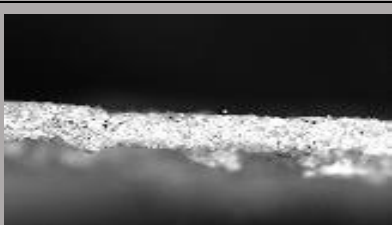
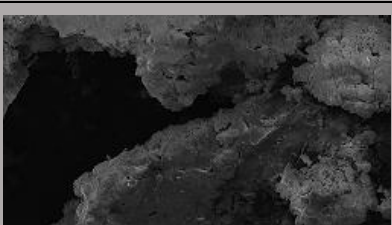
2.12. Ocena biodegradowalności folii

Folie polimerowe mogą być wykorzystywane przez mikroorganizmy jako źródło węgla i innych pierwiastków niezbędnych do ich istnienia. Dzieje się tak, za sprawą tego, że są w stanie przeprowadzać biofragmentację, depolimeryzację, a następnie asymilację powstałych w jej wyniku produktów małowcząsteczkowych. W zależności od struktury chemicznej poszczególne składniki materiału, poddanego działaniu biotycznych i abiotycznych czynników środowiskowych, rozkładają się i mineralizują w zróżnicowanym czasie. Amorficzne frakcje polimerowe są bardziej podatne na biodegradację niż frakcje wykazujące częściową lub całkowitą strukturę krystaliczną (Gu, 2003). Tak dzieje się w przypadku materiałów na bazie skrobi. Fragmentacja rozgałęzionych frakcji bezpostaciowych zachodzi szybciej niż w przypadku frakcji półkrystalicznych (Leja i Lewandowicz, 2010). Początkowo, po pierwszych 3 tygodniach utrzymywania próbek folii w glebie, z wyjątkiem erozji powierzchniowej i utraty masy poniżej 20%, nie zaobserwowano makro i mikroskopowo żadnych innych dodatkowych zmian i procesów. Po kolejnych 3 tygodniach oprócz postępującej erozji powierzchni i utraty masy w granicach 30,2-37,2%, folie wytłoczone z estrów skrobiowych dodatkowo charakteryzowały się obecnością znacznych pęknięć i różnokierunkowych rozwarstwień. Zarejestrowane zmiany mogą wynikać z degradacji hydrolitycznej (kwasowej) poprzedzonej degradacją enzymatyczną. W 7-8 tygodniu prowadzenia eksperymentu wyczuwalny był nieprzyjemny zapach zjełczałego masła. Można to tłumaczyć zachodzeniem fermentacji masłowej, prowadzonej przez bakterie anaerobowe, należące do mikroflory autochtonicznej gleby (Lavelle i Spain, 2005). Mikroskopowa ocena jakościowa popłuczyn z użytej gleby w warstwach powierzchniowych potwierdziła obecność promieniowców z rodzaju *Actinomyces*, a w głębszych warstwach innych bakterii o formie morfologicznej pałeczek. W głębszych warstwach dominowały bakterie beztlenowe, głównie z rodzaju *Clostridium*, które to prowadzą fermentację beztlenową i mineralizację węglowodanów do CO_2 , H_2O , ale także C_4H_{10} . Enzymy pozakomórkowe mikroorganizmów najpierw atakują powierzchnię polimerów, a zatem zjawisko erozji powierzchni występuje w początkowych stadiach biodegradacji (Ali i wsp., 2008). Enzymatyczna hydroliza wiązań estrowych prowadzi do postępującej utraty właściwości hydrofobowych degradowanego materiału polimerowego, a tym samym do przywrócenia dostępności grup hydroksylowych, które determinują dalsze etapy reakcji hydrolitycznych, prowadzących do depolimeryzacji łańcuchów polisacharydowych. Makroskopowa i mikroskopowa ocena oraz określenie ubytku masy w foliach na bazie estrów skrobiowych, przeprowadzona po 12 tygodniach degradacji w glebie potwierdziła, że badane poliestry skrobiowe nadal były związkami biodegradowalnymi. Zgodnie z definicją polimer

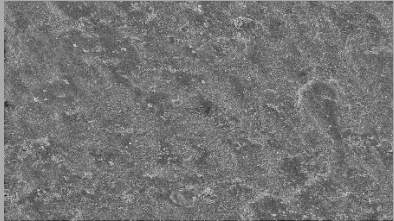
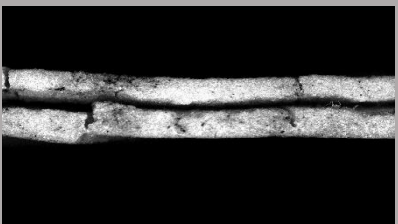
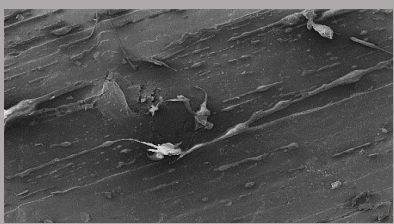
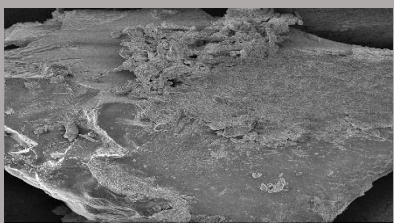
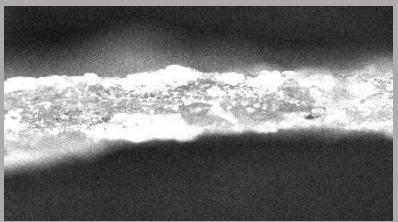
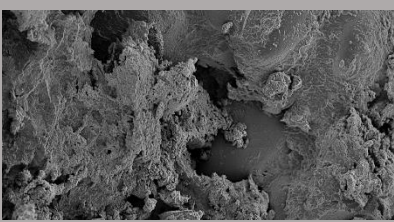
kwalifikować się może jako biodegradowalny, gdy ulega rozkładowi przez mikroorganizmy w ciągu 6 miesięcy (lub ulegnie rozkładowi w ponad 50% przez połowę tego okresu czyli 3 miesiące). Po dwunastotygodniowym okresie prowadzenia eksperymentu zarejestrowano silne odkształcenia i wyraźną defragmentację folii, a także znaczną utratę masy, bo powyżej 50% (52,9-58,1%). W przypadku folii na bazie skrobi natywnej ubytek masy po 3 miesiącach degradacji był nieco wyższy, bo wyniósł 61,3%. Można zatem stwierdzić, że estryfikacja w łańcuchu polisacharydowym skrobi długołańcuchowymi nienasyconymi kwasami tłuszczowymi skutecznie umożliwiła otrzymanie materiału o nowych właściwościach użytkowych, bez zmniejszonej podatności na degradację w środowisku naturalnym. Spadek biodegradowalności skrobi po estryfikacji został potwierdzony we wcześniejszych doniesieniach literaturowych, z tą różnicą, że w prezentowanych badaniach był on stosunkowo nieznaczny (Rivard i wsp., 1995).



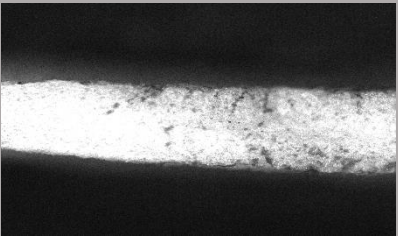
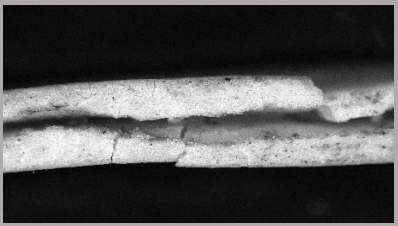
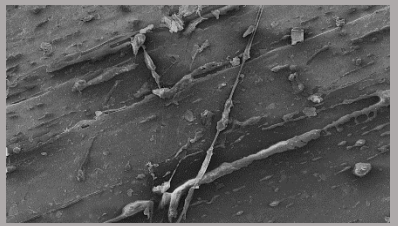
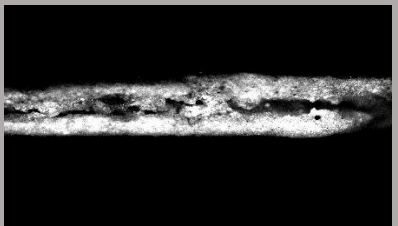
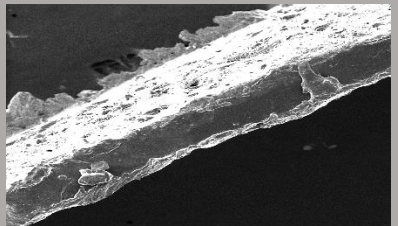
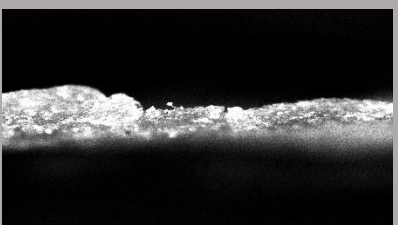
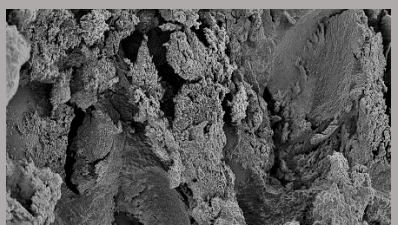
Rys.2.33. Biodegradacja w glebie folii otrzymanych ze splastyfikowanej skrobi natywnej i estryfikowanej

Czas biodegradacji	Ubytek masy (%)	Zdjęcia SOM	Zdjęcia SEM
3	$12,4 \pm 1,4$		
6	$30,2 \pm 1,8$		
9	$36,5 \pm 2,7$		
12	$52,9 \pm 2,1$		

Rys.2.34. Procentowy ubytek masy próbek folii wytłoczonej z estru skrobiowego KO/4/50/30/B po 3, 6, 9 i 12 tygodniach biodegradacji w glebie oraz zdjęcia folii wykonane przy użyciu stereoskopowego mikroskopu optycznego SOM (pow. ok. 100x) oraz skaningowego mikroskopu elektronowego SEM (pow. ok. 200x) po określonym czasie biodegradacji

Czas biodegradacji	Ubytek masy (%)	Zdjęcia SOM	Zdjęcia SEM
3	$18,7 \pm 1,7$		
6	$33,2 \pm 1,1$		
9	$44,7 \pm 2,4$		
12	$55,3 \pm 2,1$		

Rys.2.35. Procentowy ubytek masy próbek folii wytłoczonej z estru skrobiowego HR/4/50/30/B po 3, 6, 9 i 12 tygodniach biodegradacji w glebie oraz zdjęcia folii wykonane przy użyciu stereoskopowego mikroskopu optycznego (pow. ok. 100x) oraz skaningowego mikroskopu elektronowego (pow. ok. 200x) po określonym czasie biodegradacji

Czas biodegradacji	Ubytek masy (%)	Zdjęcia SOM	Zdjęcia SEM
3	$16,6 \pm 1,1$		
6	$37,2 \pm 1,4$		
9	$48,6 \pm 1,7$		
12	$58,1 \pm 2,2$		

Rys.2.36. Procentowy ubytek masy próbek folii wytłoczonej z estru skrobiowego HS/4/50/30/B po 3, 6, 9 i 12 tygodniach biodegradacji w glebie oraz zdjęcia folii wykonane przy użyciu stereoskopowego mikroskopu optycznego (pow. ok. 100x) oraz skaningowego mikroskopu elektronowego (pow. ok. 200x) po określonym czasie biodegradacji

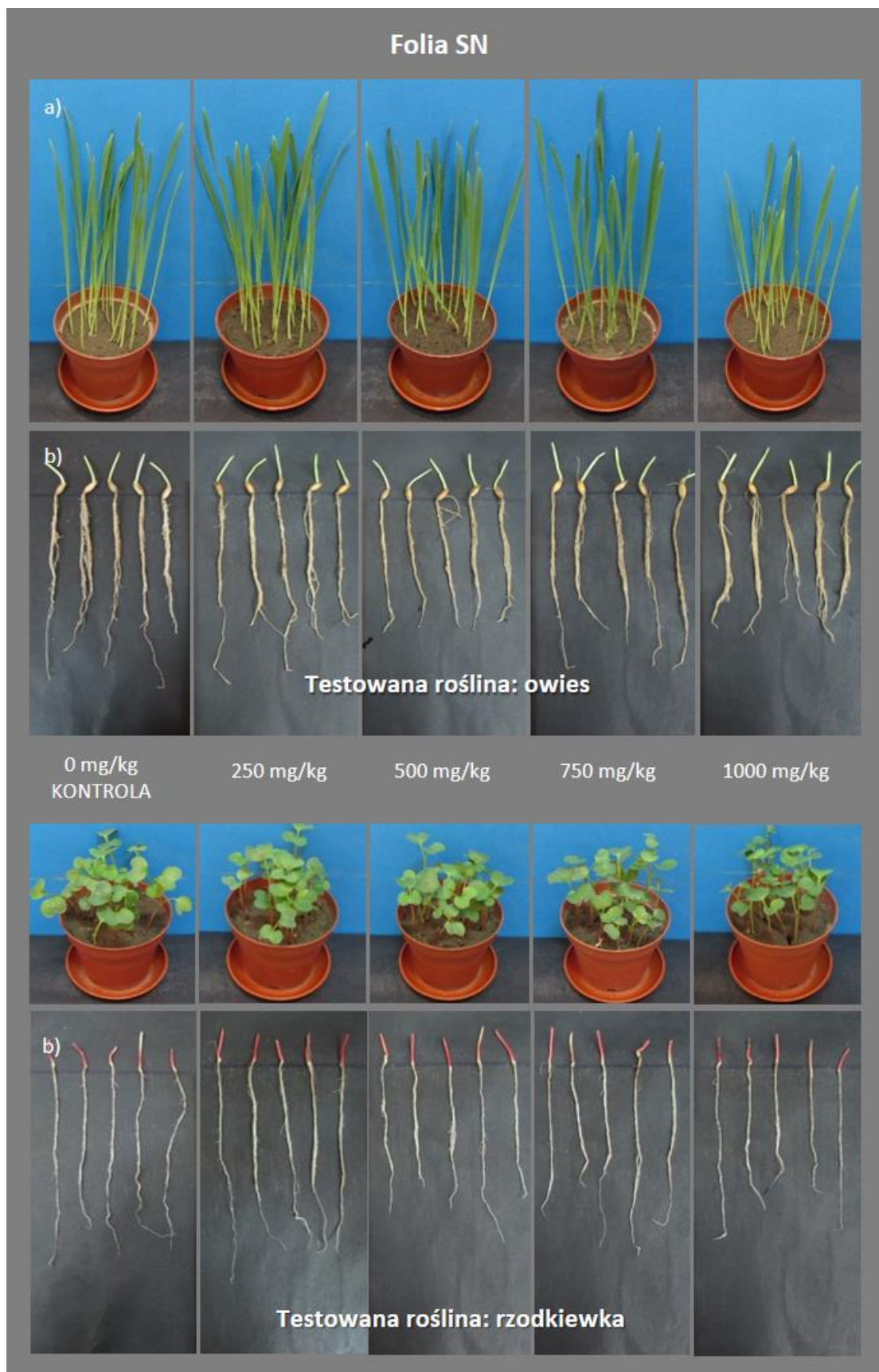
2.13. Ocena fitotoksyczności folii

Ocenę fitotoksyczności wytłoczonych folii prowadzono poprzez obserwację wzrostu wegetacyjnego roślin w glebie zawierającej różne stężenia badanego materiału, tzn. folie wytłoczone ze skrobi natywnej i jej estrów, w postaci zmielonego proszku. W celach porównawczych prowadzono również hodowle kontrolne roślin w glebie – bez badanych

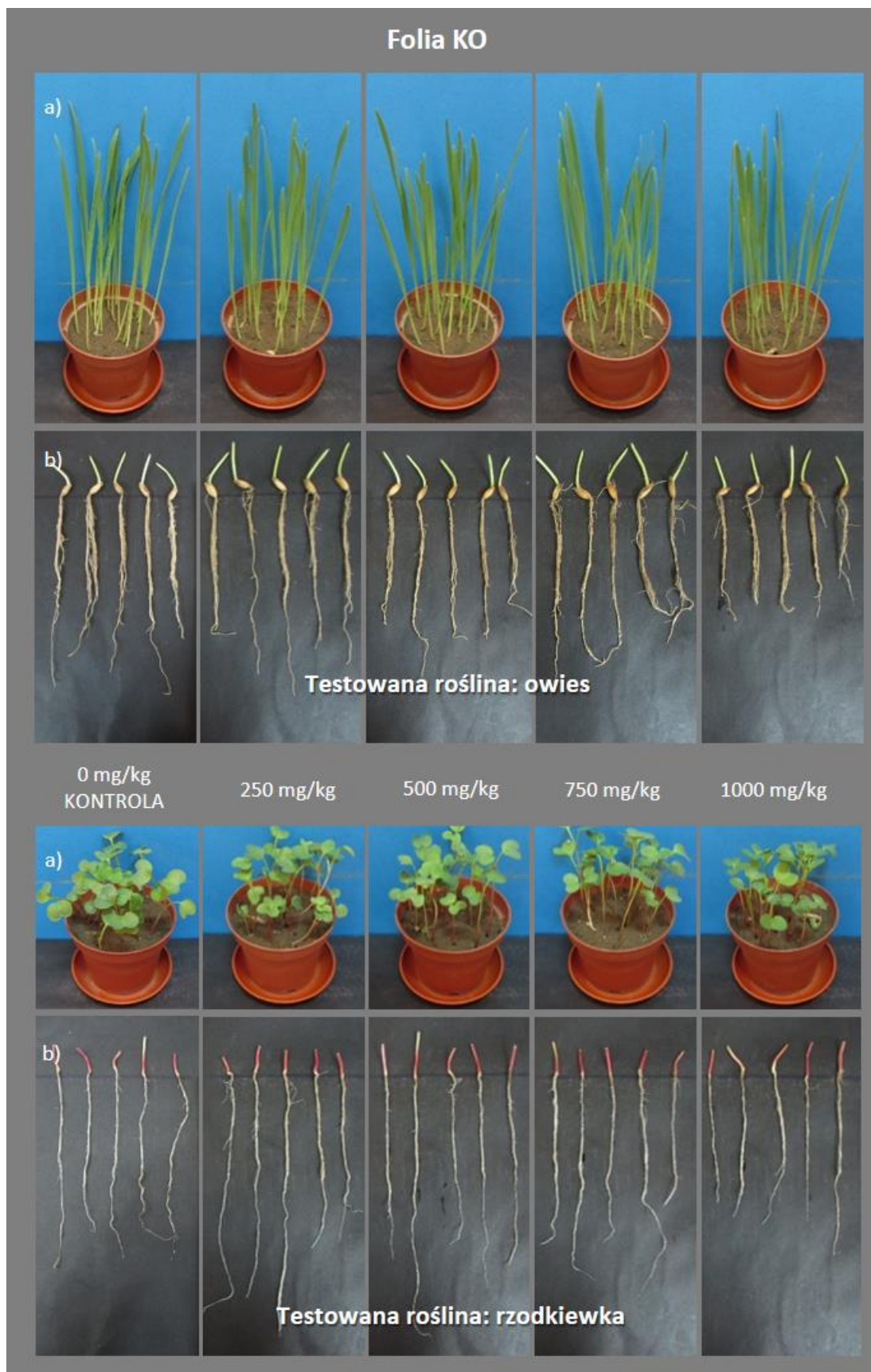
próbek (Rys.2.40). Podczas oceny makroskopowej nie odnotowano zmian, które mogłyby świadczyć o inhibicji wzrostu zarówno jednoliściennego owsa, jak i sadzonek dwuliścienniej rzodkiewki. Niezależnie od stężenia sproszkowanej folii z estrów skrobi i okresu wzrostu roślin, wszystkie wartości suchej i świeżej masy sadzonek, a także liczba kiełkujących roślin były większe niż 90% roślin uprawianych w próbkach kontrolnych (Rys.2.47.). W związku z tym stwierdzono, że badany materiał był nietoksyczny dla roślin jedno- i dwuliściennych (Rychter i wsp., 2010; Rychter i wsp., 2016). Ponadto przez cały czas trwania eksperymentu nie zarejestrowano zmian morfologicznych, takich jak martwica lub deformacja pędów i korzeni (Rys.2.41 - 2.44.). Nie zaobserwowano także istotnych zmian pod względem anatomicznym tj. w zawartości głównych barwników roślinnych takich jak chlorofil czy z barwników z grupy karotenoidów (Rys.2.45. – 2.46.). To potwierdza brak toksycznego wpływu na organelle wewnątrzkomórkowe, m.in. brak uszkodzenia plastydów roślinnych, w których barwniki te są syntezowane i przechowywane. Podsumowując, otrzymane folie estrów skrobiowych nie wykazywały istotnego działania fitotoksycznego i nie hamowały wzrostu zarówno roślin jedno, jak i dwuliściennych. Dlatego można je zaklasyfikować jako związki bezpieczne dla środowiska.



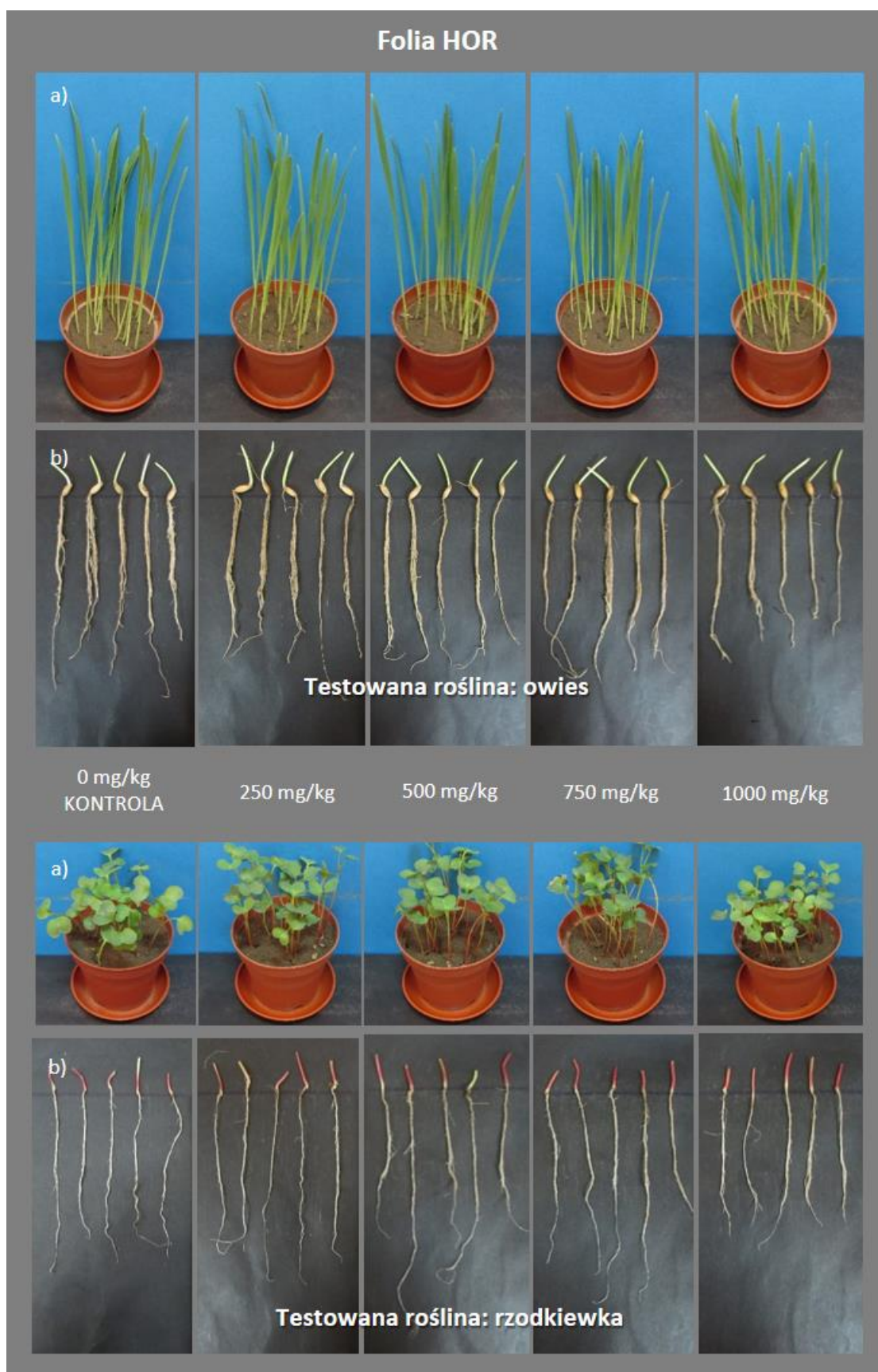
Rys.2.37. Badanie fitotoksyczności folii w hali wegetacyjnej Katedry Biochemii, Biotechnologii i Ekotoksykologii (UJD Częstochowa, 2019)



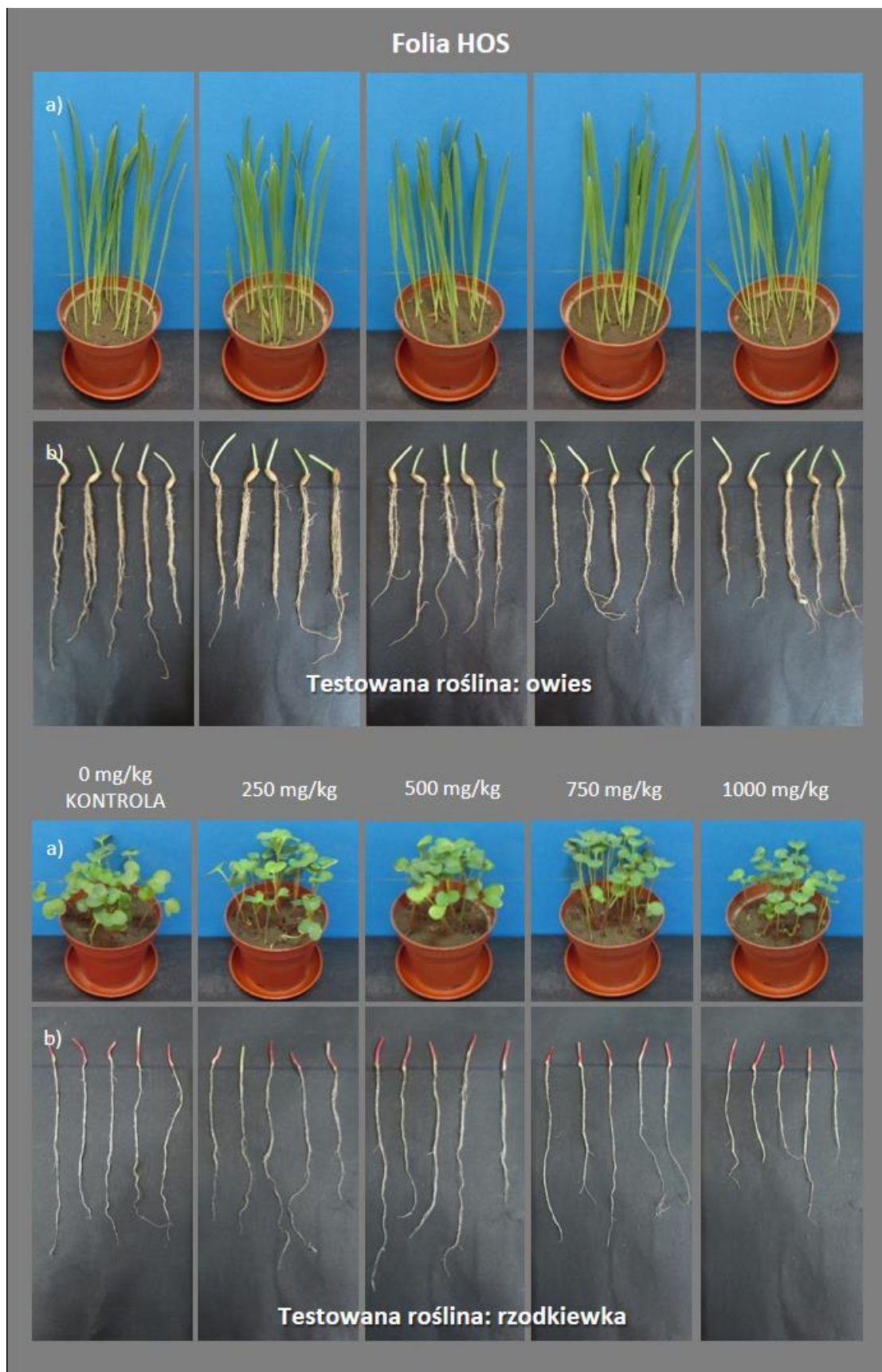
Rys.2.38. Ocena makroskopowa (zdjęcia cyfrowe) organów podziemnych i nadziemnych roślin jedno- i dwuliściennych poddanych działaniu folii wytłoczonych ze skrobi natywnej



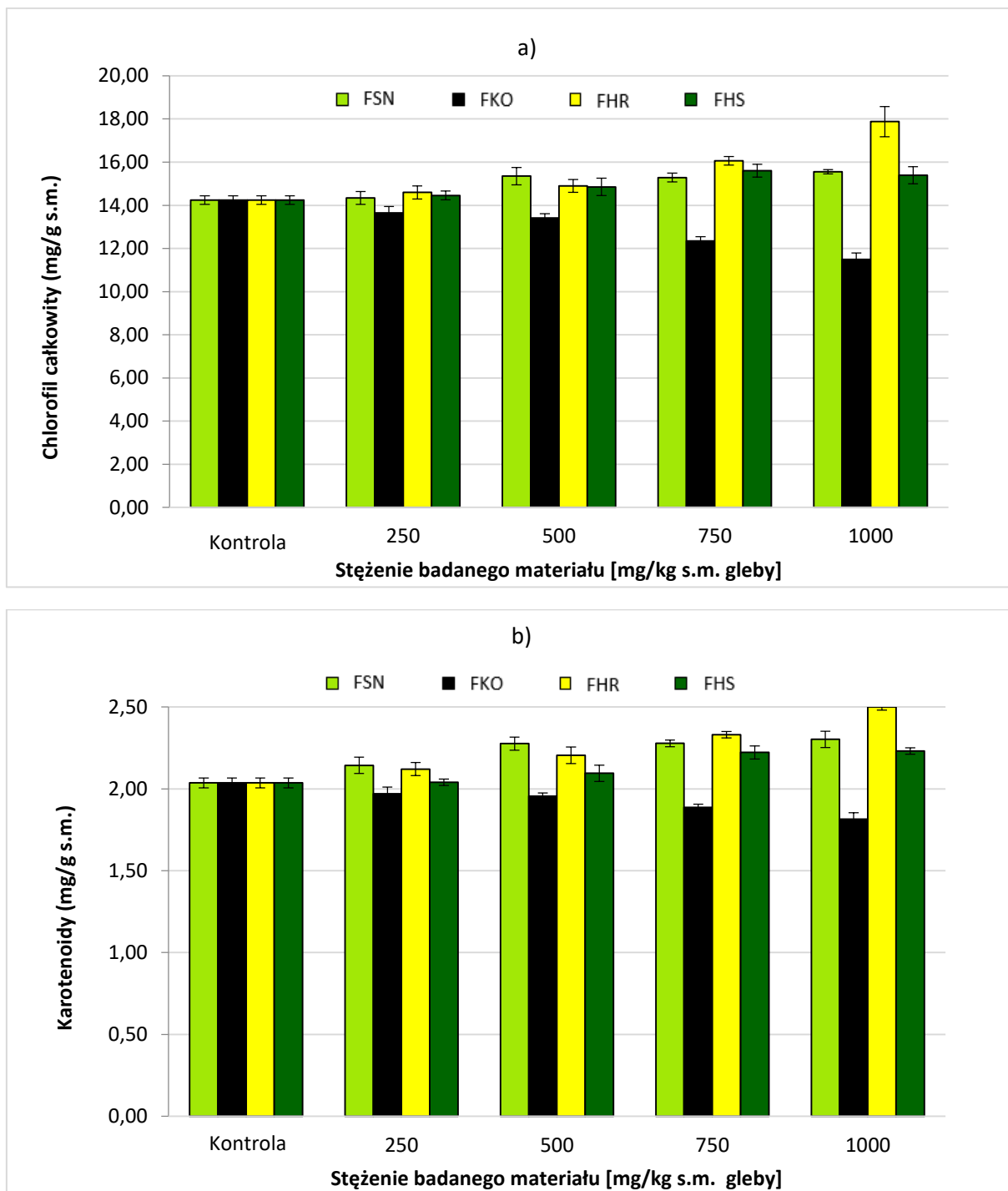
Rys.2.39. Ocena makroskopowa (zdjęcia cyfrowe) organów podziemnych i nadziemnych roślin jedno- i dwuliściennych poddanych działaniu folii wytłoczonej z estru skrobiowego KO/4/50/30/B



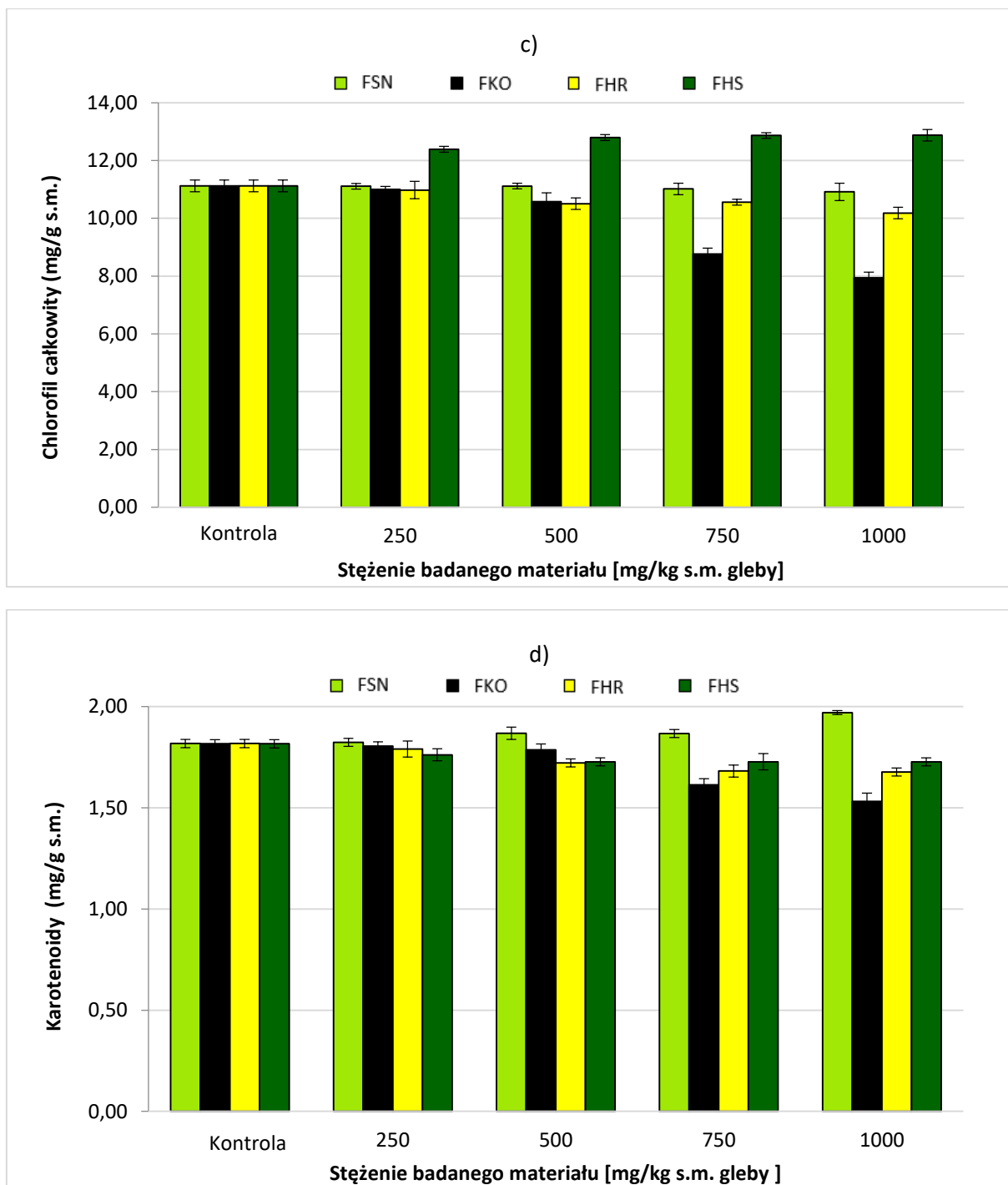
Rys.2.40. Ocena makroskopowa (zdjęcia cyfrowe) organów podziemnych i nadziemnych roślin jedno- i dwuliściennych poddanych działaniu folii wytłoczonej z estru skrobiowego HR/4/50/30/B



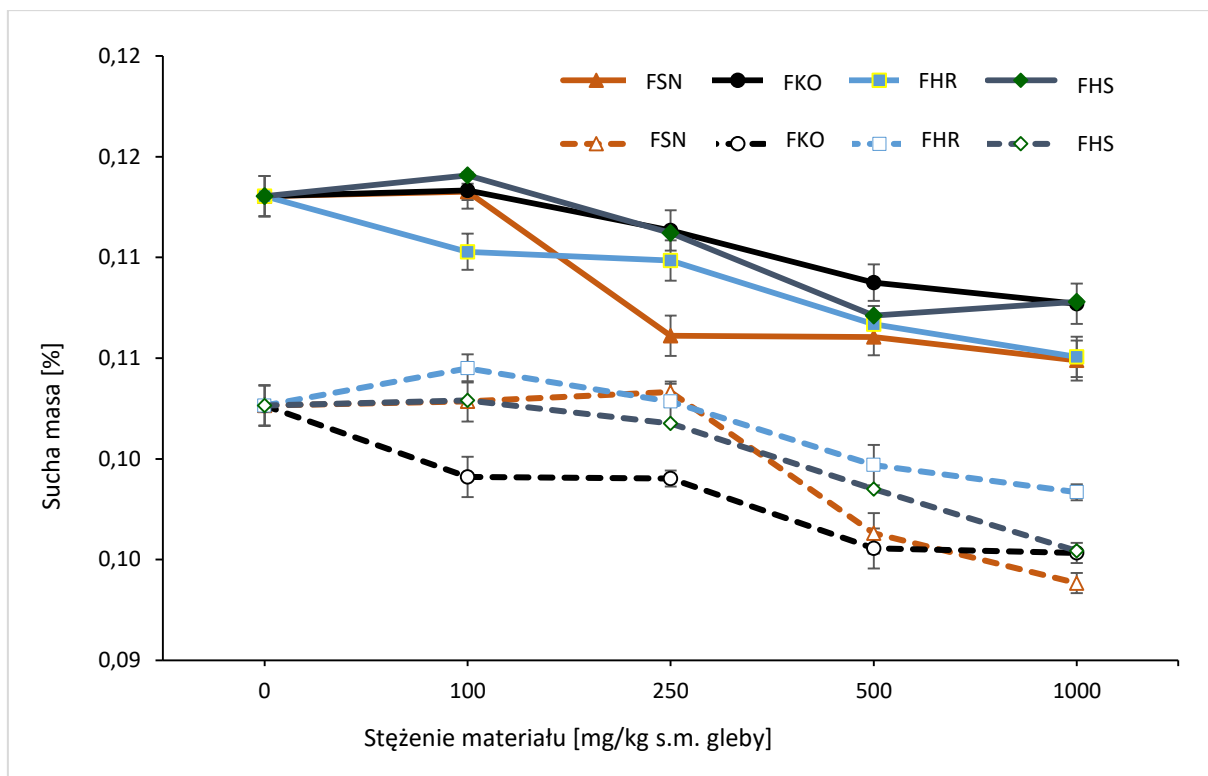
Rys.2.41. Ocena makroskopowa (zdjęcia cyfrowe) organów podziemnych i nadziemnych roślin jedno- i dwuliściennych poddanych działaniu folii wytłoczonej z estru skrobiowego HS/4/50/30/B



Rys.2.42. Wpływ folii wytłoczonej ze skrobi natywnej i jej estrów o najwyższym DS na zawartość chlorofilu całkowitego (a) i karotenoidów (b), w sadzonkach owsa. Dane wyrażono jako średnią z trzech powtórzeń dla każdego stężenia



Rys.2.43. Wpływ folii wytłoczonej ze skrobi natywnej i jej estrów o najwyższym DS na zawartość chlorofilu całkowitego (c) i karotenoidów (d) w liściach rzodkiewki. Dane wyrażono jako średnią z trzech powtórzeń dla każdego stężenia



Rys.2.44. Zmiany suchej masy roślin poddanych działaniu badanych folii wyrażone jako procent wartości w roślinach kontrolnych (rośliny kontrolne = 100% suchej masy). Linie ciągłe przedstawiają zmiany suchej masy owsa, a kropkowane, zmiany suchej masy rzodkiewki. Dane wyrażono jako średnią z trzech powtórzeń dla każdego stężenia

3. Wnioski

Na podstawie dyskusji wyników z przeprowadzonych badań sformułowano następujące wnioski:

- ❖ Pomyślnie przeprowadzono dwuetapową syntezę średniopodstawionych estrów skrobi z czystym kwasem oleinowym i hydrolizatami wysokooleinowych olejów roślinnych,
- ❖ Lipazy grzybowe z *T. lanuginosus* okazały się odpowiednim katalizatorem zarówno dla reakcji hydrolizy olejów bogatych w nienasycone kwasy tłuszczowe, jak i do estryfikacji z wykorzystaniem tych kwasów jako donorów grup acylowych,
- ❖ Dzięki zastosowaniu niejonowego surfaktanta jako czynnika obniżającego napięcie powierzchniowe i czynnika ochraniającego centrum aktywne enzymu uzyskano wysoką wydajność i efektywność reakcji estryfikacji,
- ❖ Przeprowadzenie enzymatycznej estryfikacji skrobi w układzie trójskładnikowym (hydrofilowa ciecz jonowa [BMIM]Cl - surfaktant P80 - kwasy tłuszczowe) pozwoliło na uzyskanie jej hydrofobowych pochodnych o wyższym DS w porównaniu z innymi metodami z zastosowaniem układów jedno- lub współrozpuszczalnikowych,
- ❖ Folie wytłaczane z plastyfikowanych estrów skrobi charakteryzowały się lepszymi właściwościami mechanicznymi, wyższą hydrofobowością i niższą absorpcją wody w porównaniu do folii wytłaczanych ze splastyfikowanej skrobi natywnej,
- ❖ Zastosowanie estrów skrobi z wyższymi kwasami tłuszczowymi do otrzymywania folii nie wpłynęło negatywnie na biodegradowalność i wpływ tych materiałów na rośliny jedno- i dwuliścienne,
- ❖ Materiały polimerowe, takie jak estry skrobi z wyższymi kwasami tłuszczowymi o poprawionych właściwościach przetwórczych, dają nadzieję na ich zastosowanie jako głównych komponentów lub kompatybilizatorów w produkcji nowych, ekologicznych i biodegradowalnych opakowań.

IV. LITERATURA

- Aberle, T., Burchard, W., Vorwerg, W., Radosta, S. (1994). Conformational contributions of amylose and amylopectin to the structural properties of starches from various sources. *Starch/Stärke*, 46, 329–335.
- Aburto, J., Alric, I., Borredon, E. (1999). Preparation of long – chain esters of starch using fatty acid chlorides in the absence of an organic solvent. *Starch-Stärke*, 51, 132-135.
- Aburto, J., Alric, I., Borredon, E. (2005). Organic solvent – free transesterification of various starches with lauric acid methyl ester and triacyl glycerides. *Starch-Stärke*, 57, 145-152.
- Aburto, J., Thiebaud, S., Alric, I., Borredon, E., Bikiaris, D., Prinos, J., Panayiotou, C. (1997). Properties of octanoated starch and its blends with polyethylene. *Carbohydrate Polymers*, 34, 1–2, 101-112.
- Acker, L. (1982). The role of starch lipids among cereal lipids, their composition and their importance for the baking properties of wheat flours. *Getreide Mehl Brot*, 36, 291-295.
- Adak, S., Banerjee, R. (2016). A green approach for starch modification: Esterification by lipase and novel imidazolium surfactant. *Carbohydrate Polymers*, 150, 359–368.
- Ai, Y., Jane, J. (2018). *Understanding Starch Structure and Functionality*, W: Sjö, M., Nilsson, L., (red.), *Starch in Food: Structure, Function and Application*, (wyd.2), Woodhead Publishing, Cambridge.
- Alcázar-Alay, S.C., Meireles, M. A. A. (2015). Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. *Food Science and Technology*, 35, 2, 215-236.
- Alexander, R. J. (1995). Potato starch: New prospects for an old product. *Cereal Foods World* 40:763–764.
- Ali Shah, A., Hasan, F., Hameed, A., Ahmed, S. (2008). Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, 26, 246–265.
- Angellier, H., Molina-Boisseau, S., Dole, P., Dufresne, A. (2006) Thermoplastic starch-waxy maize starch nanocrystals nanocomposites. *Biomacromolecules*, 7, 531-539.
- Ashogbon, A.O., Akintayo, E.T. (2014). Recent trend in the physical and chemical modification of starches from different botanical sources: A review, *Starch/Stärke*, 66, 41-57.
- Averous, L. (2004). Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: a review. *Journal of Macromolecular Science, Part C – Polymer Reviews* , 44 (3), 231 – 274 .
- Averous, L., Boquillon, N. (2004). Biocomposites based on plasticized starch: Thermal and mechanical behaviours. *Carbohydrate Polymers*, 56, 111–122.
- Averous, L., Fauconnier, N., Moro, L., Fringant, C. (2000). Blends of thermoplastic starch and polyesteramide: processing and properties. *Journal of Applied Polymer Science*, 76, 7, 1117-1128.
- Averous, L., Moro, L., Dole, P., Fringant, C. (2000). Properties of thermoplastic blends: starch – polycaprolactone. *Polymer*, 41, 4157 – 4167.
- Bajer, D., Kaczmarek, H., Bajer, K. (2013). Physicochemical and morphological properties of different types of starch exposed to UV radiation: a comparative studies. *Carbohydrate Polymers*, 98, 477-482.
- Bajer, K. (2015). Skrobia jako potencjalny surowiec materiałowy. *Biotworzywa*, 1, 30-34.
- Ball, S., Guan H-P., James, M., Myers, A., Keeling, P., Mouille, G., Bule, A., Colonna, P., Preiss, J. (1996). From Glycogen to Amylopectin: A Model for the Biogenesis of the Plant Starch Granule. *Cell*, 86, 349–352.
- Ball, S., van de Wal M.H.B.J., Visser, R.G.F. (1998). Progress in understanding the biosynthesis of amylose. *Trends in Plant Science*, 3, 462 – 467.

- Bao, J., Xing, J., Phillips, D. L., Corke, H. (2003). Physical properties of octenyl succinic anhydride modified rice, wheat, and potato starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2283–2287.
- Barikani, M., Mohammadi, M. (2007). Synthesis and characterization of starch-modified polyurethane. *Carbohydrate Polymers*, 68(4), 773–780.
- Bartkowiak, A., Mizielńska, M., Sumińska, P., Romanowska-Osuch, A., Lisiecki, S. (2016). *Innovations in Food Packaging Materials*, W: Nedović, V., Raspor, P., Lević J., Šaponjac, V.T., Barbosa-Cánovas, G.V. (red.), *Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and Quality Food*, Food Engineering Series, Springer International Publishing, Szwajcaria, 383-412.
- Bastos, D.C., Santos, A.E.F., Silva M.L.V.Jd., Simao, R.A. (2009). Hydrophobic corn starch thermoplastic films produced by plasma treatment. *Ultramicroscopy*, 109 (8), 1089–1093.
- Bertoft, E. (2017). Understanding Starch Structure: Recent Progress. *Agronomy*, 7, 56 – 84.
- Bertoft, E., Piyachomkwan, K., Chatakanonda, P., Sriroth, K. (2008). Internal unit chain composition in amylopectins. *Carbohydrate Polymers*, 74, 527–543.
- Besheer, A., Hause, G., Kressler, J., Mäder, K. (2007). Hydrophobically modified hydroxyethyl starch: Synthesis, characterization, and aqueous self-assembly into nano-sized polymeric micelles and vesicles. *Biomacromolecules*, 8, 2, 359-367.
- Bhattacharya, M. (1998). Stress relaxation of starch/synthetic polymer blends. *Journal of Materials Science*, 33, 4131 – 4139.
- Biswas, A., Shogren, R.L., Stevenson, D.G., Willett, J.L., Bhowmik, P.K. (2006). Ionic liquids as solvents for biopolymers: Acylation of starch and zein protein. *Carbohydrate Polymers* 66, 546–550.
- Biswas, A., Shogren, R.L., Willett, J.L. (2009). Ionic liquid as a solvent and catalyst for acylation of maltodextrin. *Industrial Crops and Products*, 30, 172–175.
- Bogacheva, T.Y., Morris, V.J., Ring S.G., Hedley C.L. (1998). The granular structure of C-type pea starch and its role in gelatinization. *Biopolymers*, 45, 323–332.
- Bohrisch, J., Vorwerg, W., Radosta, R. (2004). Development of hydrophobic starch. *Starch/Stärke*, 56, 322 - 329.
- Braşoveanu, M., Nemtanu, M. R. (2014). Behaviour of starch exposed to microwave radiation treatment. *Starch/Stärke*, 66 (1-2), 3-14.
- Briassoulis, D. (2004). An Overview on the Mechanical Behaviour of Biodegradable Agricultural Films, *Journal of Polymers and the Environment*, 12, 65-81.
- Buléon A, Colonna P, Planchot V, Ball S. (1998). Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 23, 85-112.
- Buleon, A., Cotte, M., Putaux, J.L., D'hulst, C., Susini, J. (2014). Tracking sulfur and phosphorus within single starch granules using synchrotron X-ray microfluorescence mapping. *Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects*, 1840, 113 – 119.
- Carvalho, A.J.F., Curvelo, A.A.S., Gandini, A. (2005). Surface chemical modification of thermoplastic starch: reactions with isocyanates, epoxy functions and stearoyl chloride. *Industrial Crops and Products*, 21, 331–336.
- Carvalho, A.J.F., Job A.E., Alves, N., Curvelo, A.A.S., Gandini, A. (2003). Thermoplastic starch/natural rubber blends. *Carbohydrate Polymers* 53, 95-99.
- Chaléat, C., Halley, Peter J., Truss, R. W. (2014). Mechanical properties of starch-based plastics, W: Halley, P.J., Avérous, L.R. (red.), *Starch polymers: from genetic engineering to green applications*, Elsevier, Burlington, 187-209.
- Chandra, R., Rustgi, R. (1997). Biodegradation of maleated linear low – density polyethylene and starch blends. *Polymer Degradation and Stability*, 56, 185 – 202 .

- Chang, Y.P., Abd Karim, A., Seow, C.C. (2006). Interactive plasticizing-antiplasticizing effects of water and glycerol on the tensile properties of tapioca starch films. *Starch - Stärke*, 55, 304-312.
- Chemistry Stack Exchange. (2019). <https://chemistry.stackexchange.com/questions/58080/bonding-between-amylopectin-and-amylose>
- Chen, H.M., Huang, Q., Fu, X., Luo, F.X. (2014). Ultrasonic effect on the octenyl succinate starch synthesis and substitution patterns in starch granules. *Food Hydrocolloids*, 35, 636–643.
- Chen, Q., Yu, H., Wang, L., Abdin, Z., Chen, Y., Wang, J., Zhou, W., Yang, X., Khan, R.U., Zhang, H., Chen, X. (2015). Recent progress in chemical modification of starch and its applications. *RSC Advances*, 5, 67459–67474.
- Chi, H., Xu, K., Xue, D., Song, C., Zhang, W., Wang, P. (2007). Synthesis of dodecenyl succinic anhydride (DDSA) corn starch. *Food Research International*, 40, 232–238.
- Chiu, Ch., Solarek, D. (2009). *Modification of Starches*, W: BeMiller, J., Whistler, R., (red.), *Starch: Chemistry and Technology*, (wyd. 3), Academic Press, Cambridge.
- Chocyk, D., Gładyszewska, B., Ciupak, A., Oniszczyk, T., Mościcki, L., Andrzej Rejak, A. (2015). Influence of water addition on mechanical properties of thermoplastic starch foils. *International Agrophysics*, 29, 267-275.
- Chung, H.J., Liu, Q., Hoover, R. (2009). The impact of annealing and heat–moisture treatments on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. *Carbohydrate Polymers*, 75, 436–447.
- Chung, H.J., Liu, Q., Hoover, R. (2010). Effect of single and dual hydrothermal treatments on the crystalline structure, thermal properties and nutritional fractions of pea, lentil and navy bean starches. *Food Research International*, 43, 501-508.
- Clarke, C.J., Tu, W.-C., Levers, O., Bröhl, A., Hallett, J., P. (2018). Green and sustainable solvents in chemical processes. *Chemical Reviews*, 118, 747–800.
- Combrzyński, M., Mościcki, L., Rejak, A., Wójtowicz, A., Oniszczyk, T. (2013). Selected mechanical properties of starch films. *Teka. Commission of Motorization and Energetics in Agriculture*, 13 (2), 7–12.
- Corradini, E., Medeiros, E., Carvalho, A., Curvelo, A., Mattoso, L. (2006). Mechanical and morphological characterization of starch/zein blends plasticized with glycerol. *Journal of Applied Polymer Science*, 101, 4133-4139.
- Cunha, A.G., Gandini, A. (2010). Turning polysaccharides into hydrophobic materials: a critical review. Part 2. Hemicelluloses, chitin/chitosan, starch, pectin and alginates. *Cellulose*, 17, 1045–1065.
- Cyras, V.P., Zenklusen, M.C., Vazquez, A. (2006). Relationship between structure and properties of modified potato starch biodegradable films. *Journal of Applied Polymer Science*, 101, 4313–4319.
- Debet, M.R., Gidley, M.J. (2006). Three classes of starch granule swelling: influence of surface proteins and lipids. *Carbohydrate Polymers*, 64, 452 – 465.
- Debiagi, F., Mello, L.R.P.F., Mali, S. (2018). Thermoplastic starch-based blends: processing, structural, and final properties, W: Barbosa, S.E., García, M.A., Castillo, L., Lopez, O.V. (red.), *Starch-based materials in food packaging*, (wyd.1), Academic Press, Cambridge, 153-186.
- Deeyai, P., Suphantharika, M., Wongsagonsup, R., Dangtip, S. (2013). Characterization of modified tapioca starch in atmospheric argon plasma under diverse humidity by FTIR spectroscopy. *Chinese Physics Letters*, 30, 18103- 4.
- Desalegn, T., Garcia, I.J.V., Titman, J., Licence, P., Chebude, Y. (2015). Synthesis of starch vernolate in 1- butyl – 3 – methylimidazolium chloride ionic liquid. *Starch - Stärke*, 67, 200 – 203.

- Desalegn, T., Garcia, I.J.V., Titman, J., Licence, P., Diaz, I., Chebude, Y. (2014). Enzymatic synthesis of epoxy fatty acid starch ester in ionic liquid–organic solvent mixture from vernonia oil. *Starch/Stärke*, 66, 385–392.
- Dias, A.B., Muller, C.M.O., Larotonda, F.D.S., Laurindo, J.B. (2010). Biodegradable films based on rice starch and rice flour. *Journal of Cereal Science*, 51, 213–219.
- Din, Z., Xiong, H., Fei, P. (2017). Physical and chemical modification of starches: A review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 2691- 2705.
- Diop, C.I., Li, H.L., Xie, J., Shi, J. (2011a). Effects of acetic acid/acetic anhydride ratios on the properties of corn starch acetates. *Food Chemistry*, 126, 1662–1669.
- Diop, C.I., Li, H.L., Xie, J., Shi, J. (2011b). Impact of the catalytic activity of iodine on the granule morphology, crystalline structure, thermal properties and water solubility of acetylated corn (*Zea mays*) starch synthesized under microwave assistance. *Industrial Crops and Products*, 33, 302–309.
- Doane, W.M. (1994). Opportunities and challenges for new industrial uses of starch. *Cereal Foods World*, 39, 556-563.
- Drummond, K.M., Hopewell, J.L., Shanks, R.A. (2000). Crystallization of low-density polyethylene and linear low-density polyethylene-rich blends. *Journal of Applied Polymer Science*, 78, 1009 -1016.
- Eckstein, M., Wasserscheid, P., Kragl, U. (2002). Enhanced enantioselectivity of lipase from *Pseudomonas* sp. at high temperatures and fixed water activity in the ionic liquid, 1-butyl-3-methylimidazolium bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]amide. *Biotechnology Letters*, 24, 763–767.
- Fang, J.M., Fowler, P.A., Escrig, C., Gonzalez, R., Costa, J.A., Chamudis, L. (2005). Development of biodegradable laminate films derived from naturally occurring carbohydrate polymers, *Carbohydrate Polymers*, 60, 39–42.
- Fang, J.M., Fowler, P.A., Tomkinson, J., Hill, C.A.S. (2002). The preparation and characterisation of a series of chemically modified potato starches. *Carbohydrate Polymers*, 47, 245–252.
- Fanta, G.F., Swanson, C.L., Doane, W.M. (1992). Complexing between starch and poly(ethylene-co-acrylic acid) - a comparison of starch varieties and complexing conditions. *Carbohydrate Polymers*, 17, 51-58.
- Fernandes, M.L.M., Krieger, N., Baron, A.M., Zamora, P.P., Ramos, L.P., Mitchell, D.A. (2004). Hydrolysis and synthesis reactions catalysed by *Thermomyces lanuginosus* lipase in the AOT/Isooctane reversed micellar system. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 30, 43–49.
- Fernandez-Lafuente, R. (2010). Lipase from *Thermomyces lanuginosus*: Uses and prospects as an industrial biocatalyst. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 62, 197–212.
- Fortuna, T., Rożnowski, J. (2002). Skrobie modyfikowane chemicznie, ich właściwości i zastosowanie. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 09, 2, 6-29.
- Freitas, R.A., Paula, R.C., Feitosa, J.P.A., Rocha, S., Sierakowski, M.R. (2004). Amylose contents, rheological properties and gelatinization kinetics of yam (*Dioscorea alata*) and cassava (*Manihot utilissima*) starches. *Carbohydrate Polymer*, 55, 3–8.
- Gadhve, R.V., Das, A., Mahanwar, P.A., Gadekar, P.T. (2018). Starch Based Bio-Plastics: The Future of Sustainable Packaging. *Open Journal of Polymer Chemistry*, 8, 21-33.
- Gao, J., Luo, Z., Luo, F. (2012). Ionic liquids as solvents for dissolution of corn starch and homogeneous synthesis of fatty-acid starch esters without catalysts. *Carbohydrate Polymers*, 89, 1215–1221.
- Ghanbarzadeh, B., Almasi, H., Entezami, A.A. (2011). Improving the Barrier and Mechanical Properties of Corn Starch-Based Edible Films: Effect of Citric Acid and Carboxymethyl Cellulose. *Industrial Crops and Products*, 33, 229-235.

- Gilet, A., Quettier, C., Wiatz, V., Bricout, H., Ferreira, M., Rousseau, C., Monflier, E., Tilloy, S. (2018). Unconventional media and technologies for starch etherification and esterification. *Green Chemistry*, 20, 1152-1168.
- Girija, B., Sailaja, R. (2006). Low – density polyethylene/plasticized tapioca starch blends with the low – density polyethylene functionalized with maleate ester: Mechanical and thermal properties. *Journal of Applied Polymer Science*, 101, 1109- 1120.
- Graafa, R.A., Karman, A.P., Janssen, L.P.B.M. (2003). Material Properties and Glass Transition Temperatures of Different Thermoplastic Starches After Extrusion Processing. *Starch/Stärke*, 55, 80–86.
- Gracza, R. (1965) Minor Constituents of Starch. W: Whistler, R.J., Paschall, E.F., BeMiller, J.N., Roberts, H.J. (red.) *Starch: Chemistry and Technology*, Academic Press, New York, 105–131.
- Griffin, G. (1977). Synthetic/resin based compositions. United States Patent 4125495.
- Gu, J.D. (2003). Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent research advances. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 52, 69–91.
- Han, Z., Zeng, X., Zhang, B., Yu, S. (2009). Effect of pulsed electric fields (PEF) treatment on the properties of corn starch. *Journal of Food Engineering*, 93, 318–323.
- Heinze, T., Liebert, T., Heinze, U., Schwikal, K. (2004). Starch derivatives of high degree of functionalization: Carboxymethyl starches. *Cellulose*, 11, 239–245.
- Hennen-Bierwagen, T.A., James, M.G., Myers, A.M. (2012). Involvement of debranching enzymes in starch biosynthesis. W: Tetlow, I. (red.), *Starch, Origins, Structure and Metabolism. Essential Reviews in Experimental Biology*, The Society for Experimental Biology, London, 179–215.
- Hizukuri, S., Takagi T. (1984). Estimation of the distribution of molecular weight for amylose by the low-angle laser-light-scattering technique combined with high-performance gel chromatography. *Carbohydrate Research*, 134, 1, 1-10.
- Hizukuri, S., Takeda, Y., Maruta, N., Juliano, B.O. (1989). Molecular structure of rice starch. *Carbohydrate Research*, 189, 227–235.
- Hizukuri, S., Takeda, Y., Yasuda, M., Suzuki, A. (1981). Multi-branched nature of amylose and the action of de-branching enzymes. *Carbohydrate Research*, 94, 205–213.
- Hong, J., Zeng, X-A., Brennan, C.S., Brennan, M., Han, Z. (2016). Recent advances in techniques for starch esters and the applications: A review. *Foods*, 5, 50 – 64.
- Hoover, R. (2001). Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: review. *Carbohydrate Polymers*, 45, 253-267.
- Hoover, R., Manuel, H. (1996). Effect of heat–moisture treatment on the structure and physicochemical properties of legume starches. *Food Research International*, 29, 731–750.
- Hoover, R., Swamidas, G., Vasanthan, T. (1993). Studies on the physicochemical properties of native, defatted and heat–moisture treated pigeon pea (*Cajanus cajan* L.) starch. *Carbohydrate Research*, 246, 185–203.
- Horchani, H., Chaabouni, M., Gargouri, Y., Sayari, A. (2010). Solvent free lipase-catalyzed synthesis of long-chain esters using microwave heating: Optimization by response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 79, 466– 474.
- Hu, Y., Wang, Q., Tang, M. (2013). Preparation and properties of Starch-g-PLA/poly(vinyl alcohol) composite film. *Carbohydrate Polymers*, 96, 384 - 388.
- Huang, Z.-Q., Lu, J.-P., Li, X.-H., Tong, Z.F. (2007). Effect of mechanical activation on physicochemical properties and structure of cassava starch. *Carbohydrate Polymers*, 68, 128–135.
- Huneault, M., Li, H. (2007). Morphology and properties of compatibilized polylactide/thermoplastic starch blends. *Polymer*, 48, 1, 270-280.

- Hunt, P.A., Ashworth, C.R., Matthews, R.P. (2015). Hydrogen bonding in ionic liquids. *Chemical Society Review*, 44, 1257–1288.
- Iida, Y., Tuziuti, T., Yasui, K., Towata, A., Kozuka, T. (2008). Control of viscosity in starch and polysaccharide solutions with ultrasound after gelatinization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), 140-146.
- Ikegwu, O.J., Okechokwu, P.E., Ekumankana, E.O. (2010). Physico-chemical and pasting characteristics of flour and starch from *Achi Brachystegia eurycomaseed*. *Journal of Food Technology*, 8(2), 58–66.
- Issa, A., Ibrahim, S.A., Tahergorabi, R. (2016). Sweet Potato Starch/Clay Nanocomposite Film: New Material for Emerging Biodegradable Food Packaging. *MOJ Food Processing & Technology*, 3(3), 313-315.
- Jacobs H., Mischenko N., Koch M.H.J., Eerlingen R.C., Delcour J.A., Reynaers H. (1998). Evaluation of the impact of annealing on gelatinisation at intermediate water content of wheat and potato starches: A differential scanning calorimetry and small angle X-ray scattering study. *Carbohydrate Research*, 306, 1-10.
- Jagannath, J.H., Nadanasabapathi, S., Bawa, A.S. (2006). Effect of starch on thermal, mechanical, and barrier properties of low density polyethylene film. *Journal of Applied Polymer Science*, 99, 3355–3364.
- Jane, J. (2009). Structural Features of Starch Granules II, W: BeMiller, J., Whistler, R. (red.), *Starch: Chemistry and Technology*, (wyd.3), Academic Press, Cambridge.
- Jane, J., Chen, Y.Y., Lee, L.F., Mcpherson, A.E., Wong, K.S., Radosavljevic, M., Kasemsuwan, T. (1999). Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. *Cereal Chemistry*, 76, 629-637.
- Jang, B., Huh, S., Jang, J., Bae, Y. (2001). Mechanical properties and morphology of the modified HDPE/starch reactive blend. *Journal of Applied Polymer Science*, 82, 3313–3320.
- Jie, M.G., Peng, W., Sheng, M.X., Xing, Z., Tong, Z. (2006). Crosslinking of corn starch with sodium trimetaphosphate in solid state by microwave irradiation. *Journal of Applied Polymer Science*, 102, 5854-5860.
- Junistia, L., Sugih, A.K., Manurung, R., Picchioni, F., Janssen, L.P.B.M., Heeres, H.J. (2008) Synthesis of higher fatty acid starch esters using vinyl laurate and stearate as reactants, *Starch-Stärke*, 60, 12, 667- 675.
- Juszczak, L. (2001). Struktura powierzchniowa ziaren skrobi. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej w Krakowie, Technologia Żywności*, 13, 73-86.
- Jyothi, A.N., Moorthy, S.N., Sreekumar, J.N., Rajasekharan, K.N. (2007). Studies on the properties of citrate derivatives of cassava (*Manihot esculenta Crantz*) starch synthesized by microwave technique. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 871–879.
- Jyothi, A.N., Rajasekharan, K.N., Moorthy, S.N., Sreekumar, J. (2005). Microwave-assisted synthesis and characterization of succinate derivatives of cassava (*Manihot esculenta Crantz*) starch. *Starch-Stärke*, 57, 556–563.
- Kaewtatip, K., Tanrattanakul, V. (2008). Preparation of cassava starch grafted with polystyrene by suspension polymerization. *Carbohydrate Polymers*, 73, 647-655.
- Kalambur, S., Rizvi, S. (2006). An overview of starch-based plastic blends from reactive extrusion. *Journal of Plastic Film & Sheeting*, 22, 39–57.
- Kapuśniak, J., Jochym, K., Bajer, K., Bajer, D. (2011). Przegląd metod chemicznej modyfikacji skrobi. *Przemysł Chemiczny*, 90, 8, 1521- 1526.
- Kapuśniak, J., Siemion P. (2007). Thermal reactions of starch with long-chain unsaturated fatty acids. Part 2. Linoleic acid. *Journal of Food Engineering*, 78, 323-332.
- Karkalas, J., Tester, R.F., Morrison, W.R. (1992). Properties of damaged starch granules. I. Comparison of a micromethod for the enzymic determination of damaged starch with the standard AACC and Farrand methods. *Journal of Cereal Science*, 16, 237–251.

- Kaseem, M., Hamad, K., Deri, F. (2012). Thermoplastic starch blends: A review of recent works. *Polymer Science*, 54, 2, 165–176.
- Kim, H.S., Hwang, D.K., Kim, B.Y., Baik, M.Y. (2012). Cross-linking of corn starch with phosphorus oxychloride under ultrahigh pressure. *Food Chemistry*, 130, 977–980.
- Klein, B., Vanier, N.L. Moomand, K., Pinto, V.Z., Colussi, R., Da Rosa Zavareze, E., Dias, A.R.G. (2014). Ozone oxidation of cassava starch in aqueous solution at different pH. *Food Chemistry*, 155, 167–173.
- Koch, K. (2018). Starch-based films, W: Sjöö, M., Nilsson, L., (red.), *Starch in food. Structure, function and applications*. (wyd.2), Woodhead Publishing, Cambridge, 747–767.
- Koo, S.H., Lee, K.Y., Lee, H.G. (2010). Effect of cross-linking on the physicochemical and physiological properties of corn starch. *Food Hydrocolloids*, 24, 6, 619–625.
- Kubisa, P. (2006). Perspektywy zastosowań cieczy jonowych w chemii polimerów. *Polimery*, 51, 7-8, 485 – 490.
- Lack, S., Dulong, V., Picton, L., Cerf, D.L., Condamine, E. (2007). High-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy studies of polysaccharides crosslinked by sodium trimetaphosphate: a proposal for the reaction mechanism. *Carbohydrate Research*, 342, 7, 943 - 953.
- Landreau, E., Tighzert, L., Bliard, C., Berzin, F., Lacoste, C. (2009). Morphologies and properties of plasticized starch/polyamide compatibilized blends. *European Polymer Journal*, 45, 2609–2618.
- Lappalainen, K., Karkkainen, J., & Lajunen, M. (2013). Dissolution and depolymerization of barley starch in selected ionic liquids. *Carbohydrate Polymers*, 93, 89 – 94.
- Lavelle, P., Spain, A.V. (2005). *Soil Ecology. Soil Organisms*, Springer, New Delhi, India.
- Lawal, O.S., Storz, J., Storz, H., Lohmann, D., Lechner, D., Kulicke, W.D. (2009). Hydrogels based on carboxymethyl cassava starch cross-linked with di- or polyfunctional carboxylic acids: Synthesis, water absorbent behavior and rheological characterizations. *European Polymer Journal*, 45, 12, 3399 -3408.
- Lawrence, S.S.T., Walia, P.S., Felker, F., Willett, J.L. (2004). Starch- filled ternary polymer composites: Room temperature tensile properties. *Polymer Engineering Science*, 44, 1893–1846.
- Leja, K., Lewandowicz, G. (2010). Polymer Biodegradation and Biodegradable Polymers – a Review. *Polish Journal of Environmental Studies*, 19, 2, 255–266.
- Leszczyński, W. (2006). Zastosowanie skrobi modyfikowanych w przemyśle spożywczym (II). Skrobie chemicznie modyfikowane. *Przegląd piekarski i cukierniczy*, 6, 6–8.
- Lewandowicz, G., Soral-Smietana, M., (2004). Starch modification by iterated syneresis. *Carbohydrate Polymers*, 56, 403–413.
- Li, D., Zhang, X., Tian, Y. (2016). Ionic liquids as novel solvents for biosynthesis of octenyl succinic anhydride-modified waxy maize starch. *International Journal of Biological Macromolecules Int. J. Biol. Macromol.*, 2016, 86, 119–125.
- Li, G., Favis, B.D. (2010). Morphology development and interfacial interactions in polycaprolactone/thermoplastic-starch blends. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 211, 321–333.
- Lin, R., Li, H., Long, H., Su, J., Huang, W., Wang, S. (2014). Optimization of lipase-catalyzed rosin acid starch synthesis by response surface methodology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 105, 104–110.
- Liu, H., Xie, F., Yu, L., Chen, L., Li, L. (2009). Thermal processing of starch-based polymers. *Progress in Polymer Science* 34, 1348–1368.
- Liu, P., Yu, L., Liu, H., Chen, L., Li, L. (2009). Glass transition temperature of starch studied by a high-speed DSC. *Carbohydrate Polymers*, 77, 250–253.

- Liu, W., Wang, Y.-J. and Sun, Z. (2004). Crystallization behavior of starch – filled polypropylene. *Journal of Applied Polymer Science*, 92, 484 – 492.
- Loercks, J., Pommeranz, W., Schmidt, H., Timmermann, R., Grigat, E., Schulz - Schlitte, W. (2001). Biodegradable polymeric mixtures based on thermoplastic starch. United States Patent 6,235,815.
- López, O.V., Castillo, L.A., Garcia, M.A., Villar, M.A., Barbosa, S.E. (2015). Food Packaging Bags Based on Thermoplastic Corn Starch Reinforced with Talc Nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 43, 18-24.
- López, O.V., Garcia M.A., Zaritzky N.E. (2007). Film forming capacity of chemically modified corn starches. *Carbohydrates Polymers*, 23, 573-581.
- Lu, X., Luo, Z., Fu, X., Xiao, Z. (2013). Two-step method of enzymatic synthesis of starch laurate in ionic liquids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 9882 –9891.
- Lu, X., Luo, Z., Yu, S., Fu, X. (2012). Lipase-catalyzed synthesis of starch palmitate in mixed ionic liquids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 9273–9279.
- Lu, Y., Tighzert, L., Berzin, F., Rondot, S. (2005). Innovative plasticized starch films modified with waterborne polyurethane from renewable resources. *Carbohydrate Polymers*, 61 (2), 174-182.
- Lu, Y.S., Tighzerta, L., Dole, P., Erre, D. (2005). Preparation and properties of starch thermoplastics modified with waterborne polyurethane from renewable resources. *Polymer*, 46, 9863–9870.
- Lucas, N., Bieniaime, Ch., Belloy, Ch., Queneudec, M., Silvestre, F., Nava-Saucedo, J-E. (2008). Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – A review. *Chemosphere*, 73, 429–442.
- Luo, Z., Zhou, Z. (2012). Homogeneous synthesis and characterization of starch acetates in ionic liquid without catalysts. *Starch/Stärke*, 64, 37–44.
- Ma, F., Hanna, M.A. (1999). Biodiesel production: a review. *Bioresource Technology*, 70 (1), 1-15.
- Ma, X., Yu, J. (2004). The plasticizers containing amide groups for thermoplastic starch. *Carbohydrate Polymers*, 57, 197–203.
- Ma, X., Yu, J., Wan, J.J. (2006). Urea and ethanolamine as a mixed plasticizer for thermoplastic starch. *Carbohydrate Polymers*, 64, 267-273.
- Maheshwari, R., Bharadwaj, G., Bhat, M.K. (2000). Thermophilic fungi: Their physiology and enzymes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64, 461–488.
- Mani, R., Bhattacharya, M. (1998). Properties of injection moulded starch/ synthetic polymer blends. III Effect of amylopectin to amylose ratio in starch . *European Polymer Journal*, 34 (10), 1467 – 1475.
- Mani, R., Bhattacharya, M. (2001). Properties of injection moulded blends of starch and modified biodegradable polyesters. *European Polymer Journal*, 37, 515 – 526.
- Marichelvam, M.K., Jawaaid, M. Asim, M. (2019). Corn and rice starch-based bio-plastics as alternative packaging materials. *Fibers*, 7, 32-44.
- Martin, O., Schwach, E., Avérous, L., Couturier, Y. (2001). Properties of biodegradable multilayer films based on plasticized wheat starch. *Starch/Stärke*, 53 (8), 372 – 380.
- Martinez-Bustos, F., Lopez-Soto, M., S.A.N. Martin-Martinez, E., Zazueta Morales, J. J., Velez Medina, J. J. (2007). Effects of high energy milling on same functional properties of jicama starch and cassava starch. *Journal of Food Engineering*, 78, 1212–1220.
- Masina, N., Choonara, Y.E., Kumar, P., du Toit, L.C., Govender, M., Indermun, S., Pillay, V. (2017). A review of the chemical modification techniques of starch. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1226-1236.

- Massicotte, L.P., Baille, W. E., Mateescu, M.A. (2008). Carboxylated high amylose starch as pharmaceutical excipients. Structural insights and formulation of pancreatic enzymes. *International Journal of Pharmaceutics*, 356, 1-2, 212-223.
- Matzinos, P., Tserki, V., Gianikouris, C., Pavlidou, E., Panayiotou, C. (2002). Processing and characterization of LDPE/starch/PCL blends. *European Polymer Journal*, 38, 1713–1720.
- Miladinov, V.D., Hanna, M.A. (2000). Starch esterification by reactive extrusion. *Industrial Crops and Products*, 11, 51–57.
- Mitrus, M., Wojtowicz, A., Moscicki, L. (2009). *Biodegradable Polymers and Their Practical Utility*, W: Janssen, L.P.B.M., Moscicki, L. (red.), Thermoplastic Starch: A Green Material for Various Industries, Wiley - VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Niemcy.
- Molenda, M., Stasiak, M., Horabik, J., Fornal, J., Błaszczak, W., Ornowski, A. (2006). Microstructure and mechanical parameters of five types of starch. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 15, 161–168.
- Muljana, H., Picchioni, F., Heeres, H.J., Janssen, L.P.B.M. (2009). Supercritical carbon dioxide (scCO₂) induced gelatinization of potato starch. *Carbohydrate Polymers*, 78, 511–519.
- Muljana, H., Picchioni, F., Heeres, H.J., Janssen, L.P.B.M. (2010a). Green starch conversions: Studies on starch acetylation in densified CO₂. *Carbohydrate Polymers*, 82, 653–662.
- Muljana, H., Picchioni, F., Heeres, H.J., Janssen, L.P.B.M. (2010b). Process - product studies on starch acetylation reactions in pressurised carbon dioxide. *Starch-Stärke*, 62(11), 566-576.
- Muljana, H., Picchioni, F., Knez, Z., Heeres, H.J., Janssen, L.P.B.M. (2011). Insights in starch acetylation in sub - and supercritical CO₂. *Carbohydrate Research*, 346 (10), 1224-1231.
- Nafchi, A.M., Moradpour, M., Saeidi, M., Alias, A.K. (2013). Thermoplastic starches: Properties, challenges and prospects. *Starch - Stärke*, 65, 61–72.
- Namazi, H., Fathi, F., Dadkhah, A. (2011). Hydrophobically modified starch using long-chain fatty acids for preparation of nanosized starch particles. *Scientia Iranica*, 18, 439–445.
- Nemtanu, M.R., Minea, R. (2006). Functional properties of corn starch treated with corona electrical discharges. *Macromolecular Symposia*, 525–528.
- Nikolic, V., Velickovic, S., Popovic, A. (2014) Biodegradation of Polystyrene- Graft-Starch Copolymers in Three Different Types of Soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 9877-9886.
- OECD/OCDE 208. (2006). Guidelines for the testing of chemicals. Terrestrial plant test: Seedling emergence and seedling growth test. Paris: Organization For Economic and Cooperation Development.
- Olett, A.L., Kirby, A.R., Clark, S.A., Parker, R., Smith, A.C. (1993). The effect of water content on the compaction behavior of potato starch. *Starch-Stärke*, 45, 51–55.
- Pal, J., Singhal, R.S., Kulkarni, P.R. (2002). Physicochemical properties of hydroxypropyl derivative from corn and amaranth starch. *Carbohydrate Polymers*, 48, 49–53.
- Parandoosh, S., Hudson, S.M. (1993). The acetylation and enzymatic degradation of starch films. *Journal of Applied Polymer Science*, 48, 787 - 791.
- Park, H., Lee, S., Chowdhury, S., Kang, T., Kim, H., Park, S., Ha, C. (2002). Tensile properties, morphology and biodegradability of blends of starch with various thermoplastics. *Journal of Applied Polymer Science*, 86, 2907 – 2915.
- Park, H.R., Chough, S.H., Yun, Y.H., Yoon, S.D. (2005). Properties of starch/PVA blend films containing citric acid as additive. *Journal of Polymers and the Environment*, 13, 375–382.
- Pedroso, A., Rosa, D. (2005). Mechanical, thermal and morphological characterization of recycled LDPE/corn starch blends. *Carbohydrate Polymers*, 59, 1 – 9 .
- Pérez, S., Baldwin, P.M., Gallant, D.J. (2009). *Structural Features of Starch Granules I*, W: BeMiller, J., Whistler, R. (red.), *Starch: Chemistry and Technology*, (wyd.3), Academic Press, Cambridge.

- Pernak, J. (2000). Ciecze jonowe – rozpuszczalniki XXI wieku. *Przemysł Chemiczny*, 79, 150-153.
- Pernak, J. (2003). Ciecze jonowe. Związki na miarę XXI wieku. *Przemysł Chemiczny*, 82, 521-523.
- Petersen, K., Nielsen, P., Olsen, M. (2001). Physical and mechanical properties of biobased materials – starch, polylactate and polyhydroxybutyrate. *Starch - Stärke*, 53, 356 – 361.
- Pimentel, T.A.P.F., Duraes, J.A., Drummond, A.L., Schlemmer, D., Falcao, R., Salas, M.J.A. (2007). Preparation and characterization of blends of recycled polystyrene with cassava starch. *Journal of Material Science*, 42, 7530–7536.
- Pkkahuta, C., Shobsnggobi, S., Varavimit, S. (2007). Effect of osmotic pressure on starch: New method of physical modification of starch. *Starch - Stärke*, 58, 78–90.
- Ptak, S., Roczowska, M., Zarski, A., Kapusniak, J. (2014). Esterification of starch with fatty acids. New opportunities and challenges. *Przemysł Chemiczny*, 4, 93, 472-479.
- Ptak, S., Żarski, A., Antczak, T., Kapuśniak, J. (2016). Estryfikacja skrobi ziemniaczanej kwasem oleinowym w obecności lipazy z *Candida antarctica* w polu mikrofalowym oraz w warunkach ogrzewania konwencjonalnego. *Polimery*, 61(6), 442-448.
- Ragauskas, A.J., Williams, C.K., Davison, B.H., Britovsek, G., Cairney, J., Eckert, C.A., Frederick Jr., W.J., Hallett, J.P., Leak, D.J., Liotta, C.L., Mielenz, J.R., Murphy, R., Templer, R., Tschaplinski, T. (2006). The path forward for biofuels and biomaterials. *Science*, 311, 484-489.
- Raghavan, D. Emekalam, A. (2001). Characterization of starch/polyethylene and starch/polyethylene/poly(lactic acid) composites. *Polymer Degradation and Stability*, 72, 509-517.
- Rahmouni, M., Lenaerts, V., Massuelle, D., Doelker, E., Leroux, J.C. (1993). Influence of physical parameters and lubricants on the compaction properties of granulated and non-granulated cross-linked high amylose starch. *Chemistry Pharmaceutical Bulletin*, 50, 1155–1162.
- Rajan, A., Prasad, V.S., Abraham, T.E. (2006). Enzymatic esterification of starch using recovered coconut oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 39, 265–272.
- Ramkumar, D., Bhattacharya, M., Vaidya, U. (1997). Properties of injection moulded starch/synthetic polymer blends – II. Evaluation of mechanical properties. *European Polymer Journal*, 33 (5), 729 – 743.
- Ratuszniak, E., Kubas, A. (2007). Wykorzystanie metody mikroskopowej do badania wielkości ziaren skrobi u różnych gatunków roślin. *Śląskie Prace Biologiczne*, 4, 93-107.
- Rivard, C., Moens, L., Roberts, K., Brigham, J., Kelley, S. (1995). Starch esters as biodegradable plastics: Effects of ester group chain length and degree of substitution on anaerobic biodegradation. *Enzyme and Microbial Technology*, 17, 848-852.
- Robyt, J. F. (2008). *Starch: Structure, Properties, Chemistry and Enzymology*, W: Fraser-Reid, B., Tatsuta, K., Thiem, J. (red.), Glycoscience, Springer-Verlag, Berlin.
- Rodriguez-Gonzalez F.J., Virgilio N., Ramsay B.A., Favis B.D. (2003). Influence of melt drawing on the morphology of one- and two-step processed LDPE/Thermoplastic starch blends. *Advances in Polymer Technology*, 22, 297–305.
- Rodriguez-Gonzalez, F.J., Ramsay, B.A., Favis, B.D. (2004). Rheological and thermal properties of thermoplastic starch with high glycerol content. *Carbohydrate Polymers*, 58, 139–147.
- Romero-Bastida C.A., Bello-Perez L., Garcia M.A., Martno M.N., Solorza-Feria J., Zaritzky, N.E. (2005). Physicochemical and microstructural characterization of films prepared by thermal and cold gelatinization from non-conventional sources of starches, *Carbohydrate Polymers*, 60, 235-244.

- Rosa, D.S., Bardi, M.A.G, Machado, L.D.B., Dias, D.B., Silva, L.G.A., Kodama, Y. (2009). Influence of thermoplastic starch plasticized with biodiesel glycerol on thermal properties of PP blends. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 97, 565–570.
- Rosa, D.S., Guedes, C.G.F., Carvalho C.L. (2007). Processing, thermal, mechanical and morphological characterization of post-consumer polyolefins/thermoplastic starch blends. *Journal of Material Science*, 42, 551-557.
- Rychter, P., Kawalec, M., Sobota, M., Kurcok, P., Kowalczyk, M. (2010). Study of aliphatic-aromatic copolyester degradation in sandy soil and its ecotoxicological impact. *Biomacromolecules*, 11(4), 839-847.
- Rychter, P., Kot, M., Bajer, K., Rogacz, D., Sisková, A., Kapusniak, J. (2016). Utilization of starch films plasticized with urea as fertilizer for improvement of plant growth. *Carbohydrate Polymers*, 137, 127–138.
- Sagar, A.D., Merrill, E.W. (1995). Properties of fatty-acid esters of starch. *Journal of Applied Polymer Science*, 5, 1647-1656.
- Sailaja, R., Chanda, M. (2002). Use of poly(ethylene-co-vinyl alcohol) as compatibilizer in LDPE/thermoplastic tapioca starch blends. *Journal of Applied Polymer Science*, 86, 12, 3126-3134.
- Salcido, C.S., Gonzalez, F.J., Hernandez, M.L., Esquivel, J.C. (2008). Effect of morphology on the biodegradation of thermoplastic starch in LDPE/TPS blends. *Polymer Bulletin*, 60, 677–688.
- Sánchez-Rivera, M.M., García-Suárez, F.J.L., Velázquez Del Valle, M., Gutierrez-Meraz, F., dan Bello-Pérez, L. (2005). Partial characterization of banana starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. *Carbohydrate Polymers*, 62, 50–56.
- Sandhu, H.P.S., Manthey, F.A., Simsek, S. (2012). Ozone gas affects physical and chemical properties of wheat (*Triticum aestivum* L.) starch. *Carbohydrate Polymers*, 87, 1261-1268.
- Sarazin, P., Li, G., Orts, W., Favis, B.D. (2008). Binary and ternary blends of polylactide, polycaprolactone and thermoplastic starch. *Polymer*, 49, 599 – 609.
- Schlemmer, D., Oliveira, E.R., Sales, M.J.A. (2007). Polystyrene/thermoplastic starch blends with different plasticizers, preparation and thermal characterization. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 87, 635–638.
- Seoud, O.A.E., Koschella, A., Fidale, L.C., Dorn, S., Heinze, T. (2007). Applications of ionic liquids in carbohydrate chemistry: A window of opportunities. *Biomacromolecules*, 8, 9, 2629 – 2647.
- Shin, B.Y., Lee S.I., Shin, Y.S., Balakrishnan, S., Narayan, R. (2004). Rheological, mechanical and biodegradation studies on blends thermoplastic starch and polycaprolactone. *Polymer Engineering & Science*, 44, 1429-1438.
- Shogren, R.L. (1996). Preparation, thermal properties, and extrusion of high-amylose starch acetates. *Carbohydrate Polymers*, 29, 57–62.
- Shogren, R.L., Biswas, A. (2010). Acetylation of starch with vinyl acetate in imidazolium ionic liquids and characterization of acetate distribution. *Carbohydrate Polymers*, 81, 149–151.
- Shogren, R.L., Biswas, A., Willett, J.L. (2010). Preparation and physical properties of starch stearates of low to high degree of substitution. *Starch - Stärke*, 62, 333-340.
- Simi, C.K., Abraham, E., E. (2007). Hydrophobic grafted and cross-linked starch nanoparticles for drug delivery. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 30 (3), 173-180.
- Singh, J., Kaur, L., McCarthy, O.J. (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications - A review. *Food Hydrocolloids*, 21, 1, 1-22.
- Sivapragasam, M., Moniruzzaman, M., Goto, M. (2016). Recent advances in exploiting ionic liquids for biomolecules: Solubility, stability and applications. *Biotechnology Journal*, 11(8), 1000-1013.

- Spectral Database for Organic Compounds, SDBS. (2019). National institute of advanced industrial science and technology. Tsukuba, Japan; <http://sdb.sdb.aist.go.jp>
- Sreedhar, B., Chattopadhyay, D.K., Karunakar, M.S.H., Sastry, A.R.K. (2006). Thermal and surface characterization of plasticized starch polyvinyl alcohol blends crosslinked with epichlorohydrin. *Journal of Applied Polymer Science*, 101, 25–34.
- Staroszczyk H., Tomasik P., Janas, P., Poreda, A. (2007a). Esterification of starch with sodium selenite and selenate. *Carbohydrate Polymers*, 69, 299-304.
- Staroszczyk, H. (2009a). Microwave-assisted silication of potato starch. *Carbohydrate Polymers*, 77, 506-515.
- Staroszczyk, H. (2009b). Microwave-assisted boration of potato starch. *Polimery*, 54, 31-41.
- Staroszczyk, H. (2011). Synthesis and characterization of starch cuprate. *Food Chemistry*, 129, 1217-1223.
- Staroszczyk, H., Fiedorowicz, M., Zhong, W., Janas, P., Tomasik, P. (2007b). Microwave-assisted solid-state sulphation of starch. *e-Polymers*, 140.
- Staroszczyk, H., Janas, P. (2010a). Microwave-assisted synthesis of zinc derivatives of potato starch. *Carbohydrate Polymers*, 80, 962-969.
- Staroszczyk, H., Janas, P. (2010b). Microwave-assisted preparation of potato starch silicated with silicic acid. *Carbohydrate Polymers*, 81, 599-606.
- Staroszczyk, H., Tomasik, P. (2005). Facile synthesis of potato starch sulfate magnesium salts. *e-Polymers*, 80.
- Stasiek, J. (2007). Wytłaczanie tworzyw polimerowych. Zagadnienia wybrane. Wydawnictwo Uczelniane UTP, Bydgoszcz.
- Stergiou, P.Y., Foukis, A., Filippou, M., Koukouritaki, M., Parapouli, M., Theodorou, L.G., Hatziloukas, E., Afendra, A., Pandey, A., Papamichael, E.M. (2013). Advances in lipase-catalyzed esterification reactions. *Biotechnology Advances*, 31, 1846-1859.
- Stoytcheva, M., Montero, G., Zlatev, R., León, J.A., Gochev, V. (2012). Analytical Methods for Lipases Activity Determination: A Review. *Current Analytical Chemistry*, 8, 400-4 07.
- Szymonska, J., Krok, F., Komorowska-Czepirska, E., Rebilas, K. (2003). Modification of granular potato starch by multiple deep-freezing and thawing. *Carbohydrate Polymers*, 52, 1–10.
- Tahlawy K.E., Venditti R., Pawlak J. (2008). Effect of alkyl ketene dimer reacted starch on the properties of starch microcellular foam using a solvent exchange technique. *Carbohydrate Polymers*, 73(1), 133–142.
- Takeda, Y., Hizukuri, S., Takeda, C., Suzuki, A. (1987). Structures of branched molecules of amyloses of various origins, and molecular fractions of branched and unbranched molecules. *Carbohydrate Research*, 165, 139–145.
- Tako, M., Tamaki, Y., Teruya, T., Takeda, Y. (2014). The Principles of Starch Gelatinization and Retrogradation. *Food and Nutrition Sciences*, 5, 280-291.
- Tegge, G., (2010). Skrobia i jej pochodne, (wyd.1), PTTŻ Oddział Małopolski, Kraków.
- Teixeira, E.M., Da Roz, A.L., Carvalho, A.J.F., Curvelo, A.A.S. (2007). The effect of glycerol/sugar/water and sugar/water mixtures on the plasticization of thermoplastic cassava starch. *Carbohydrate Polymers*, 69, 619–624.
- Tester, R.F., Debon, S.J.J. (2000). Annealing of starch- a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 27, 1-12.
- Thakore, I.M., Desai, S., Sarawade, B.D., Devi, S. (2001). Studies on biodegradability, morphology and thermomechanical properties of LDPE/ modified starch blends . *European Polymer Journal*, 37, 151 – 60.
- Thiebaud, S., Aburto, J., Alric, I., Borredon, E., Bikiaris, D., Prinos, J., Panayiotou, C. (1997). Properties of fatty - acid esters of starch and their blends with LDPE. *Journal of Applied Polymer Science*, 65, 705–721.

- Thomas, D.J., Atwell, W.A. (1998). Starch Structure, W: Starches, The American Association of Cereal Chemists, Saint Paul, 1-11.
- Tomasik, P. (1998). Wybrane zagadnienia z chemii żywności, Oficyna Wydawnicza DD, Kraków.
- Tomasik, P., Fiedorowicz, M., Para, A. (2004). Novelty in chemical modification of starch, W: Tomasik P., Yuryev, V. P., Bertoft, R., (red.), Starch: progress in structural studies, modifications and applications. Polish Society of Food Technologists, Kraków, 301-355.
- Tomasik, P., Schilling, C.H. (2004). Chemical modification of starch. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 59, 175–204.
- Ueno, K., Tokuda, H., Watanabe, M. (2010). Ionicity in ionic liquids: Correlation with ionic structure and physicochemical properties. *Journal of the Chemical Society Faraday Transactions*, 12, 1649–1658.
- Vaca-Garcia, C., Borredon, M., Gaseta, A. (2001). Determination of the degree of substitution (DS) of mixed cellulose esters by elemental analysis. *Cellulose*, 8, 225-231.
- Van Rantwijk, F., Madeira Lau, R., Sheldon, R. A. (2003). Biocatalytic transformations in ionic liquids. *Trends in Biotechnology*, 21, 131–138.
- Vašková, I., Alexy, P., Bugaj, P., Nahálková, A., Feranc, J., Mlynský, T. (2008). Biodegradable polymer packaging materials based on polycaprolactone, starch and polyhydroxybutyrate. *Acta Chimica Slovaca*, 1, 1, 301 – 308.
- Villeneuve, P., Muderhwa, J.M., Graille, J., Haas, M.J. (2000). Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical and molecular biological approaches. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 9, 113–148.
- Waigh, T.A., Hopkinson, I., Donald, A.M., Butler, M.F., Heidelbach, F., Riekel, C. (1997). Analysis of the Native Structure of Starch Granules with X-ray Microfocus Diffraction. *Macromolecules*, 30, 3813-3820.
- Walia, P.S., Lawton, J.W., Shogren, R.L. (2002). Mechanical properties of thermoplastic starch/poly(hydroxyl ester ether) blends: effect of moisture during and after processing. *Journal of Applied Polymer Science*, 84(1), 121-131.
- Walker, A., Ying, T., Torkelson, J. (2007). Polyethylene/starch blends with enhanced oxygen barrier and mechanical properties: effect of granule morphology damage by solid state shear pulverization. *Polymer*, 48 (4), 1066 – 1074.
- Wang, N., Yu, J., Chang, P., Ma, X. (2008). Influence of formamide and water on the properties of thermoplastic starch/poly(lactic acid) blends. *Carbohydrate Polymers*, 71, 109–118.
- Wang, N., Yu, J., Ma, X. (2008). Preparation and characterization of compatible thermoplastic dry starch/poly(lactic acid). *Polymer Composites*, 29, 551- 559.
- Wang, N., Yu, J., Ma, X., Ying W. (2007). The influence of citric acid on the properties of thermoplasticstarch/linear low- density polyethylene blends. *Carbohydrate Polymers*, 67, 446–453.
- Wang, S., Yu, J., Yu, J. (2005). Compatible thermoplastic starch/polyethylene blends by one - step reactive extrusion. *Polymer International*, 54, 279-285.
- Wang, X-L, Yang, K-K, Wang, Y-Z. (2003). Properties of starch blends with biodegradable polymers. *Journal of Macromolecular Science, Part C - Polymer Reviews*, 43, 3, 385–409.
- Wang, Y. , Sun , Z., Liu, W. (2003). Biodegradable materials from starch - grafted polymers. *International Application*, WO/2003/ 074604 , PCT/ US03/05661.
- Wang, Y-J., Wang, L. (2003). Physicochemical properties of common and waxy corn starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. *Carbohydrate Polymers*, 52, 3, 207–217.
- Wilkes, J.S. (2002). A short history of ionic liquids - from molten salts to neoteric solvents. *Green Chemistry*, 4, 73 – 80.
- Willet, J.L., (1992), US Patent 5 087 650.

- Williams, C.K., Hillmyer, M.A. (2008). Polymers from renewable resources: A perspective for a special issue of polymer reviews. *Polymer Reviews*, 48, 1, 1-10.
- Wilpiszewska, K., Szychaj, T. (2011). Ionic liquids: Media for starch dissolution, plasticization and modification. *Carbohydrate Polymers*, 86, 424–428.
- Wongsagonsup, R., Deeyai, P., Chaiwat, W., Horrungsiwat, S., Leejariensuk, K., Suphantharika, M., Fuongfuchat, A., Dangtip, S. (2014). Modification of tapioca starch by non-chemical route using jet atmospheric argon plasma. *Carbohydrate Polymers*, 102, 790-798.
- Xie, F., Zhang, B., Wang, D.K. (2017). Starch thermal processing: technologies at laboratory and semi-industrial scales, W: Villar, M.A., Barbosa, S.E., García, M.A., Castillo, L., Lopez, O.V., (red.), *Starch-based materials in food packaging; processing, characterization and applications*, (wyd.1), Academic Press, Cambridge, 187-227.
- Xie, W., Shao, L., Liu, Y. (2010). Synthesis of starch esters in ionic liquids. *Journal of Applied Polymer Science*, 116, 218–224.
- Xie, W., Wang, Y. (2011). Synthesis of high fatty acid starch esters with 1 – butyl – 3-methylimidazolium chloride as a reaction medium. *Starch - Stärke*, 63, 190-197.
- Xing, G.X., Zhang, S.F., Ju, B.Z., Yang, J.Z. (2006). Microwave-assisted synthesis of starch maleate by dry method. *Starch-Stärke*, 58, 464 – 467.
- Xu, Y., Miladinov, Y., Hanna, M.A. (2004). Synthesis and characterization of starch acetates with high substitution. *Cereal Chemistry*, 81, 735–740.
- Yang, J.H., Yu, J.G., Ma, X.F. (2006). A novel plasticizer for the preparation of thermoplastic starch. *Chinese Chemical Letters*, 17, 133–136.
- Yew, G.H., Mohd Yusof, A.M., Mohd Ishak, Z.A., Ishiaku, U.S. (2005). Water absorption and enzymatic degradation of poly(lactic acid)/rice starch composites. *Polymer Degradation and Stability*, 90, 488 – 500.
- Yokoyama, W., Renner-Nantz, J.J., Shoemaker, C.F. (1998). Starch molecular mass and size by size-exclusion chromatography in DMSO-LiBr coupled with multiple angle laser light scattering. *Cereal Chemistry*, 75, 530–535.
- Yoon, S.D., Chough, S.H., Park, H.R. (2006). Effects of additives with different functional groups on the physical properties of starch/PVA blend film. *Journal of Applied Polymer Science*, 100, 3733–3740.
- Yousif, E.I., Gadallah, M.G.E., Sorour, A.M. (2012). Physico-chemical and rheological properties of modified corn starches and its effect on noodle quality. *Annals of Agricultural Science*, 57(1), 19–27.
- Yu, S., Zhang, Y., Ge, Y., Zhang, Y., Sun, T., Jiao, Y., Zheng, X.Q. (2013). Effects of ultrasound processing on the thermal and retrogradation properties of nonwaxy rice starch. *Journal of Food Process Engineering*, 36(6), 793-802.
- Zarski, A., Bajer, K., Zarska, S., Kapusniak, J. (2019). From high oleic vegetable oils to hydrophobic starch derivatives: I. Development and structural studies. *Carbohydrate Polymers*, 214, 124–130.
- Zarski, A., Ptak, S., Siemion, P., Kapusniak, J. (2016). Esterification of potato starch by a biocatalysed reaction in an ionic liquid. *Carbohydrate Polymers*, 137, 657–663.
- Zelevnak, K.L., Hosney, R.C. (1987). The glass transition in starch. *Cereal Chemistry*, 64, 121–124.
- Zeng, J., Jiao, L., Li, Y., Srinivasan, M., Li, T., Wang, Y. (2011). Bio-based blends of starch and poly(butylene succinate) with improved miscibility, mechanical properties, and reduced water absorption. *Carbohydrate Polymers*, 83, 762-768.
- Zhang, L., Zuo, B., Wu, P., Wang, Y., Gao, W. (2012). Ultrasound effects on the acetylation of dioscorea starch isolated from *Dioscorea zingiberensis*. *Chemical Engineering and Processing*, 54, 29–36.

- Zhang, Y., Gan, T., Huayu, H., Huang, Z., Huang, A., Zhu, Y., Feng, Z., Yang, M. (2014). A green technology for the preparation of high fatty acid starch esters: Solid-phase synthesis of starch laurate assisted by mechanical activation with stirring ball mill as reactor. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 53, 2114–2120.
- Zhang, Y., Rempel, C. (2012). *Retrogradation and Antiplasticization of Thermoplastic Starch*, W: El-Sonbati, A.Z. (red.), *Thermoplastic Elastomers*, IntechOpen, UK.
- Zhang, Y.J., Huang, Z.Q., Yang, C., Huang, A.M., Hu, H.Y., Gong, Z.Q. (2013). Material properties of partially pregelatinized cassava starch prepared by mechanical activation. *Starch - Stärke*, 65, 461–468.
- Zhou, J., Ma, Y., Ren, L., Tong, J., Liu, Z., Xie, L. (2009). Preparation and characterization of surface crosslinked TPS/PVA blend films, *Carbohydrate Polymers*, 76, 632 – 638.
- Zhou, J., Ren, L., Tong, J., Xie, L., Liu, Z. (2009). Surface esterification of corn starch films: reaction with dodecenyl succinic anhydride. *Carbohydrate Polymers*, 78(4), 888–889.
- Zobel, H.F. (1988). Starch crystal transformations and their industrial importance. *Starch - Stärke*, 40, 1–7.
- Zuo, Y.Y.J., Hébraud, P., Hemar, Y., Ashokkumar, M. (2012). Quantification of high-power ultrasound induced damage on potato starch granules using light microscopy. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(3), 421-426.

V. SPIS NORM

- ISO 11269-2:1995. *Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soilflora – Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants.*
- ISO 8296:2003. *Tworzywa sztuczne. Folie i płyty. Oznaczanie zwilżalności oraz porównawczo swobodną energię powierzchniową, metodą Owensa – Wendta*
- PN-ISO 4593:1999. *Tworzywa sztuczne. Folie i płyty. Oznaczanie grubości metodą skaningu mechanicznego.*
- PN-EN ISO 527-1:1998. *Oznaczanie właściwości mechanicznych przy statycznym rozciąganiu. Część 1: Zasady ogólne*
- PN-EN ISO 527-3:1998. *Oznaczanie właściwości mechanicznych przy statycznym rozciąganiu. Część 3: Warunki badań folii i płyt.*
- PN-EN ISO 6383-2:2005. *Tworzywa sztuczne. Folie i płyty. Oznaczanie wytrzymałości na rozdzieranie. Część 2: Metoda Elmendorfa.*
- PN-EN ISO 62: 2008. *Tworzywa sztuczne. Oznaczanie absorpcji wody.*

VI. SPIS TABEL

Część teoretyczna

Tab.1.1. Zawartość procentowa składników polisacharydowych i niepolisacharydowych w wybranych skrobiach.....15

Tab.2.1. Estryfikacja i transestryfikacja skrobi w cieczach jonowych.....33

Część eksperymentalna

Tab.2.1. Skład jakościowy i ilościowy hydrolizatów otrzymanych w wyniku hydrolizy oleju rzepakowego (HR) i wysokooleinowego oleju słonecznikowego (HS).....67

Tab.2.2. Wartości DS dla estryfikacji kwasem oleinowym skrobi częściowo skleikowanej (metoda bezpośrednia)..... 71

Tab.2.3. Wartości DS dla estryfikacji kwasem oleinowym skrobi częściowo skleikowanej (metoda pośrednia).....71

Tab.2.4. Wartości DS dla estryfikacji kwasem oleinowym skrobi całkowicie skleikowanej (metoda bezpośrednia).....71

Tab.2.5. Wartości DS dla estryfikacji kwasem oleinowym skrobi całkowicie skleikowanej (metoda pośrednia).....72

Tab.2.6. Wartości DS dla estryfikacji kwasem oleinowym skrobi całkowicie skleikowanej - reakcje prowadzone z użyciem P80 (metoda bezpośrednia).....73

Tab.2.7. Wartości DS dla estryfikacji hydrolizatem oleju rzepakowego skrobi całkowicie skleikowanej - reakcje prowadzone z użyciem P80 (metoda bezpośrednia).....73

Tab.2.8. Wartości DS dla estryfikacji hydrolizatem wysokooleinowego oleju słonecznikowego skrobi całkowicie skleikowanej - reakcje prowadzone z użyciem P80 (metoda bezpośrednia).....73

Tab.2.9. Wzory cząsteczkowe, stopnie podstawienia estrów skrobiowych obliczone z wyników analizy elementarnej oraz wydajność reakcji estryfikacji.....75

Tab. 2.10. Wybrane pasma (w cm^{-1}) wraz z przypisanymi typami drgań w widmach FT-IR skrobi natywnej i estrów skrobiowych.....79

Tab.2.11. Porównanie właściwości termicznych skrobi natywnej, skleikowanej i estrów skrobiowych o najwyższym DS.....94

Tab.2.12. Właściwości mechaniczne folii ze splastyfikowanej skrobi przed i po estryfikacji..96

Tab. 2.13. Inne właściwości folii ze splastyfikowanej skrobi przed i po estryfikacji.....96

VII. SPIS RYSUNKÓW

Część teoretyczna

Rys.1.1. Budowa frakcji skrobiowych: A – amyloza; B- amylopektyna.....	14
Rys.1.2. Poziomy organizacyjne ziarna skrobiowego: a) ziarno skrobiowe z naprzemiennie ułożonymi warstwami krystalicznymi i amorficznymi, b) pierścień przyrostu z widocznymi lamelami, c) ułożenie wiązań α - 1,4 i α - 1,6 – glikozydowych w lamelach, d) pojedynczy klaster z widocznymi łańcuchami amylopektyny.....	16
Rys.2.1. Zdjęcie wyłaczarki jednoślismakowej 19/25D (Brabender, Niemcy) wyposażonej w głowicę wąskoszczelinową.....	23

Część eksperymentalna

Rys.2.1. Transestryfikacja triacyloglicerolu przy użyciu alkoholu jednowodorotlenowego....	58
Rys.2.2. Mechanizm kleikowania skrobi w chlorku 1-butylo-3-metyloimidazoliowym.....	60
Rys.2.3. Skrobia skleikowana przy użyciu chlorku 1-butylo-3-metyloimidazoliowego (postać mokra i wstępnie wysuszona).....	62
Rys.2.4. Schemat hydrolizy enzymatycznej triacyloglicerolu.....	63
Rys.2.5. Otrzymane hydrolizaty olejów roślinnych (po 12h) i rozdzielanie mieszaniny kwasów tłuszczowych od produktów ubocznych.....	63
Rys.2.6. Mechanizm enzymatycznej hydrolizy estrów.....	64
Rys.2.7. Widma ATR-FTIR: a) oleju rzepakowego oraz jego hydrolizatów: b) po 3h, c) po 6h, d) po 12h hydrolizy enzymatycznej.....	65
Rys.2.8. Widma ATR-FTIR: a) wysokooleinowego oleju słonecznikowego oraz jego hydrolizatów: b) po 3h, c) po 6h, d) po 12h hydrolizy enzymatycznej.....	65
Rys.2.9. Widmo ATR-FTIR czystego glicerolu.....	66
Rys.2.10. Widmo ATR-FTIR czystego kwasu oleinowego.....	66
Rys.2.11. Udział procentowy kwasów nasyconych (KN), jednonienasyconych (K1N) i wielonienasyconych (KWN) w mieszaninach po hydrolizie oleju rzepakowego (HR) i wysokooleinowego oleju słonecznikowego (HS).....	68
Rys.2.12. Schemat katalizowanej lipazą estryfikacji skrobi w środowisku cieczy jonowej i polisorbatu P80.....	70
Rys.2.13. Widma FT-IR: skrobi natywnej (a), skrobi skleikowanej w cieczy jonowej w warunkach ciśnienia zredukowanego (b) i normalnego (c).....	76
Rys.2.14. Widma FT-IR: skrobi niemodyfikowanej (a), całkowicie skleikowanej (b) i jej estrów o najniższym DS, otrzymanych w reakcjach modelowych, tj. KO 2/60/30/B (c) oraz KO 2/60/30/P (d).....	77

Rys.2.15. Widma FT-IR: skrobi niemodyfikowanej (a), estrów o najwyższym DS otrzymanych w reakcjach modelowych prowadzonych ze skrobią częściowo skleikowaną bez użycia P80, tj. KO 4/60/10/B (b) oraz KO 4/60/10/P (c).....	78
Rys. 2.16. Widma FT-IR: skrobi niemodyfikowanej (a), estrów o najwyższym DS otrzymanych w reakcjach modelowych prowadzonych ze skrobią całkowicie skleikowaną bez użycia P80, tj. KO 4/60/30/B (b) oraz KO 4/60/30/P (c).....	79
Rys. 2.17. Widma FT-IR: skrobi niemodyfikowanej (a), estrów o najwyższym DS otrzymanych w reakcjach modelowych i w reakcjach z hydrolizatami prowadzonych ze skrobią całkowicie skleikowaną, z użyciem P80, tj. KO 4/50/30/B/P80 (b), KO 4/50/30/B/P80 (c), KO 4/50/30/B/P80 (d).....	80
Rys.2.18. Widmo ¹ H NMR skrobi natywnej.....	81
Rys.2.19. Widmo ¹ H NMR skrobi całkowicie skleikowanej w IL.....	82
Rys.2.20. Widmo ¹ H NMR estru skrobiowego KO 4/50/30/B.....	83
Rys.2.21. Widmo ¹ H NMR estru skrobiowego HR 4/50/30/B.....	84
Rys.2.22. Widmo ¹ H NMR estru skrobiowego HS 4/50/30/B.....	84
Rys.2.23. Dyfraktogramy skrobi natywnej (a), częściowo skleikowanej (b) i całkowicie skleikowanej (c).....	86
Rys.2.24. Dyfraktogramy skrobi natywnej (a) i estrów skrobiowych o najwyższym DS, tj. KO 4/50/30/B (b), HR 4/50/30/B (c) i HS 4/50/30/B (d).....	86
Rys.2.25. Zdjęcia SEM natywnej skrobi ziemniaczanej.....	87
Rys.2.26. Zdjęcia SEM skrobi częściowo skleikowanej (a, b) oraz całkowicie skleikowanej (c, d).....	88
Rys.2.27. Zdjęcia SEM adduktów skrobi z kwasami tłuszczowymi.....	89
Rys.2.28. Zdjęcia SEM skrobi natywnej (a) i estrów skrobiowych o najwyższym DS, tj. KO 4/50/30/B (b), HR 4/50/30/B (c) i HS 4/50/30/B (d).....	89
Rys.2.29. Krzywe TG skrobi natywnej (a) i skleikowanej (b).....	92
Rys.2.30. Krzywe TG skrobi natywnej (a), skrobi skleikowanej (b) oraz estru skrobiowego KO/4/50/30/B (c).....	93
Rys.2.31. Krzywe TG skrobi natywnej (a) oraz estrów skrobiowych HR/4/50/30/B (b) i HS/4/50/30/B (c).....	93
Rys.2.32. Ester skrobiowy HR/4/50/30/B w formie proszku (a) i w formie folii wytłoczonej na wytłaczarce jednoślismakowej (b, c).....	98
Rys.2.33. Biodegradacja w glebie folii otrzymanych ze splastyfikowanej skrobi natywnej i estryfikowanej.....	100

Rys.2.34. Procentowy ubytek masy próbek folii estru skrobiowego KO/4/50/30/B po 3, 6, 9 i 12 tygodniach biodegradacji w glebie oraz zdjęcia folii wykonane przy użyciu stereoskopowego mikroskopu optycznego SOM (pow. ok. 100x) oraz skaningowego mikroskopu elektronowego SEM (pow. ok. 200x) po określonym czasie biodegradacji.....	101
Rys.2.35. Procentowy ubytek masy próbek folii estru skrobiowego HR/4/50/30/B po 3, 6, 9 i 12 tygodniach biodegradacji w glebie oraz zdjęcia folii wykonane przy użyciu stereoskopowego mikroskopu optycznego (pow. ok. 100x) oraz skaningowego mikroskopu elektronowego (pow. ok. 200x) po określonym czasie biodegradacji.....	102
Rys.2.36. Procentowy ubytek masy próbek folii estru skrobiowego HS/4/50/30/B po 3, 6, 9 i 12 tygodniach biodegradacji w glebie oraz zdjęcia folii wykonane przy użyciu stereoskopowego mikroskopu optycznego (pow. ok. 100x) oraz skaningowego mikroskopu elektronowego (pow. ok. 200x) po określonym czasie biodegradacji.....	103
Rys.2.37. Badanie fitotoksyczności folii w hali wegetacyjnej Katedry Biochemii, Biotechnologii i Ekotoksykologii.....	104
Rys.2.38. Ocena makroskopowa (zdjęcia cyfrowe) organów podziemnych i nadziemnych roślin jedno- i dwuliściennych poddanych działaniu folii wytłoczonych z skrobi natywnej.....	105
Rys.2.39. Ocena makroskopowa (zdjęcia cyfrowe) organów podziemnych i nadziemnych roślin jedno- i dwuliściennych poddanych działaniu folii wytłoczonych z estru skrobiowego KO/4/50/30/B.....	106
Rys.2.40. Ocena makroskopowa (zdjęcia cyfrowe) organów podziemnych i nadziemnych roślin jedno- i dwuliściennych poddanych działaniu folii wytłoczonych z estru skrobiowego HR/4/50/30/B.....	107
Rys.2.41. Ocena makroskopowa (zdjęcia cyfrowe) organów podziemnych i nadziemnych roślin jedno- i dwuliściennych poddanych działaniu folii wytłoczonych z estru skrobiowego HS/4/50/30/B.....	108
Rys.2.42. Wpływ folii skrobi natywnej i jej estrów o najwyższym DS na zawartość chlorofilu całkowitego (a) i karotenoidów (b), w sadzonkach owsa. Dane wyrażono jako średnią z trzech powtórzeń dla każdego stężenia.....	109
Rys.2.43. Wpływ folii skrobi natywnej i jej estrów o najwyższym DS na zawartość chlorofilu całkowitego (c) i karotenoidów (d) w liściach rzodkiewki. Dane wyrażono jako średnią z trzech powtórzeń dla każdego stężenia.....	110
Rys.2.44. Zmiany suchej masy roślin poddanych działaniu badanych folii wyrażone jako procent wartości w roślinach kontrolnych (rośliny kontrolne = 100% suchej masy).....	111