



**UNIwersytet
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU**
Wydział Chemii



**Katedra Chemii Biomedycznej i Polimerów
Wydział Chemii
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu**

**AUTOREFERAT WNIOSKU HABILITACYJNEGO
„EKOLOGICZNE, INTELIGENTNE MATERIAŁY BIOPOLIMEROWE DLA PRZEMYSŁU
OPAKOWANIOWEGO”**

Dr Dagmara Bajer

Dziedzina nauk ścisłych i przyrodniczych
Dyscyplina naukowa: nauki chemiczne

Toruń, 2025

Spis Treści

Dane osobowe.....	3
Posiadane dyplomy i stopnie naukowe.....	3
Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	3
Spis i wyjaśnienie stosowanych skrótów.....	4
Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy 2.0 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, stanowiącego podstawę Postępowania habilitacyjnego.....	6
Główne oryginalne osiągnięcia opublikowanego cyklu badań.....	40
Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych	43
Opis działalności naukowo-badawczej przed uzyskaniem stopnia doktora ...	43
Opis działalności naukowo-badawczej po uzyskaniu stopnia doktora.....	44
Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych i popularyzujących naukę.....	50
Plany na najbliższą przyszłość.....	51
Literatura.....	53

1. Dane osobowe

Imię i Nazwisko: **Dagmara Bajer** (nazwisko rodowe: **Ołdak**)

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

2000 - Tytuł magistra chemii ze specjalnością chemia polimerów uzyskany na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

Tytuł pracy: „Badanie biodegradacji i fotodegradacji polipropylenu, celulozy i ich mieszaniny”

Promotor: Prof. dr hab. Halina Kaczmarek

2006 - Stopień doktora nauk chemicznych na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

Tytuł rozprawy: „Procesy degradacyjne w polietylenie modyfikowanym celulożą”

Promotor: Prof. dr hab. Halina Kaczmarek

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

2011 – obecnie - Adiunkt, Katedra Chemii Biomedycznej i Polimerów, Wydział Chemii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń,

2007 – 2011- Asystent, Katedra Chemii i Fotochemii Polimerów, Wydział Chemii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń,

2003 - 2006 - Pracownik naukowo-techniczny, Zakład Chemii Ogólnej, Wydział Chemii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń.

4. Spis i wyjaśnienie stosowanych skrótów

ATR-FTIR - spektroskopia w podczerwieni z osłabionym całkowitym odbiciem i transformacją Fouriera

AV - *Aloe vera* (*Aloe v.*)

BIm - benzimidazol

BoX - benzoksazol

BOD - biological oxygen demand- biologiczne zapotrzebowanie na tlen

BTh - benzotiazol

CA - kwas kawowy

Caf. - kofeina

¹³C-NMR - spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego wykorzystująca izotop węgla-13

CS - skrobia kukurydziana

CS-BIm - film chitozan-benzimidazol

CS-BoX - film chitozan-benzoksazol

CS-BTh - film chitozan-benzotiazol

DPPH - the DPPH-radical-scavenging activity - zdolność zmiatania wolnych rodników

DS - skrobia dialdehydowa

FSCh - film skrobi i chitozanu z fluoresceiną

FSChDS - film skrobi, chitozanu, skrobi dialdehydowej i fluoresceiny

FTIR - spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera

NS - film skrobiowy

NS/CA - film skrobi z kwasem kawowym

NS/Caf. - film skrobi z kofeiną

NS/DS – film skrobia/skrobia dialdehydowa

NS/DS/CA - film skrobi ze skrobią dialdehydową i kwasem kawowym

NS/DS/Caf. - film skrobi ze skrobią dialdehydową i kofeiną

NS/DS/QA - film skrobi ze skrobią dialdehydową i kwasem chinowym

NS/DS/Vit.C - film skrobi ze skrobią dialdehydową i witaminą C

NS/QA - film skrobi z kwasem chinowym

NS/Vit.C - film skrobi z witaminą C

PE - polietylen

PLA - polikwas mlekowy

PS - polistyren

³¹P CP/MAS NMR - spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) wykorzystująca izotop

fosforu - 31 (³¹P)QA - kwas chinowy

Ra - Średnie arytmetyczne odchylenie profilu chropowatości

ROH - indeks hydroksylowy (I_{OH}/I_{CH_3})

Rq - Średnie kwadratowe odchylenie profilu chropowatości

RSCh - film skrobi i chitozanu z różem bengalskim

RSChDS - film skrobi, chitozanu, skrobi dialdehydowej z różem bengalskim

S+0.5SA+Ch 1h - fosfonowany bursztynian skrobiowo-chitozanowy; bursztynian skrobiowy syntetyzowany z 0.5 g kwasu bursztynowego, czas reakcji estryfikacji wynosił 1h

S+0.5SA+Ch 2h - fosfonowany bursztynian skrobiowo-chitozanowy; bursztynian skrobiowy syntetyzowany z 0.5 g kwasu bursztynowego, czas reakcji estryfikacji wynosił 2h

S+1SA+Ch 2h - fosfonowany bursztynian skrobiowo-chitozanowy; bursztynian skrobiowy syntetyzowany z 1 g kwasu bursztynowego, czas reakcji estryfikacji wynosił 2h

SCA - film skrobiowo/chitozanowy z dodatkiem Aloe vera

SCh - film skrobi z chitozanem

SFE - Swobodna Energia Powierzchniowa

T_{max} - Temperatura w maksimum szybkości głównego etapu rozkładu termicznego

T_0 - temperatura początku rozkładu termicznego

Vit. C - witamina C

WCS - skrobia kukurydziana woskowa

WVTR - water-vapour transmission rate - szybkość przepuszczalności pary wodnej przez film polimerowy

Xc - stopień krystaliczności

XRD - dyfrakcja rentgenowska

5. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.):

I. ZARYS I KONCEPCJA BADAŃ BĘDĄCYCH PODSTAWĄ WNIOSKU

Zwiększająca się ilość odpadów z polimerów syntetycznych nieulegających biodegradacji stanowi poważny problem ekologiczny, a jednym z jego możliwych rozwiązań jest wykorzystanie polimerów pochodzenia naturalnego ze źródeł odnawialnych. Biopolimery, takie jak skrobia, chitozan, celuloza, alginiany, karagen czy agar mają zdolność tworzenia filmów polimerowych, pretendują do zastosowań w kosmetyce, medycynie, w przemyśle opakowaniowym. Folie biopolimerowe wzbogacone o aktywne składniki mogą znaleźć zastosowanie w przemyśle spożywczym, jako opakowania szybko psującej się żywności, a także jako jadalne powłoki pokrywające produkt cienką warstwą. Takie materiały mają również potencjał do zastosowań medycznych w wewnątrz- i zewnątrzustrojowym transporcie leków raz w przemyśle kosmetycznym (jako transportery substancji czynnych przez skórę, maseczki na zmiany skórne, opatrunki na blizny, również w formie hydrożeli). Folie do przemysłu spożywczego powinny wykazywać dobre właściwości mechaniczne, takie jak wytrzymałość i elastyczność, dobre właściwości barierowe wobec wilgoci i gazów (O₂, CO₂, N₂). Filmy z polimerów naturalnych są biodegradowalne, nietoksyczne i biokompatybilne, lecz charakteryzują się gorszą wytrzymałością mechaniczną niż te wytworzone z polimerów syntetycznych [1, 2]. Tę wadę niweluje dodatek plastyfikatora, np. gliceryny lub sorbitolu, co w przypadku modyfikacji skrobi jest niezbędne również ze względu na duże trudności w jej procesie przetwórczym.

Myślą przewodnią moich badań było otrzymanie nowatorskich „inteligentnych” biomateriałów z matrycą skrobiową i skrobiowo-chitozanową o pożądanych właściwościach ze szczególnym przeznaczeniem dla przemysłu opakowaniowego spożywczego, farmaceutycznego i kosmetycznego. Zaproponowałam nie tylko różnorodną modyfikację tych układów za pomocą substancji pochodzenia naturalnego jak i syntetycznych barwników, ale także dokonałam wielostronnej charakterystyki kompozytów, co jest szczególnie cenne z pragmatycznego punktu widzenia. Celem poznawczym było ocena zależności pomiędzy strukturą i właściwościami zaproponowanych układów, nadanie im oczekiwanych cech użytkowych, np. dobrej wytrzymałości mechanicznej, ograniczenie światłoczułości i podatności na oksydację, oraz właściwości przeciwdrobnoustrojowych. Priorytetowe dla mnie było również zbadanie skutków oddziaływania środowiska zewnętrznego (np. światła, wilgoci, mikroorganizmów), czyli biodegradacji i fotodegradacji. Zaprojektowane i wykonane przeze mnie w tym kierunku badania umożliwiły oszacowanie czasu użytkowania takich materiałów, jak również dostarczyły informacji o możliwościach ich utylizacji w środowisku naturalnym po zużyciu.

Na wstępie mojej pracy podjęłam się zbadania zmian w strukturze chemicznej skrobi wywołanych działaniem promieniowania UV oraz zanalizowałam wpływ pochodzenia botanicznego surowca (skrobia ziemniaczana, pszenna, kukurydziana i kukurydziana woskowa) na jej podatność na fotodegradację. Jak wiadomo, mieszanie polimerów jest skuteczną i wygodną metodą poprawy właściwości użytkowych materiałów polimerowych, dlatego też przedmiotem moich dalszych badań nad fotodegradacją były filmy mieszanin chitozanu i skrobi, zaś

uzyskane wyniki uzupełniły lukę w doniesieniach literaturowych na temat podatności tych układów na promieniowanie UV [H-1, H-2].

W moich kolejnych badaniach założyłam, że wprowadzając do matrycy biopolimerowej substancje aktywne (np. związki pochodzenia naturalnego jak ekstrakty i olejki eteryczne otrzymane z roślin) można nadać jej określone właściwości, np. **przeciwutleniające, przeciwdrobnoustrojowe, owadobójcze [3-5]**. W tym celu przygotowałam dotychczas nieopisane w literaturze materiały biodegradowalne na bazie skrobi i/lub chitozanu o dobrych parametrach użytkowych (dobrej wytrzymałości mechanicznej, trwałości i odporności na czynniki zewnętrzne (np. wilgoć, światło), a dodatkowo wykazujących działanie przeciwdrobnoustrojowe i przeciwutleniające. Cel ten osiągnęłam wykorzystując w charakterze modyfikatorów naturalne substancje, takie jak: ekstrakt z aloesu, kwas kawowy, kwas chinowy, kwas askorbinowy, kofeinę a także produkt chemicznej modyfikacji skrobi, jakim jest skrobia dialdehydowa. Badania nad tymi układami, opisane w pracach H-3 H-6 odbiły się szerokim oddźwiękiem, osiągając wysoką liczbę cytowań, a spośród nich wyróżniała się praca, w której przedstawiłam wyniki badań nad układami skrobia/chitozan/żel *Aloe vera* (H-3; **93 cytowania wg bazy WoS do dnia 20.11.2025**), oraz praca nad filmami o właściwościach antyutleniających (H-4, **47 cytowań wg bazy WoS do dnia 20.11.2025**). Aby zrealizować postawione sobie cele współpracowałam z naukowcami z Wydziału Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych UMK oraz z Instytutu Materiałów Polimerowych Łukasiewicz w Toruniu, a badania te uzupełniły mój projekt o cenną wiedzę na temat podatności na biodegradację, aktywność enzymatyczną i przeciwdrobnoustrojową zaprojektowanych przez mnie innowacyjnych mieszanin.

Moim kolejnym celem badawczym było uzyskanie biopolimerowych materiałów o zwiększonej fotostabilności. W ostatnich latach coraz większym wyzwaniem staje się poszukiwanie polimerów światłoczułych, które mogłyby znaleźć zastosowanie w wielu dziedzinach przemysłu. Światłoczułe związki organiczne (barwniki, sensybilizatory) są obecnie wykorzystywane w fotonice, obrazowaniu fluorescencyjnym i medycynie (np. w biomarkerach służących do wykrywania ognisk zapalnych i chorobowych, w diagnostyce nowotworów, HIV, czy koronawirusa COVID-19, w terapii fotodynamicznej) [6-10]. Jednak niejednokrotnie nie wykazują one wystarczająco wysokiego współczynnika absorpcji, odpowiedniej fotoczułości oraz odporności na czynniki chemiczne i środowiskowe. Ich możliwości aplikacyjne są ograniczone ze względu na brak fotostabilności wskutek czego tracą swoje cenne właściwości, w tym użytkowe. Inną wadą tych związków jest ich rozpuszczalność w rozpuszczalnikach organicznych i jednoczesny brak rozpuszczalności w wodzie, co na ogół nie jest akceptowane w zastosowaniach medycznych, kosmetycznych i spożywczych. Ponadto małowcząsteczkowe związki fotoczułe (barwniki organiczne), nie tworzą cienkich warstw, mikrokapsułek ani innych form wymaganych w wielu praktycznych zastosowaniach. Ponieważ jednak zainteresowanie ich stosowaniem w medycynie, przy równocześnie stosunkowo mało poznanej odporności na działanie środków sterylizujących takie jak ciepło i promieniowanie UV jest znaczące, skłoniło mnie to do badań nad fluorescencyjnymi pochodnymi biopolimerów [H-7-H-8]. W swojej pracy założyłam, że wprowadzenie barwnika fluorescencyjnego do matrycy biopolimerowej w procesie modyfikacji fizycznej lub otrzymywanie cząstek fotosensybilizator-polimer związanych kowalencyjnie (na drodze reakcji chemicznej), może okazać się dobrą metodą stabilizacji jego aktywności i zachowania zdolności absorpcji promieniowania.

W niektórych przypadkach zastosowań wymagana jest także aktywność biologiczna (np. właściwości przeciwdrobnoustrojowe, przeciwwirusowe lub przeciwzapalne) i zwiększona odporność termiczna. Biopolimery, takie jak chitozan i skrobia, które spełniają warunek bezpieczeństwa i nietoksyczności, biodegradowalności i biokompatybilności są szczególnie dobrymi kandydatami na powłoki ochronne produktów światłoczułych, jako nośnik leków lub opakowania wymagające sterylizacji [11-14]. Praca nad otrzymaniem biofilmów o właściwości światłoczułych oraz analiza wpływu barwników na właściwości folii biopolimerowych, była szczególnie interesująca, gdy analizowałam synergizm działania składników. W badaniach opracowałam metodykę otrzymywania światłoczułych, fluorescencyjnych materiałów z matrycą polisacharydową (filmy skrobiowe, chitozanowe, skrobiowo/chitozanowe) domieszkowanych związkami fotoczułymi. Polimery te, dzięki obecności grup funkcyjnych (aminowych/ hydroksylowych) są podatne na tworzenie trwałych wiązań kowalencyjnych w reakcjach modyfikacji chemicznej, co ułatwia wiązanie z aromatycznymi heterocyklicznymi barwnikami fluorescencyjnymi: fluoresceiną i różem bengalskim. Ten nurt badawczy obejmował też otrzymywanie i charakterystykę właściwości filmów chitozanowych modyfikowanych heterocyklicznymi barwnikami aromatycznymi na bazie benzimidazolu, benzotiazolu i benzoksazolu (odpowiednie skróty: IBm, BTh i BOx).

Moim następnym pomysłem było opracowanie szybkiej i skutecznej metody otrzymywania nanoskrobi z myślą o zastosowaniu w przemyśle spożywczym [H-9]. Nanotechnologia cieszy się ogromnym zainteresowaniem wśród producentów i przetwórców żywności, szczególnie w obszarze jej pakowania i przechowywania. Szybki postęp w zastosowaniu nanomateriałów w tej branży wymaga sprawdzenia ich potencjalnej toksyczności, zrozumienia mechanizmów interakcji cząsteczek nanomateriałów z żywnością, a także pełnej znajomości ich struktury i właściwości fizykochemicznych. Aby przekształcić mikrogranulki skrobiowe do rozmiarów nanometrycznych stosuje się metody fizyczne (np. sonifikacja, obróbka mechaniczna) oraz reakcje chemiczne (m.in. hydroliza kwasowa i enzymatyczna). Zmniejszenie rozmiarów cząstek sprzyja uzyskaniu nowych właściwości produktu, np. zwiększenie wchłaniania wody, zmniejszenie wchłaniania oleju, utratę krystaliczności, poprawę stabilności termicznej a nawet nadaje skrobi właściwości przeciwutleniające (w porównaniu do tego polisacharydu o mikrometrycznych rozmiarach cząstek) [15]. Jak wskazano w literaturze, metody pozyskiwania nanoskrobi (do różnych celów) za pomocą hydrolizy kwasowej lub sonifikacji są stosowane przez niektórych autorów zgodnie z ustalonym schematem, ale zasadniczo nie podejmowano się modyfikacji warunków tych syntez. **Celem prowadzonych przeze mnie badań była modyfikacja procedury w celu skrócenia czasu ekspozycji do minimum oraz jednoczesne uzyskanie nanoskrobi o jak najmniejszych rozmiarach, bez szerokiego rozkładu wielkości (tj. w miarę jednorodnych) i z ograniczoną podatnością na aglomerację, co stanowi innowację w stosunku do wcześniej opublikowanych prac.** Oprócz modyfikacji chemicznej, zbadałam również wpływ czynnika fizycznego, jakim jest kawitacja ultradźwiękowa (badana indywidualnie oraz po wcześniejszej hydrolizie). Ponieważ efekty hydrolizy kwasowej i sonifikacji zależą od warunków tych procesów, ale również od typu botanicznego skrobi (a zatem jej budowy), w badaniach skupiłam się na dwóch jej rodzajach, różniących się stosunkiem amylozy do amylopektyny, tj. skrobi kukurydzianej (CS) i skrobi włoskiej (WCS). Inspiracją do wszystkich podjętych przeze mnie badań był ogromny, lecz wciąż słabo wykorzystywany potencjał, jaki niosą ze sobą biopolimery. Wśród nich powszechna na całym świecie skrobia, która jest surowcem tanim

i odnawialnym, jednak wykazuje wiele cech w sposób radykalny ograniczających lub nawet uniemożliwiających jej przemysłowe wykorzystanie. Wielokierunkowa modyfikacja skrobi, poprawa jej właściwości fizykochemicznych i nadanie pożądanych cech dla zastosowań przemysłowych to nadrzędne cele, jakie postawiłam sobie w niniejszych badaniach.

II. MODYFIKACJA W KIERUNKU NADANIA FILMOM SKROBOWYM WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWDROBNOUSTROJOWYCH

II.1. MODYFIKACJA SKROBI CHITOZANEM [H-1]

Jednym ze sposobów na poprawę właściwości użytkowych skrobi, szczególnie w aspekcie odporności przeciw szkodliwemu działaniu mikroorganizmów jest zaproponowana przez mnie modyfikacja chitozaniem, który jest całkowicie bezpieczny i nietoksyczny; zatem nie daje przeciwwskazań do stosowania w opakowaniach żywności, kosmetyków a nawet leków. Chitozan jest naturalnym polisacharydem, produktem częściowej deacetylacji chityny, zbudowanym z jednostek 2-acetamido-2-deoksy- β -D-glukopiranozy oraz 2-amino-2-deoksy- β -glukopiranozy. Dzięki biodegradowalności, właściwościom przeciwdrobnoustrojowym i nietoksyczności od lat znajduje zastosowanie w przemyśle spożywczym i opakowaniowym. Co więcej, jego wysoka biokompatybilność pozwala na biomedyczne i farmaceutyczne zastosowanie, m.in. w inżynierii tkankowej, gojeniu ran i systemach kontrolowanego dostarczania leków [12-17].

Oczekiwałam, że poprzez wprowadzenie chitozanu do matrycy skrobiowej mogę uzyskać materiał o lepszych właściwościach fizykochemicznych, mechanicznych i przeciwdrobnoustrojowych, co umożliwi wykorzystanie takich materiałów na szeroką skalę. Założyłam, że ze względu na wyższą hydrofobowość w porównaniu z hydrofilowością skrobi, chitozan będzie ograniczał transport pary wodnej, a co za tym idzie zwiększy odporność na wilgoć takiej mieszaniny. Początkowe prace badawcze były związane z opracowaniem metodyki otrzymywania filmów skrobiowych i skrobiowo-chitozanowych, oraz techniki wprowadzania do matryc biopolimerowych substancji, mających nadać produktom oczekiwane właściwości, a następnie zaplanowanie badań właściwości tych układów, zarówno fizyko-chemicznych jak i użytkowych. Biorąc pod uwagę docelowy kierunek zastosowań tych układów do opakowań produktów żywnościowych, szczególnie łatwopsujących się, podatnych na działanie czynników środowiskowych, takich jak światło, środowisko mikrobiologiczne (tj. obecność drobnoustrojów), wilgotność, ukierunkowałam badania na uzyskanie jednorodnych filmów wzmocnionych mechanicznie (np. poprzez dodatek skrobi dialdehydowej). Zarówno skrobia jak i chitozan są surowcami biodegradowalnymi, dlatego określałam tempo i wydajność tego procesu w warunkach degradacji w glebie. Opracowałam wspólną metodykę badań biodegradacji filmów odpowiadającą warunkom naturalnym środowiska, co zapewnia realne odzwierciedlenie przebiegu tego procesu i rzeczywiste zachowanie się produktu.

II.1.1. BADANIA STRUKTURY CHEMICZNEJ I WŁAŚCIWOŚCI BIODEGRADOWALNYCH MATERIAŁÓW SKROBOWO-CHITOZANOWYCH [H-1, H-2]

Mimo, iż właściwości czystych biopolimerów, takich jak skrobia i chitozan są dobrze znane, to jednak zastosowanie mieszanek polimerowych wymaga już wnikliwej analizy ich sumarycznych właściwości, o których

decydują również interakcje pomiędzy dwoma komponentami. W badaniach analizowałam kompozyty o różnym udziale wagowym chitozanu do skrobi: 25:75; 50:50; 75:25; 100:0 (czysty chitozan) i 0:100 (czysta skrobia). Tworzenie wiązań chemicznych pomiędzy tymi polisacharydami jest możliwe, m.in. ze względu na obecność reaktywnych ugrupowań karbonylowych i hydroksylowych, a w przypadku chitozanu również aminowych, co potwierdziłam obserwując spadek intensywności i przesunięcia pasm absorpcyjnych odpowiadających tym ugrupowaniom w widmach FTIR mieszanin. Chociaż wiązania wodorowe występują również w samej skrobi i chitozanie, to obserwowane zmiany w widmach FTIR (w porównaniu do widm czystych składników) jasno wskazują na powstawanie wiązań skrobia- chitozan.

II.1.2. ANALIZA WPŁYWU PROMIENIOWANIA UV NA SKROBIĘ I FILMY SKROBIOWO-CHITOZANOWE

[H-1, H-2]

Ważnym aspektem badań było określenie podatności zaprojektowanych przeze mnie materiałów na czynniki zewnętrzne, np. promieniowanie UV. Początkowo skupiłam się na wpływie pochodzenia botanicznego skrobi (a zatem jej składu chemicznego) na jej podatność na to promieniowanie. Porównanie zmian właściwości fizykochemicznych różnych rodzajów skrobi w tych samych warunkach napromieniania (w tym atmosfera, temperatura, czy rodzaj i intensywność promieniowania UV) dostarcza cennych informacji producentom i pozwala im ocenić przydatność danej skrobi w konkretnych gałęziach przemysłu. Znajomość takiej zależności właściwości od składu umożliwiła dobór skrobi do zastosowań, w których wymagana jest określona odporność na promieniowanie ultrafioletowe, na przykład podczas sterylizacji promieniami UV matryc leków o kontrolowanym uwalnianiu lub biodegradowalnych opakowań żywności. Jak wykazałam w moich badaniach, w grupie cech determinujących fotostabilność biopolimerów znajdują się m.in. stosunek amylozy do amylopektyny, masa cząsteczkowa i stopień krystaliczności oraz zawartość związanej wody. Te parametry zostały przeze mnie wyznaczone dla 4 typów botanicznych: skrobi ziemniaczanej, kukurydzianej, kukurydzianej woskowej oraz pszennej [H-2]. Skrobie natywne poddałam działaniu niskociśnieniowej lampy rtęciowej TUV-30W (Philips, Holland) w temperaturze pokojowej i w atmosferze powietrza w czasie 1–16 h. Największy wpływ naświetlania zaobserwowałam w ciągu pierwszych 8 godzin działania UV (przy dawce promieniowania 962 kJ/m²), po tym czasie dalsze zmiany były minimalne i mieściły się w granicy błędów. Zawartość wilgoci, która ma istotny wpływ na właściwości skrobi i odgrywa ważną rolę w procesie krystalizacji polisacharydów [18], wynosiła około 12–13% wagowych w skrobi kukurydzianej, kukurydzianej woskowej i pszennej oraz była wyższa w skrobi ziemniaczanej (19%). W efekcie 8h naświetlania zawartość wilgoci zmalała do 4-5% wagowych przy czym dłuższe napromienianie nie wywołało większego odwodnienia. **Dowodzi to, iż zawartość wody silniej związanej, jest niezależna od rodzaju skrobi.** Wskazują na to również mniejsze wartości średnich ciężarów cząsteczkowych wyznaczonych dla próbek skrobi naświetlonych.

Skrobia kukurydziana, kukurydziana woskowa oraz pszena posiadają strukturę krystaliczną typu A o większej fotostabilności w porównaniu do struktury B-charakterystycznej dla skrobi ziemniaczanej. Najwyższy stopień krystaliczności wśród badanych próbek posiada nienaświetlona próbka skrobi kukurydzianej woskowej ($X_c=33\%$), zaś najniższy-skrobia ziemniaczana (17.6%).

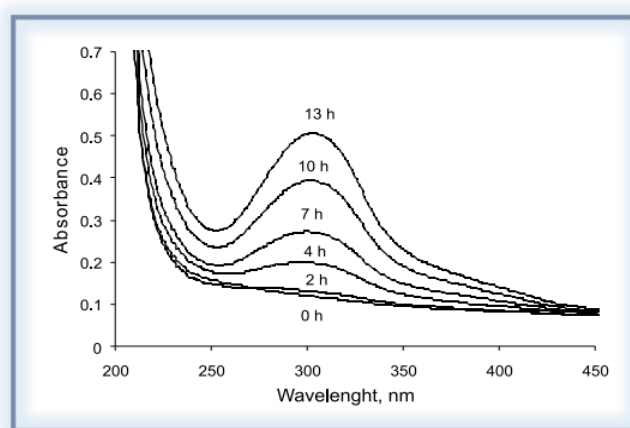
Za pomocą spektroskopii FTIR wykazałam różną wrażliwość skrobi na promieniowanie UV, odmienną podatność na sieciowanie, a także złożone zmiany konformacyjne (w tym przejście z układu helisy do kłęбка statystycznego) i wreszcie zajście reakcji fotochemicznych. Ponieważ obserwowane zmiany są nieregularne, sugeruje to pewną odwracalność fotoprocessów. **Najbardziej podatna na zmiany wywołane działaniem promieniowania UV była skrobia ziemniaczana (spadek X_c z 17.6% do 8.7%), co wskazuje na jej wydajną amorfizację, oraz największą niestabilność w tych warunkach, w porównaniu do pozostałych analizowanych rodzajów botanicznych tego polisacharydu.** Obserwowany trend można wytłumaczyć zarówno reakcjami fotochemicznymi i procesami fotofizycznymi oraz największą utratą wody podczas naświetlania. Eliminacja związanej wody, która odgrywa ważną rolę w oddziaływaniach międzycząsteczkowych powoduje częściowe zniszczenie wiązań wodorowych, a to prowadzi do destabilizacji struktury, zmian konformacyjnych i zmian stopnia krystaliczności. Może być zatem jedną z ważniejszych przyczyn istotnych zmian uporządkowania molekularnego skrobi ziemniaczanej, w porównaniu do pozostałych próbek. W tym przypadku mogło również dojść do transformacji struktury B→A, która silnie zależy od zawartości związanej wody [H-2].

Promieniowanie UV powoduje znikome zmiany w zawartości amylozy, porównywalne dla 4 badanych typów skrobi. Mały spadek zawartości amylozy (o około 2% we wszystkich typach skrobi) wskazuje, że jej fotostabilność jest nieco niższa w porównaniu do amylopektyny. **Uważam, że liniowość łańcuchów amylozy i ich większa elastyczność sprzyja częściowemu fotosieciowaniu, głównie na powierzchni granulki skrobi. Wiązania sieciujące mogą wzmacniać strukturę polisacharydu i chronić przed dalszym niszczeniem.** Niemniej jednak 8-godzinne napromieniowanie UV spowodowało znaczny spadek ciężarów cząsteczkowych skrobi kukurydzianej, kukurydzianej woskowej i pszennej, co potwierdza pękanie łańcuchów. Również wzrost polidispersyjności w skrobi kukurydzianej i kukurydzianej woskowej jest dowodem konkurencyjnych reakcji rozszczepienia łańcucha i rekombinacji makrorodnikowej, zachodzących ze znaczną wydajnością. Odmienny trend - wzrost średnich ciężarów cząsteczkowych w przypadku skrobi ziemniaczanej, wskazuje na fotoagregację lub nawet fotosieciowanie. Możliwe, że **agregaty powstają podczas retrogradacji skrobi ziemniaczanej, która zawiera liniowe łańcuchy (ze względu na wyższą zawartość amylozy-26%) bardziej podatne promieniowanie UV.** Również spadek polidispersyjności dla tej skrobi, tj. tworzenie próbki o mniejszym rozrzucie mas cząsteczkowych, wskazuje na utworzenie bardziej jednolitej struktury w efekcie działania UV [H-2].

W następnym kroku określiłam wpływ działania promieniowania UV na chitozan oraz mieszaniny chitozanu ze skrobią ziemniaczaną [H-1]. W efekcie dwugodzinnego napromieniania UV doszło do częściowej fotodestrukcji chitozanu, a oddziaływania wewnątrz- i międzycząsteczkowe w tym biopolimerze uległy osłabieniu lub rozerwaniu. Spowodowało to zmiany uporządkowania struktury, obserwowane jako zmiany w widmach FTIR filmów chitozanu-skrobiowych w zakresie pasm aminowych (1561 cm^{-1}), karbonylowych (1637 cm^{-1}), a także hydroksylowych ($\sim 3370\text{ cm}^{-1}$) i metylenowych ($\sim 2930\text{ cm}^{-1}$). Dłuższe napromienianie nie wpłynęło już na kształt widm, co potwierdza względną stabilizację próbek. Równocześnie nie odnotowałam utraty stabilności skrobi w mieszaninie w warunkach naświetlania UV do 13h, co pozwoliło mi stwierdzić, że **zmiany zaobserwowane w mieszaninach skrobia/chitozan dotyczyły przede wszystkim chitozanu.**

Dodatkowych informacji o zmianach w strukturze chemicznej próbek napromieniowanych UV dostarczyła spektroskopia UV-Vis (rys. 1). Pojawienie się nowego pasma z maximum przy około 300 nm w widmach

napromienianych próbek czystego chitozanu i jego mieszanin ze skrobią, interpretuję jako przejście $n \rightarrow \pi^*$ w grupach karbonylowych utworzonych w wyniku fotoutleniania chitozanu. Intensywność tego nowego pasma rosta wraz z czasem naświetlania i wzrostem zawartości chitozanu [19-23]. Pasma to wskazuje na pojawienie się nowego produktu, który z kolei powodował wzrost czułości na promienie UV materiałów w dalszych etapach degradacji. Rezultaty potwierdzają wcześniejszy wniosek, że skrobia jest bardziej odporna na działanie promieniowania UV niż chitozan, ale także mniej podatna na fotodegradację niż mieszaniny skrobi i chitozanu. Zaobserwowane zmiany właściwości fotochemicznych mieszanek chitozanu i skrobi nie mają charakteru addytywnego, co sugeruje obecność oddziaływań międzycząsteczkowych obu polisacharydów. **Można więc wnioskować, że skrobia działa fotostabilizująco w tym układzie, co może być szczególnie cenne dla opakowań przeznaczonych do produktów łatwosujących się i podatnych na destrukcyjne działanie promieni UV.**



RYСУNEK 1. Zmiany w widmach UV-Vis mieszaniny skrobia/chitozan (25:75) po napromienianiu UV (czas napromieniania podano na widmach) [H-1].

II.2. MODYFIKACJA SKROBI ZA POMOCĄ CHITOZANU I ŻELU Z *ALOE VERA* [H-3]

Jednym z kluczowych celów prowadzonych przeze mnie badań, było nadanie filmom skrobiowym właściwości przeciwdrobnoustrojowych, tak by jako materiały opakowaniowe chroniły przed degradacją biologiczną produkty łatwosujące się. Stanowi to całkowicie nowatorskie podejście, jeśli chodzi o przemysł opakowań spożywczych. Takie „inteligentne” opakowania mogą zrewolucjonizować rynek opakowań, nadając mu szczególne znaczenie w ochronie żywności i przeciwdziałając jej marnotrawieniu, co aktualnie stało się problemem globalnym. W celu realizacji tego pomysłu folie biopolimerowe (skrobiowo/chitozanowe) wzbogaciłam żelem aloesowym. Określiłam ich właściwości powierzchniowe i morfologię, hydrofilowość i rozpuszczalność w wodzie, stabilność termiczną oraz podatność na promieniowanie UV, których znajomość jest konieczna by możliwe było praktyczne zastosowanie w przemyśle pakowania żywności ale także kosmetyków, oraz w rolnictwie. Działając synergistycznie z substancjami czynnymi obecnymi w żelu *Aloe vera*, takimi jak enzymy lub witaminy, otrzymane biomateriały zyskały również wiele właściwości farmakologicznych, cennych zarówno dla przemysłu kosmetycznego, farmaceutycznego jak i medycyny. Stanowi to dodatkowy atut zaprojektowanych przeze mnie mieszanin. O właściwościach przeciwdrobnoustrojowych żelu aloesowego decyduje obecność składników antyseptycznych m.in. kwasu salicylowego i cynamonowego, lueolu, glikoprotein,

prostaglandyn, mukopolisacharydów i kwasu gamma-linolowego, skutecznym przeciwko szczepom *E. coli*, *K. pneumoniae* i *S. aureus*. Mając również na uwadze jego potencjał antyoksydacyjny wynikający z obecności składników fenolowych i polisacharydowych (np. mannanu, acemannanu, glukomannanu) oczekiwałam, że aloes może przyczynić się do nadania tych cech projektowanym filmom. Przeprowadziłam modyfikację filmów skrobi/chitozanu (udział chitozanu w filmach wnosił 5 g/100 g skrobi) za pomocą biokompatybilnego żelu *Aloe vera* (AV) poprzez „wbudowanie” go w matrycę biopolimerową w stężeniach 10-50% wag/100g skrobi.

Zmiany w widmach FTIR-ATR mieszanin potwierdzają wzajemność oddziaływań składników, tworzenie międzycząsteczkowych wiązań wodorowych powstających pomiędzy makrocząsteczkami tego samego typu (np. skrobia-skrobia) lub pomiędzy różnymi cząsteczkami (składniki *Aloe vera*-skrobia-chitozan) oraz wzajemną interkalację substratów [24]. Obserwowałam zmiany konformacyjne i zmiany stopnia uporządkowania w skrobi w mieszaninach za pomocą metod ATR-FTIR oraz XRD. Należy wspomnieć, że analiza ATR-FTIR umożliwia oznaczenie uporządkowania krótkiego zasięgu na poziomie molekularnym (technika ta odnosi się do powierzchni próbki), podczas gdy wyniki uzyskane metodą XRD dotyczą całej masy próbki i pozwalają na wyznaczenie względnych wartości stopnia krystaliczności (czyli tzw. uporządkowania dalekiego zasięgu). Wykazałam mniejszy wpływ stężenia modyfikatorów na uporządkowanie krótkiego zasięgu skrobi w mieszaninach. Jednakże wobec 50% dodatku aloesu (próbka skrobia/chitozan/50% *Aloe v.*, „SCA 50”) ten wpływ był już wyraźniejszy i powodował transformacje konformacyjne, a także amorfizację skrobi.

Za pomocą analizy XRD wykazałam semikrystaliczny charakter natywnej skrobi ziemniaczanej, której stopień krystaliczności wynosił $X_{c, XRD} = 17.6\% - 26\%$ [H-2, H-4] zaś po plastyfikacji glicerolem $X_{c, XRD} = 16\% - 23\%$ (H-2 – H-5, H-8], a także w mieszaninach skrobiowo/chitozanowych (SC) ($X_{c, XRD} = 19.6$ i $29,36\%$) [H-8 i H-3].

Na podstawie tych badań stwierdziłam, że w efekcie plastyfikacji skrobi, która jest procesem koniecznym do otrzymania filmu, doszło do zmian konformacyjnych wskutek pęknięcia makrołańcuchów skrobi w obszarze amorficznym i rekrytalizacji. Należy podkreślić, że stopień uporządkowania zależy od wielu czynników; m.in. od rodzaju botanicznego skrobi, ilości amylozy i amylopektyny, indywidualnych warunków doświadczalnych oraz metodologii przygotowania próbki. Kluczowy wydaje się być czas i temperatura procesów, którym poddawany jest materiał. W prezentowanych badaniach skrobia została poddana działaniu wielu czynników (m.in. wzrostowi temperatury podczas przygotowywania mieszanin, parowaniu rozpuszczalnika podczas mieszania, działaniu gliceryny i innych dodatków), a każdy z nich może mieć wpływ na właściwości uzyskanego materiału. W ten sposób można wyjaśnić różnice w wartościach X_c wyznaczonych dla skrobi w mieszaninach przygotowanych na potrzeby różnych eksperymentów. Obróbka skrobi z glicerolem w wysokiej temperaturze powoduje wzrost podatności na retrogradację oraz indukuje zmiany w porządku krystalicznym biopolimeru i szybką rekrytalizację struktur monospiralnych amylozy. Efekt procesu retrogradacji, obserwowałam na dyfraktogramach w postaci pasm charakterystycznych dla typów krystalicznych V_H ($2\theta \approx 21-22^\circ$) i E_H ($2\theta \approx 17-18^\circ$). Pierwszy z wymienionych typów - V_H odzwierciedla obecność pojedynczej spiralnej struktury zwanej "kompleksem inkluzyjnym", która składa się z amylozy i glicerolu związanych wiązaniami wodorowymi [25] [H-4].

Następnie, dodając do mieszanin żel *Aloe vera* obserwowałam obniżenie stopnia krystaliczności skrobi w porównaniu z próbką skrobia/chitozan (29%), aczkolwiek względna krystaliczność wzrastała wraz ze wzrostem stężenia żelu aloesowego (od 25.6% do niemal 33.7%). Taki trend zmian uporządkowania struktury może wynikać

z wzajemnych oddziaływań (np. tworzenia wiązań wodorowych) między amylozą-amylopektyną, amylopektyną-amylopektyną i/lub ich reakcji z innymi składnikami (chitozaniem i *Aloe v.*) na etapie otrzymywania mieszanin. Na zmniejszenie stopnia uporządkowania krystalicznego skrobi w różnych próbkach może wpływać wzrost zawartości wilgoci w materiałach polimerowych i odwrotnie; spadek wilgoci następuje ze wzrostem krystaliczności biopolimeru, np. w SCA 40%. Stąd obserwowane przez mnie zmiany kształtu i intensywności sygnałów dyfrakcyjnych XRD, które są bardzo wrażliwe na zawartość wody w próbce.

Dodatkowo stwierdziłam zmniejszenie wielkości krystalitów w skrobi plastyfikowanej glicerolem i modyfikowanej chitozaniem oraz żelem aloesowym w odniesieniu do natywnej skrobi ziemniaczanej.

Ważnym etapem badań było sprecyzowanie parametrów, które mają decydujące znaczenie podczas produkcji materiałów polimerowych na skalę przemysłową. Proces przetwórczy z wykorzystaniem wyłaczarek/wtryskarek przemysłowych wymaga wysokiej temperatury, stąd wiedza o odporności termicznej i stabilności polimerów w takich mieszaninach ma szczególne znaczenie. Temperatura przy maksimum szybkości głównego etapu rozkładu (T_{max} w przedziale 293–303°C) określa etap termicznej depolimeryzacji i degradacji termicznej składników mieszanin: chitozanu i skrobi (wskutek pęknięcia wiązań glikozydowych amylozy jak i amylopektyny powstały struktury mono- i disacharydów). Zaobserwowałam obniżenie temperatury w maximum rozkładu dla mieszanin skrobia/chitozan w porównaniu do T_{max} czystych komponentów, a równocześnie obecność pojedynczego pików na termogramach, co stanowi potwierdzenie wzajemnych oddziaływań i sieciowania między skrobią a chitozaniem oraz utworzenia głównego układu jednofazowego. Jednak wobec większych stężeń aloesu w mieszaninie, a szczególnie najwyższego stężenia wynoszącego 50%, pojawił się trend nakładania się procesów termicznych, podczas których mogło dojść do adsorpcji gazowych produktów rozkładu próbki na powierzchni (obserwowałam poszerzenie krzywej DTG wraz z zaznaczonymi dwoma nowymi maximami).

Mieszaniny skrobia/chitozan/*Aloe v.* ulegały rozkładowi w temperaturach (T_{max}) wyższych niż materiał bez żelu aloesowego, niemniej jednak sam proces rozkładu termicznego rozpoczynał się w temperaturze kilka stopni niższej. T_{max} są przesunięte z 293 °C (dla folii skrobiowej) do 298 °C (dla folii skrobia/chitozan SC) i do 302 °C (dla próbki z 50% żelem *Aloe vera*). Poprawę termicznej stabilności układów mogę wyjaśnić wzajemną interkalacją i aglomeracją chitozanu i aloesu wewnątrz matrycy skrobiowej i tworzeniem nowych wiązań międzymolekularnych. Obserwowałam wzrost uporządkowania struktury dalekiego zasięgu (wzrost $X_{c, XRD}$) skrobi wraz ze wzrostem stężenia żelu aloesowego wyznaczonym metodą XRD.

Podsumowując, **modyfikacja żelem *Aloe Vera* wpłynęła znacząco na wzrost termicznej odporności filmów mieszanin w porównaniu do skrobi niemodyfikowanej.**

Następnie dowiodłam, że wskutek napromieniania UV tych mieszanin **doszło do fotosieciowania poprzez tworzenie wiązań kowalencyjnych lub wodorowych pomiędzy składnikami (z większą wydajnością, niż miało to miejsce w mieszaninie skrobiowo/chitozanowej bez aloesu), co wzmacniało strukturę filmów.** Zarówno temperatura w maksimum pierwszego etapu degradacji, związanego z utratą wilgoci, jak również etapu głównego rozkładu termicznego próbki osiągały wyższe wartości w porównaniu z próbkami nienapromieniowanymi [Rys.6 w H-3]. Wyniki te zostały poparte zmniejszeniem stopnia krystaliczności skrobi w mieszaninach z chitozaniem i aloesem po napromienianiu UV.

Wzajemne oddziaływania składników w matrycy, a także wpływ promieniowania UV skutkowało zmianami w charakterze hydrofilowym filmów. **Film skrobia/chitozan był najbardziej hydrofobowy** (Swobodna Energia Powierzchniowa (SFE) równa 32.9 mJ/m^2), zaś dodatek żelu aloesowego spowodował nieznaczny wzrost polarności filmów, a zatem i rozpuszczalności próbek w wodzie (dla filmu skrobia/chitozan/50% aloes $\text{SFE}_{\text{SCA50}} = 36.8 \text{ mJ/m}^2$). Obserwowałam również liniową korelację wzrostu hydrofilowości i stężenia aloesu w filmie.

Napromienianie UV spowodowało wzrost rozmiarów krystalitów skrobi, oraz - w większości filmów skrobiowo-chitozanowych (SC) z aloesem (A) - zmniejszenie stopnia uporządkowania skrobi (X_c , XRD) najprawdopodobniej wskutek sieciowania i tworzenia wiązań wodorowych w mieszaninie pod wpływem naświetlania [H-3].

Potwierdziłam również silny wpływ napromieniowania UV oraz stężenia *Aloe vera* w matrycy na właściwości powierzchniowe filmów skrobiowych i ich charakter hydrofobowy (pomiar kąta zwilżania). Obserwowałam wzrost polarności poszczególnych mieszanin poddanych napromienianiu UV przez 24 godziny, co mogło być zainicjowane reakcjami degradacji fotoutleniającej składników filmów. Z kolei **zwiększenie stężenia wprowadzonego do matrycy żelu aloesowego ograniczało degradacyjny wpływ promieniowania UV na filmy skrobiowo-chitozanowe.** Film z najwyższym 50% dodatkiem aloesu był najbardziej hydrofilowym, ale równocześnie najbardziej stabilnym tj. najmniej podatnym na zmiany hydrofilowości pod wpływem promieniowania UV. Uważam, iż sieciowanie wywołane światłem UV, doprowadziło do zagęszczenia struktury, a szybkość sieciowania (np. tworzenia wiązań wodorowych) i gęstość sieci są związane z stężeniem *Aloe vera*.

Jak można się spodziewać, filmy nie będą się rozpuszczać w zimnej wodzie ze względu na duży udział chitozanu i skrobi. Dowiodłam, że również włączenie żelu aloesowego do matrycy skrobiowo/chitozanowej nie miało istotnego wpływu na rozpuszczalność filmów w wodzie, która była porównywalna do rozpuszczalności filmu bez aloesu. Jednak działanie promieniowania UV modyfikowało ich stabilność w wodzie. Rozpuszczalność malała, gdy próbki zostały poddane wcześniej 24-godzinnemu napromienianiu UV, a ograniczenie rozpuszczalności było największe w przypadku próbki bez dodatku *Aloe v.* oraz w filmie z jego najniższym, 10%-owym udziałem, zaś ze wzrostem stężenia aloesu w mieszkankach wpływ promieniowania był mniej wyraźny.

W moich badaniach nad opisywanymi układami skupiłam się również na analizie topograficznej uzyskanych biofilmów. Ich powierzchnie były bardzo nierówne, z licznymi wgłębieniami, przy czym nie obserwowałam szczególnych różnic wizualnych w topografii folii, niezależnie czy zawierały aloes, czy też nie. Trend zmian parametrów chropowatości: średniej arytmetycznej i średniej kwadratowej chropowatości (odpowiednio: R_a, R_q ; nm) był jednak odmienny dla filmów skrobia/chitozan oraz filmów zawierających dodatkowo aloes, chociaż nie obserwowałam wpływu stężenia żelu aloesowego w błonie na morfologię powierzchni (w tym przypadku zmiany były nieregularne). Wartości parametrów chropowatości filmu skrobia/chitozan były znacznie niższe niż parametrów filmów z *Aloe vera*, ale rosły niemal dwukrotnie po naświetlaniu, czego przyczyną mogą być procesy degradacyjne zachodzące na powierzchni, a prowadzące do zmian morfologicznych („trawienia” powierzchni promieniowaniem UV) oraz zmian stopnia uporządkowania (X_c). Z kolei filmy skrobi/chitozanu zawierające aloes cechuje powierzchnia znacznie bardziej chropowata, aczkolwiek napromienianie UV sprzyja znacznej redukcji nierówności, co może być rezultatem zajścia procesów fotodegradacyjnych oraz ulatniania produktów lotnych z powierzchni, pozostawiając ją tym samym gładszą.

Cennych informacji dostarczyły testy mikrobiologiczne, które zostały zrealizowane dzięki współpracy z Instytutem Materiałów Polimerowych- Sieć badawcza Łukasiewicz w Toruniu. Badane materiały, stanowiąc źródło węgla zarówno dla bakterii (*Bacillus sp.*), jak i grzybów (*Fusarium culmorum*) stymulowały rozwój tych mikroorganizmów. **Wszystkie próbki uległy procesom biodegradacji, co zostało potwierdzone ubytkami masy; jednak proces ten był najintensywniejszy w przypadku próbki skrobi/chitozanu z najniższym dodatkiem *Aloe Vera* (10%) i malał ze wzrostem jego stężenia w próbce. Filmy okazały się również bardziej wrażliwe na działanie bakterii (*Bacillus sp.*) niż grzybów (*F. culmorum*).** Zatem folie skrobi/chitozanu modyfikowane żelem aloesowym zyskały zwiększoną odporność na aktywność mikrobiologiczną, co jest korzystne w zastosowaniach opakowaniowych w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym i kosmetycznym. Takie materiały będą w stanie zapewnić dłuższy okres przydatności do użycia pakowanych produktów, a ponieważ są wykonane z materiałów całkowicie biodegradowalnych, nie stanowią zagrożenia dla środowiska naturalnego. Cel, który sobie postawiłam projektując i badając opisane układy był całkowicie nowatorski i spotkał się z szerokim zainteresowaniem świata nauki (H-3, 93 cytowania według bazy WoS na dzień 20.11.2025).

III. KOMPOZYTY SKROBIOWE O WŁAŚCIWOŚCIACH ANTYOKSYDACYJNYCH I PRZECIWROBNOUSTROJOWYCH

Najnowsze trendy badań nad ekologicznymi opakowaniami dla żywności obejmują projektowanie materiałów posiadających działanie ochronne przed promieniowaniem UV i widzialnym. Badania prowadzone m.in. na foliach żelatynowych z ekstraktem z miłorzębu japońskiego [33], filmach chitozanowych modyfikowanych algami [34] oraz kwasem galusowym [35] potwierdziły satysfakcjonujące właściwości przeciwutleniające tych układów. Prace te stanowią inspirację do poszukiwania nowych modyfikatorów o takim działaniu, nieopisanych dotąd w literaturze. **Zgodnie z tą myślą zaprojektowałam grupę biomateriałów na matrycach skrobiowych i skrobiowo-chitozanowych modyfikowanych skrobią dialdehydową oraz substancjami pochodzenia naturalnego wykazującymi zdolności antyoksydacyjne, jak również, w mniejszym lub większym stopniu, przeciwdrobnoustrojowe.** Unikalność tych materiałów, dedykowanych np. na powłoki produktów spożywczych, oprócz działania chroniącego przed promieniowaniem, polega na ich całkowitym bezpieczeństwie dla użytkowników i pełnej biodegradowalności.

III.1. MODYFIKACJA SKROBIĄ DIALDEHYDOWĄ [[H-4, H-8]

Nowatorski, inteligentny materiał opakowaniowy dla produktów łatwo psujących się powinien wykazywać właściwości przeciwdrobnoustrojowe i przeciwutleniające przy zachowaniu całkowitego bezpieczeństwa i nietoksyczności. Uznałam, że cennym surowcem dla takich zadań będzie skrobia dialdehydowa, w której obecność reaktywnych grup karbonylowych przy atomach C-2 i C-3 odpowiada za działanie antybakteryjne i antywirusowe. Ponadto działa ona jako środek sieciujący, tym samym poprawiając wytrzymałość mechaniczną modyfikowanego materiału polimerowego. W prowadzonych przeze mnie badaniach skrobię dialdehydową (DS) otrzymałam w reakcji utleniania NaIO_4 uzyskując produkt o zawartości grup aldehydowych ~40%, wyznaczonej metodą miareczkową [26]. DS wykazywała charakter amorficzny (potwierdzony analizą dyfraktograficzną, XRD), co było skutkiem pęknięcia wiązań C2-C3 w pierścieniu glikozydowym, zarówno we frakcji amylozy jak

i amylopektyny [26, 27]. Zatem utlenianie skrobi spowodowało zmiany w uporządkowaniu dalekiego zasięgu, a także prowadziło do reorganizacji regionów krystalicznych i amorficznych w granulach skrobi [H-4].

Uzyskana skrobia dialdehydowa wykazywała cechy mieszaniny polimorficznych struktur krystalicznych typu A i B (wobec typu polimorficznego B skrobi ziemniaczanej niemodyfikowanej), a także w mniejszym stopniu cechy typu V, wskazujące na obecność pojedynczej spiralnej konformacji potwierdzone bardzo słabym sygnałem przy $\delta \sim 85$ ppm w widmie $^{13}\text{C-NMR}$ [28]. Obecność grup aldehydowych w miejscach pęknięcia wiązania C2 i C3 potwierdziłam obecnością w widmie NMR skrobi dialdehydowej ostrych maximów w zakresie 95–90 ppm [H-8]. Następnie przygotowałam mieszaninę skrobi ze skrobią dialdehydową (NS/DS). **Zaproponowany przeze mnie sposób modyfikacji pozwolił na otrzymanie unikalnego materiału (o znacznie lepszych właściwościach w porównaniu z filmem czystej skrobi), który nie był opisany dotychczas w literaturze.** Tworzenie nowych wiązań, m.in. wiązania hemiacetalowego między grupą C=O skrobi dialdehydowej a grupą hydroksylową skrobi w mieszaninie (NS/DS) potwierdziłam obserwując zmiany kształtu i intensywności sygnałów (np. sygnału przy 82 ppm) w widmie $^{13}\text{C-NMR}$ (w porównaniu do widm czystych składników). Stwierdziłam także niemal dwukrotny spadek stopnia uporządkowania struktury (z ~ 19 na 9%) wobec X_c skrobi natywnej. Ponadto obserwowałam wzrost hydrofobowości i wzrost elastyczności filmu NS/DS, co jest najprawdopodobniej efektem interakcji chemicznej pomiędzy skrobią/skrobią dialdehydową i zastosowanym do przygotowania filmu plastyfikatorem-gliceryną, prowadzącej do utworzenia zintegrowanej sieci. Wykazałam również nadanie cech antyutleniających filmowi NS/DS z gliceryną (DPPH=3%).

III.2. KOMPOZYTY SKROBIOWE O WŁAŚCIWOŚCIACH ANTYOKSYDACYJNYCH Z DODATKAMI PRZECIWUTLENIAJĄCYMI: KOFEINĄ, KWASEM ASKORBINOWYM, KWASEM CHINOWYM I KWASEM KAWOWYM [H-4, H-5]

Nowoczesny materiał przeznaczony na opakowania lub powłoki żywności, ale także leków czy kosmetyków, wymaga nie tylko właściwości przeciwdrobnoustrojowych, dużej biokompatybilności i bezpieczeństwa dla konsumentów/użytkowników oraz środowiska naturalnego, ale również właściwości antyoksydacyjnych [29, 30]. Cecha ta jest szczególnie ważna dla ochrony produktów łatwopsujących się, podatnych na działanie czynników środowiskowych, takich jak wspólne działanie tlenu, temperatury, czy właśnie promieniowania UV i widzialnego. W moich badaniach skupiłam się na otrzymaniu nowych, dotychczas nigdy nie badanych materiałów na bazie skrobi ziemniaczanej (**NS**), modyfikując ją całkowicie bezpiecznymi i naturalnymi substancjami o właściwościach przeciwutleniających: kwasem askorbinowym (**Vit.C**), kofeiną (**Caf**), oraz kwasami: chinowym (**QA**) i kawowym (**CA**). Dodatkowo jako czynnik sieciujący wprowadziłam do układów skrobię dialdehydową (**DS**) oraz w każdym przypadku glicerynę w charakterze plastyfikatora. Projektując składy filmów kierowałam się również tym, aby końcowy produkt cechował się biodegradowalnością, ograniczoną przepuszczalnością gazów i wilgoci, zwiększoną hydrofobowością, a także poprawionymi właściwościami mechanicznymi (w odniesieniu do skrobi niemodyfikowanej). Przedmiotem mojego zainteresowania było wyjaśnienie wpływu poszczególnych składników na końcowe właściwości kompozytu, np. potwierdzenie oczekiwań co do utrzymania skuteczności przeciwutleniającej modyfikatorów związanych ze skrobią. Zaprojektowane przeze mnie materiały wpisują się w szerszy temat dotyczący modyfikacji skrobi wysokohydrofilowej do zastosowań przemysłowych.

Za pomocą technik spektroskopowych (FTIR, Ramana):

- wykazałam wzajemność oddziaływań i sieciowanie między skrobią i/lub skrobią dialdehydową a wszystkimi zastosowanymi utleniaczami, tj. tworzenie wiązań estrowych np. pomiędzy grupami hydroksylowymi skrobi i skrobi dialdehydowej, a grupami karbonylowymi/hydroksylowymi skrobi dialdehydowej i antyutleniaczy (np. zanik maksimum przy 1758 cm^{-1} , odpowiadającego drganiom rozciągającym C=O w pierścieniu laktonowym witaminy C w widmie mieszaniny NS/DS/Vit.C, a obecnego w widmie FTIR-ATR próbki NS/Vit.C). Potwierdza to udział skrobi dialdehydowej w reakcji estryfikacji na etapie przygotowywania próbki NS/DS/Vit.C.,

- obserwowałam zmiany uporządkowania krótkiego zasięgu w strukturze skrobi po modyfikacji oraz przejście formy helisy w bardziej zwartą strukturę kłęбка statystycznego we wszystkich mieszaninach, przy czym największe zmiany zachodziły w próbkach zawierających kofeinę. Natomiast mieszaniny z witaminą C charakteryzowały się większą stabilnością [31].

- wykazałam zmniejszenie stopnia krystaliczności skrobi (X_c , X_{RD}) w mieszaninach z antyutleniaczami (wyj. NS/Caf. oraz NS/Vit.C, gdzie odnotowałam nieduży wzrost X_c) oraz dalsze zmniejszenie stopnia uporządkowania skrobi po wprowadzeniu skrobi dialdehydowej (tutaj wyjątkiem są mieszaniny z kwasem chinowym). Największy spadek uporządkowania skrobi miał miejsce we wspomnianej już mieszaninie NS/DS oraz w filmie NS/DS/Caf., co dowodzi między- i/lub wewnątrzcząsteczkowych reakcji sieciowania i tworzenia bardziej zwartych struktur. Zmienność X_c wyjaśniłam kokrystalizacją amylopektyny i amylozy oraz krystalizacją amylozy w pojedyncze helisy.

- odnotowałam wzrost barierowości dla wilgoci w przypadku filmów zawierających skrobię dialdehydową i/lub antyutleniacze będący skutkiem sieciowania z tworzeniem ugrupowań półacetalowych prowadzących do amorfizacji. Najlepszą dyspersję modyfikatorów w matrycy skrobiowej uzyskałam dla filmu skrobi ze skrobią dialdehydową i witaminą C (NS/DS/Vit.C) – był to film o najwyższej jednorodności, integralności i zwartej strukturze, co pokazały zdjęcia AFM.

Zgodnie z wynikami ATR-FTIR, próbki ze skrobią dialdehydową charakteryzowały się również większą chłonnością wilgoci, co nie jest równoznaczne z jej przepuszczalnością. Mieszanina skrobi z witaminą C była najbardziej hydrofilowa spośród wszystkich badanych układów, natomiast film skrobi z kofeiną (NS/Caf.) cechował się bardzo dużym stopniem pęcznienia, uniemożliwiając ocenę hydrofilowości metodą pomiaru kąta zwilżania. W obu przypadkach modyfikacja skrobią dialdehydową zwiększyła hydrofobowość filmów (najbardziej filmu z witaminą C – NS/DS/Vit.C). Zjawisko to znalazło również potwierdzenie w ubytku masy próbek po wysuszeniu (najniższym dla próbek skrobia/DS./kofeina) i pomiarach kąta zwilżania [H-4, H-5].

Najważniejsze parametry charakteryzujące mieszaniny skrobi z antyutleniaczami i/lub skrobią dialdehydową przedstawiono w Tabeli 1.

TABELA 1. Wybrane parametry fizyko-chemiczne filmów skrobiowych z antyutleniaczami [H-4, H-5]

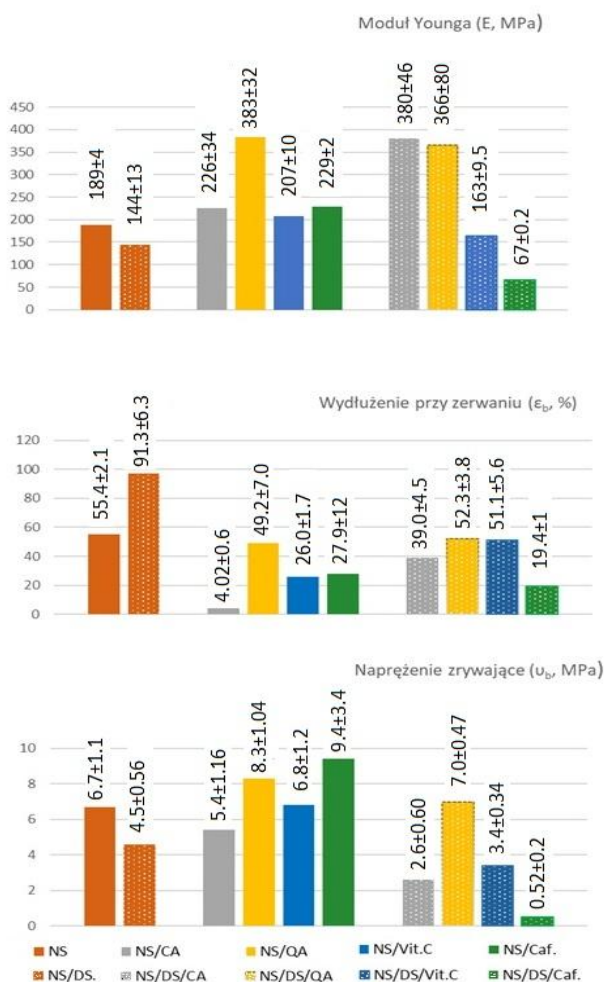
Próbka	Xc, %	R _{OH} [H-5/H-4]	WVTR, g/m ² -h (po 48h/168h)	Test DPPH, %	BOD, mgO ₂ /kg ziemi po 7dniach/BOD _{max} · (dzień) /po 28 dniach		
NS	19.12	3.25/11.89	6.89/7.78	2.14±0.3	880	-	1791
NS/CA	14.52	3.8/----	--/7.17	80.5	1251	1325 (8 dni)	724
NS/QA	13.73	3.9/----	--/6.96	4.7	1533	1800 (12 dni)	1251
NS/Vit.C	21.88	----/13.9	8.48/8.66	44.6±5	1700	2470 (12 dni)	2474
NS/Caf.	19.93	----/9.89	5.12/6.46	2.06±0.3	1715	2313 (12 dni)	2450
NS/DS	9.35	----/11.49	6.11/7.00	3.05±0.8	950	1542 (14 dni)	1337
NS/CA/DS	13.45	4.52/----	--/6.65	69.10	981	1043 (6 dni)	245
NS/QA/DS	15.51	4.48/----	--/6.48	7.30	1447	1447 (7 dni)	736
NS/Vit.C/DS	17.94	----/13.93	3.52/5.88	65.56±4	1740	2340 (12 dni)	2369
NS/Caf./DS	6.44	----/11.49	5.62/6.80	5.6±0.8	1250	1930 (12 dni)	2085

Xc-stopień krystaliczności, R_{OH} - indeks hydroksylowy (I_{OH}/I_{CH₃}), WVTR - water-vapour transmission rate - szybkość przepuszczalności pary wodnej przez błonę, DPPH - the DPPH-radical-scavenging activity - zdolność zmiatania wolnych rodników, BOD - biological oxygen demand- biologiczne zapotrzebowanie na tlen.

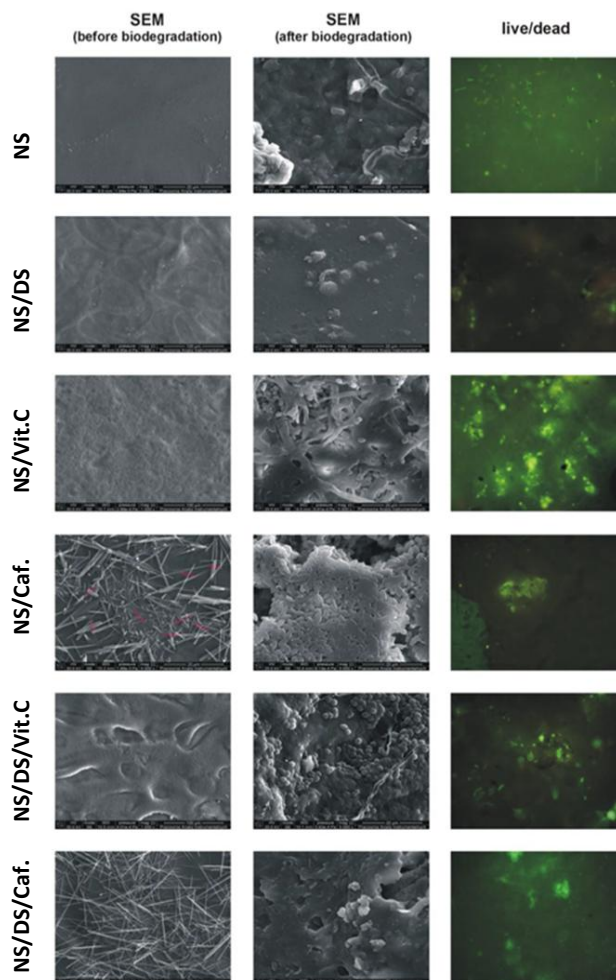
Modyfikacja struktury i zmiany hydrofilowości wpływają z kolei na właściwości mechaniczne i termiczne materiałów (**rys. 2**). W porównaniu z filmem czystej skrobi zaobserwowałam wzrost sztywności folii i znaczny spadek wartości wydłużenia przy zerwaniu mieszanin skrobi ze wszystkimi antyutleniaczami (tj. Caf, QA, CA, Vit.C). Najbardziej elastyczną strukturą cechowała się mieszanina skrobi ze skrobią dialdehydową (NS/DS). Może to być spowodowane interakcjami chemicznymi między skrobią/skrobią dialdehydową a glicerolem (np. formowanie nowych wiązań wodorowych), co skutkuje zdolnością próbki do tworzenia zintegrowanej sieci. Jest to również zgodne z charakterystyką uzyskaną metodami XRD i ATR-FTIR.

Łączny dodatek DS i antyoksydantów spowodował pogorszenie wytrzymałości mechanicznej filmów. Zmiany we właściwościach mechanicznych badanych układów zależą od wielu czynników np. różnic w jednorodności próbek, separacji faz, ale również od możliwości tworzenia nowych wiązań. We wszystkich przypadkach zanotowałam zmniejszenie wartości modułu Younga (z wyjątkiem filmu NS/DS/CA) i naprężenia przy zerwaniu w porównaniu do tych parametrów wyznaczonych dla filmów niezawierających skrobi dialdehydowej. Największy spadek właściwości mechanicznych charakteryzował próbkę NS/DS/Caf., która stanowiła bardziej kruchy film, o większej podatności na pękanie w porównaniu z mieszkanką NS/Caf., będącą sztywnym materiałem o dużej odporności na pękanie. Dodatkowo, kształt i duży rozmiar cząsteczki (np. kwasu kawowego, kofeiny) może stanowić przeszkodę steryczną i tym samym ograniczać możliwość tworzenia międzycząsteczkowych wiązań wodorowych ze skrobią i/lub DS, co skutkuje zmniejszeniem wytrzymałości i sztywności folii. W tej sytuacji preferowane może być tworzenie wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych ze skrobią. W porównaniu z pozostałymi filmami, folie

z kwasem chinowym charakteryzowały się lepszymi właściwościami mechanicznymi, tj. większą odpornością na pękanie i stosunkowo dobrą elastycznością przy zachowaniu pewnej stabilności tych parametrów dla filmu NS/QA i NS/DS/QA. Pomimo pewnych różnic w parametrach wytrzymałościowych, są one w przybliżeniu tego samego rzędu wielkości, co najpopularniejsze materiały syntetyczne (PE lub PS) oraz biopolimery i biokompozyty przeznaczone do pakowania żywności (np. kompozyty PLA, skrobiowe, chitozanowe).



RYSUNEK 2: Parametry mechaniczne filmów skrobiowych modyfikowanych antyutleniaczami i/lub skrobią dialdehydową



RYSUNEK 3: Mikrografie SEM modyfikowanych filmów skrobiowych przed i po biodegradacji oraz mikrografie rezultatów z metody LIVE/DEAD

Dla przygotowanych mieszanin określiłam także aktywność przeciwutleniającą na podstawie zdolności zmiatania rodników DPPH (**Tab. 1**). W czasie reakcji stabilny rodnik DPPH wychwytuje elektrony od substancji antyutleniającej i przechodzi do jasnozabarwionego produktu, tj. formy nierodnikowej DPPH-H, powodując zmianę barwy mieszaniny reakcyjnej z fioletowej na żółtą.

Ustaliłam, że właściwości przeciwutleniające mieszanin zależą od rodzaju modyfikatora. Próbkę skrobi (NS) i filmu skrobi modyfikowanej kofeiną (NS/Caf.) wykazują bardzo niską, ale porównywalną aktywność wymiatania DPPH,

na poziomie 2%. Świadczy to o bardzo małym potencjale antyoksydacyjnym tych układów. Jednak nieznaczny wzrost aktywności wymiatania DPPH (do 3%) zaobserwowano po zmieszaniu skrobi ze skrobią dialdehydową (NS/DS). Wynik ten jest adekwatny do aktywności przeciwutleniającej DS, która jest bezpośrednio przypisywana grupom aldehydowym, wykazującym zdolność dezaktywacji rodników DPPH wskutek oddawania atomów wodoru.

Właściwości przeciwutleniające filmu skrobiowego uległy znacznej poprawie po dodaniu kwasu askorbinowego: zdolność wymiatania wolnych rodników DPPH przez próbkę NS/Vit.C wyniosła ~44%, a film wzmocniony skrobią dialdehydową (NS/DS/Vit.C) wykazał jeszcze wyższy wzrost aktywności przeciwutleniającej (do ~63 %). Dowodzi to synergistycznego działania przeciwutleniającego kwasu askorbinowego i skrobi dialdehydowej. Rezultaty dla układów z kwasem kawowym są również obiecujące i nawet wyższe ($DPPH_{NS/DS/CA} = 69\%$ i $DPPH_{NS/CA} = 80\%$) niż wyniki uzyskane dla mieszanin skrobi z witaminą C. Obserwowany trend można wyjaśnić działaniem antyoksydacyjnym przypisanym grupom aldehydowym w DS, działających jako donory atomów wodoru i uczestniczących w wymiataniu rodników. Ponieważ część z nich została zużyta w reakcji z kwasem kawowym, stąd aktywność przeciwutleniająca próbki NS/DS/CA uległa zmniejszeniu [32].

Natomiast niespodziewanie niski potencjał antyoksydacyjny uzyskałam dla folii z kwasem chinowym ($DPPH_{NS/QA} = 5\%$) i nieco wyższy wynik dla kompozytu skrobi z kwasem chinowym i skrobią dialdehydową (NS/DS/QA) - aktywność przeciwutleniającą oszacowałam tu na około 7%. Analogiczny trend zaobserwowałam w przypadku mieszaniny NS/DS/Caf., gdzie mimo, iż właściwości przeciwutleniające były stosunkowo niewielkie ($DPPH$ wynosił 5,6%), to jednak ich wzrost był ponad dwukrotny w porównaniu z mieszaniną NS/Caf. ($DPPH_{NS/Caf.} = 2\%$) [H-4].

Analiza termogravimetryczna również potwierdziła sieciowanie w mieszaninie DS z innymi składnikami. Główny etap degradacji termicznej, wraz z utratą masy na poziomie od 53 do 70%, dla wszystkich filmów skrobi modyfikowanej dodatkami przeciwutleniającymi rozpoczynał się znacznie szybciej (173°C, 191°C i 142°C, odpowiednio dla filmów NS/DS., NS/DS/Vit.C i NS/DS/Caf.) niż filmu czystej skrobi ($T_0 = 255^\circ\text{C}$). Taki trend zmian sugeruje znaczącą interkalację modyfikatorów i/lub ich aglomerację wewnątrz matrycy skrobiowej. Największe obniżenie stabilności termicznej było charakterystyczne dla próbki zawierającej zarówno kofeinę, jak i DS. Według doniesień literaturowych stabilność termiczna skrobi dialdehydowej maleje wraz ze wzrostem stężenia grup aldehydowych [36, 37]. Moje wyniki są zgodne z obserwacjami ww. autorów ponieważ temperatura przy maksymalnej szybkości rozkładu próbki skrobi w mieszaninie NS/DS wynosiła 303°C, a w czystej skrobi ~308°C.

Grupy aldehydowe DS reagowały ze skrobią natywną i wprowadzonymi modyfikatorami, co skutkowało przesunięciami T_{max} z 302–306°C (NS/QA, NS/CA) do 284–286°C (dla NS/DS/kwasy). Mieszaniny te (NS/DS/QA i NS/DS/CA) cechowała największa utrata stabilności termicznej. Z kolei tworzenie półacetalu i sieciowanie z powstaniem bardziej stabilnych struktur wydają się również bardzo prawdopodobnie w mieszaninie NS/DS/Vit.C, gdzie maksimum rozkładu termicznego filmu miało miejsce w temperaturze 311°C (wobec 301°C dla NS/Vit.C). Ilość pozostałości węglowej - większa dla mieszanin zawierających skrobię dialdehydową – potwierdza wiązania wewnątrz- i międzycząsteczkowe między składnikami mieszaniny i tworzenie stabilniejszych termicznie aglomeratów. **Konkludując, mimo odmiennej wrażliwości termicznej badanych próbek, obserwowane różnice są na tyle nieznaczne, że nie dyskwalifikują ich przetwórstwa.**

Odmienny skład filmów wpływał również na różnice w morfologii powierzchni [H-5]. Film skrobi natywnej cechował się drobniejszym pofałdowaniem i mniejszymi wartościami parametrów chropowatości (AFM) niż powierzchnie filmów mieszanin. Topografie mieszanin są do siebie podobne, z wyjątkiem filmu NS/DS/QA, który miał najbardziej nierówną powierzchnię. Próbka NS/DS/CA była materiałem o stosunkowo gładkiej i zwartej powierzchni oraz parametrach chropowatości poniżej 10 nm, co potwierdza dobrą fizyczną interkalację dodatków w tej próbce.

W przypadku polimerowych materiałów użytkowych szczególnie ważne jest określenie ich **podatności na biodegradację**, w której kluczową rolę w naturze odgrywają mikroorganizmy. W niniejszych badaniach zastosowałam technikę OXI TOP umożliwiającą oszacowanie biologicznego zapotrzebowania drobnoustrojów na tlen (Biological oxygen demand, BOD) podczas degradacji filmów skrobiowych w środowisku glebowym. Jak wykazały moje badania, wszystkie testowane materiały były biodegradowalne, co jest istotne z punktu widzenia ochrony środowiska. Wartości BOD zmierzone dla wszystkich próbek skrobi były wielokrotnie wyższe niż próby kontrolnej (tzw. endogenne oddychanie gleby) (Tab. 1). Zmodyfikowane folie skrobiowe charakteryzowały się większą tendencją do biodegradacji do 12 dnia testu, po czym proces uległ spowolnieniu. Poszczególne filmy z dodatkami anytleniającymi cechowała różna podatność na biodegradację i jej różne tempo – najwyższe dla NS/Vit.C (BOD=2474 mg O₂/kg gleby po 28 dniach inkubacji), najniższe – dla NS/CA/DS (245 mg O₂/kg gleby po 28 dniach inkubacji). Modyfikacja skrobią dialdehydową wpłynęła na redukcję BOD, a zatem zmniejszyła podatność na biodegradację w porównaniu do wartości wyznaczonych dla filmów nie zawierających DS.

Procesy biodegradacyjne zostały również potwierdzone badaniami aktywności enzymów hydrolitycznych wydzielanych przez mikroorganizmy glebowe podczas rozkładu mieszanin. Efektem tego działania jest skracanie makro-łańcuchów skrobi, a następnie transport oligomerów, dimerów i monomerów do komórek drobnoustrojów glebowych w celu wykorzystania w procesach metabolicznych [38]. Analiza ta została wykonana we współpracy z Wydziałem Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika. Skład chemiczny, warunki przetwarzania i struktura polimerowych mieszanek skrobi wpływają na szybkość hydrolizy enzymatycznej, ograniczając dostępność enzymów do substratu skrobiowego, wpływając tym samym na ich profile degradacji. Większą aktywność enzymów hydrolitycznych zaobserwowałam w okresie intensywnego spożycia tlenu (etap początkowy), co świadczy o występowaniu wydajnych procesów biodegradacji. Podczas rozkładu mieszanin zawierających dodatki anytleniające (witaminę C i kofeinę) aktywność enzymów hydrolitycznych była wysoka po 7 dniach i zmniejszała się po 14 dniach, kiedy rozkład materiałów był już bardzo powolny [H-4]. Folia NS/DS wyróżniała się z grupy analizowanych filmów, mianowicie ulegała intensywniej biodegradacji aż do 24 dnia eksperymentu, zaś aktywność hydrolaz w tej próbce była wyższa po 14 dniach niż po 7 dniach. Na wszystkich badanych foliach utworzył się „biofilm” mikroorganizmów. Przed biodegradacją folie zawierające skrobię dialdehydową wykazywały liczne defekty powierzchniowe, które teoretycznie powinny sprzyjać kolonizacji materiałów przez mikroorganizmy. Zjawisko to jednak nie znalazło potwierdzenia w mikrografii SEM filmu NS/DS, gdzie kolonizacja przez mikroorganizmy okazała się najmniejsza [H-4]. Obrazowanie SEM korelowało z wynikami uzyskanymi podczas badania aktywności oddechowej, tj. filmy z najwyższymi wynikami BOD (NS/Vit.C, NS/Caf., NS/DS/Vit.C) były najbardziej skolonizowane przez

mikroorganizmy. Barwienie LIVE/DEAD wykazało dodatkowo, że wszystkie biofilmy (czyli warstwy biologiczne utworzone na powierzchni degradowanych folii) składały się głównie z żywych komórek odpowiedzialnych za rozkład biomateriału (**rys. 3**). Aktywność metaboliczna przyłączonej biomasy prowadzi do desorpcji, adsorpcji i fragmentacji łańcucha polimerowego lub degradacji jego szczątków.

Podsumowując mogę stwierdzić, że uzyskane przeze mnie filmy są nowatorskimi, nie badanymi wcześniej materiałami o właściwościach antyoksydacyjnych. Dzięki swojej efektywnej biodegradowalności mogą one stanowić przyjazną dla środowiska oraz konsumentów alternatywę dla powszechnie stosowanych tworzyw sztucznych. Posiadają również wymaganą w przetwórstwie odporność termiczną, a większość z nich dobrą wytrzymałość mechaniczną pozwalającą zastosowanie w przemyśle opakowaniowym.

IV. BURSZTYNIAN SKROBIOWO-CHITOZANOWY [H-6]

Pośród obiecujących metod modyfikacji skrobi, prowadzących do otrzymania jej nowych pochodnych poszerzających zasób ekologicznych materiałów do zastosowań przemysłowych, jest fosforylacja chemiczna (z NaH_2PO_2 , NaH_2PO_4 , estrami fosforanowymi i P_2O_5). „Atak” czynnika modyfikującego może mieć miejsce na grupy hydroksylowe w jednostkach glikozydowych lub na pierścień anhydroglukozy, co wiąże się z jego otwarciem. Takie oddziaływania prowadzą głównie do powstania fosforanów monoskrobiowych i usieciowanych fosforanów diskrobiowych, a stopień substytucji grupami fosforanowymi wpływa na właściwości uzyskanych pochodnych skrobi (takich jak rozpuszczalność, pęcznienie, właściwości reologiczne, przezroczystość filmu) [39- 41]. Oczekuje się, że fosforany i podfosforyny jako środki katalizujące umożliwiają kolejne modyfikacje skrobi, tj. reakcje estryfikacji (z kwasem octowym, kwasem cytrynowym, kwasem bursztynowym) dając materiały o dużym potencjale przemysłowym, np. bursztynian skrobi jest stosowany w przemyśle spożywczym jako środek zagęszczający lub stabilizujący w zupach, przekąskach i mrożonych/chłodzonych produktach spożywczych.

Ważnym celem moich badań było otrzymanie nowego materiału: bursztynianu skrobi poprzez estryfikację podfosforynem sodu, a następnie usieciowanie go chitozaniem [H-6]. Taki materiał może znaleźć zastosowanie np. w farmacji lub opakowaniach i powłokach spożywczych. Do syntezy bursztynianu skrobi zastosowałam dwa różne stężenia kwasu bursztynowego i różne czasy reakcji, aby dobrać parametry do otrzymania mieszanek o najlepszych według mojej oceny właściwościach, w tym oczekiwanej morfologii. Syntezę prowadziłam z 0.5% oraz 1% udziałem kwasu bursztynowego w czasie 1 lub 2 godziny, otrzymując odpowiednio filmy:

S+0.5SA+Ch 1h - fosfonowany bursztynian skrobiowo-chitozanowy; bursztynian skrobiowy syntetyzowany z 0.5 g kwasu bursztynowego, czas reakcji estryfikacji wynosił 1h;

S+0.5SA+Ch 2h - fosfonowany bursztynian skrobiowo-chitozanowy; bursztynian skrobiowy syntetyzowany z 0.5 g kwasu bursztynowego, czas reakcji estryfikacji wynosił 2h;

S+1SA+Ch 2h - fosfonowany bursztynian skrobiowo-chitozanowy; bursztynian skrobiowy syntetyzowany z 1 g kwasu bursztynowego, czas reakcji estryfikacji wynosił 2h.

Projektując nowy kompozyt, konieczne jest wyjaśnienie mechanizmów interakcji między komponentami. Dlatego moim kolejnym krokiem było potwierdzenie powstawania wiązań sieciujących i estryfikacji za pomocą spektroskopii FTIR, NMR i Ramana oraz zmian w uporządkowaniu struktury za pomocą XRD. Szczepienie grupy

fosforynowej na skrobi skutkowało nowymi pasmami IR odpowiadającymi odpowiednio drganiom grup P=O estrów fosforynowych ($1401, 1250\text{ cm}^{-1}$) oraz nowo powstałym wiązaniom alifatycznym P-O-C (825 cm^{-1}) [39]. Technika spektroskopii w podczerwieni potwierdziła także powstawanie wiązań estrowych, np. między grupami karboksylowymi kwasu bursztynowego a grupami hydroksylowymi skrobi (a zatem powstanie fosfonowanego bursztynianu skrobi zaś obecność nowych pasm lub wzrost intensywności, w tym maksimum charakterystycznego dla drgań rozciągających C–O grup estrowych ($\sim 1155\text{ cm}^{-1}$) jest adekwatne do stopnia substytucji [42]. Dodatkowo, analizując widma bursztynianów skrobiowych stwierdziłam zmiany związane z obecnością faz krystalicznych i amorficznych i porządku strukturalnego skrobi w nowym produkcie. Również poszerzenie pasma $\sim 1640\text{ cm}^{-1}$ może wynikać zarówno z obecności wilgoci w próbce (wody hydratacyjnej w amorficznych częściach skrobi), jak i grup hydroksylowych kwasu bursztynowego podstawionego do makrocząsteczek biopolimeru. Wang postuluje, że obecność tego pasma odpowiada zmianie krystaliczności skrobi wynikającej z hydrolizy amylozy [42].

Widma FTIR-ATR filmów fosfonowanych bursztynianów skrobiowo-chitozanowych mimo dużych podobieństw niezależnie od różnych czasów syntezy oraz stężeń kwasu bursztynowego, wskazują głównie na zmiany organizacji fazy krystalicznej i amorficznej skrobi. Obserwowałam również wzrost intensywności pasm drgań rozciągających C–O–C w widmie skrobi, które jest wrażliwe na zawartość wody, konformację łańcucha i retrogradację skrobi. Co więcej, obecność maksimum charakterystycznego dla P–NH (730 cm^{-1}) może świadczyć o wiązaniu z cząsteczkami chitozanu. Podobnie, dyfraktogramy XRD fosfonowanego bursztynianu skrobi wskazują na wzajemne oddziaływania między składnikami filmu, które najprawdopodobniej doprowadziły do przejść polimorficznych i formowania nowej fazy krystalicznej. Jej tworzeniu sprzyjało wyższe stężenie kwasu bursztynowego (1g) użytego do syntezy oraz jej dłuższy czas (tj. 2h). Z kolei mieszaniny bursztynianu skrobi z chitozanem, zsyntetyzowane z mniejszym udziałem wagowym kwasu bursztynowego (0.5g) cechował bardziej amorficzny i jednorodny charakter, co potwierdza skuteczność wiązania tych składników.

Wzajemność oddziaływań dowiodłam również za pomocą spektroskopii ramanowskiej, notując m.in. spadek intensywności pasm charakterystycznych w całym zakresie widmowych wraz z wydłużeniem czasu syntezy i zwiększeniem stężenia kwasu bursztynowego, co jest zgodne z obserwacjami L. Passauer'a i współpracowników [43]. Odpowiedzią skrobi na modyfikację kwasem bursztynowym są przegrupowania w układzie amyloza/amylopektyna, a także zmiany intensywności i/lub przesunięcia pasm charakterystycznych w widmach Ramana i odpowiadających:

- drganiom rozciągającym grup C–H (w zakresie spektralnym $2800\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$) obecnym zarówno w widmie skrobi, jak i bursztynianu skrobi, zaś różnice w intensywności tych maksimów wskazują na różną reakcję amylozy i amylopektyny na modyfikację kwasem bursztynowym. Z kolei intensywne maksimum przy 1652 cm^{-1} w widmie bursztynianu skrobi koreluje z ilością amylopektyny w skrobi modyfikowanej i zanika po połączeniu z chitozanem. Jest to zgodne z doniesieniami literaturowymi, które wskazują, że intensywność tego pasma maleje ze wzrostem stopnia substytucji w skrobi.
- drganiom rozciągającym grupy C=O (1721 cm^{-1}) w widmie bursztynianu skrobi; intensywność tego pasma wzrasta wraz ze stopniem podstawienia bursztynianu w cząsteczkach skrobi.

- drganiom C-OH ($\sim 1040 \text{ cm}^{-1}$). Duży spadek intensywności tego pasma w widmach mieszanin wynika z fosfonowania skrobi i również koreluje ze stopniem substytucji (wyższy stopień podstawienia = zmniejszenie intensywności pasma 1040 cm^{-1}). Można również przyjąć, że nieznaczne fosfonowanie zachodzi także w cząsteczkach chitozanu podczas dłużej syntezy.
- pasmom charakterystycznym dla pierścienia glukopiranozowego i drgań zginających $\gamma(\text{OH}\dots\text{O})$ w chitozanie, oraz drgań C-C i C-O w pierścieniu glikozydowym skrobi i drgań deformacyjnych $-\text{CH}_2$ skrobi w widmach fosfonowanego bursztynianu skrobiowo-chitozanowego (1240 i 850 cm^{-1}). Spadek intensywności tych pasm, który zanotowałam po modyfikacji, jest charakterystyczny dla drgań rozciągających P=O w strukturach typu $(\text{RO})(\text{OH})_2\text{P}=\text{O}$ oraz $(\text{RO})(\text{OH})\text{HP}=\text{O}$.
- asymetrycznym drganiom rozciągającym C-O-P, potwierdzonym obecnością nowego pasma w zakresie $980\text{--}960 \text{ cm}^{-1}$ charakterystycznego dla fosfonowanego bursztynianu skrobiowo-chitozanowego. Grupy fosforynowe zostały związane chemicznie w reakcji estryfikacji z grupami hydroksylowymi skrobi w jej pierścieniu glikozydowym.
- zmniejszenie intensywności pasm grup hydroksylowych w skrobi ($3200\text{--}3600 \text{ cm}^{-1}$) oraz pasm charakterystycznych dla NH i C-O i C-C-O w chitozanie (576 cm^{-1} , 530 i 759 cm^{-1}) potwierdza wzajemność oddziaływań skutkujących sieciowaniem np. pomiędzy tlenem grupy karbonylowej chitozanu a grupami wodorotlenowymi w bursztynianie skrobiowym.

Następnie zmiany strukturalne wynikające z interakcji między skrobią natywną i modyfikowaną potwierdziłam techniką spektroskopii ^{13}C i ^{31}P CP/MAS NMR. Reakcje skrobi z kwasem bursztynowym i chitozanem prowadziły do przegrupowania skrobi w regionach amorficznych i krystalicznych oraz międzycząsteczkowego sieciowania np. cząsteczek dekstryny (powstających wraz z amylopektyną podczas hydrolizy skrobi) z pozostałymi składnikami filmu [44, 45]. Wniosek ten został potwierdzony zmianami krystaliczności (X_c) wyznaczonej metodą XRD.

Widma ^{13}C -NMR stanowią dowód na szczepienie i tworzenie wiązań estrowych między fosfonowanym bursztynianem skrobi a chitozanem. Zgodnie z doniesieniami literaturowymi najbardziej prawdopodobnymi miejscami szczepienia są grupy wodorotlenowe przy atomach C-3 i C-6 skrobi oraz tlen hydroksylowy i azot aminowy (NH_2) lub amidowy ($-\text{NH}(\text{CO})\text{CH}_3$) chitozanu [46]. Brak sygnałów charakterystycznych dla C-3 i C-2 chitozanu w widmach fosfonowanego bursztynianu skrobiowo-chitozanowego, wskazuje na wiązanie chemiczne z chitozanem w tych pozycjach. Także zmniejszenie intensywności sygnałów C-1, C-4 i C-2, C-3 kwasu bursztynowego dowodzą ich udziału w syntezie z fosfonowanym bursztynianem skrobi.

Za pomocą analizy ^{31}P -NMR (obecność sygnałów w zakresie 5-10 ppm) uzyskałam potwierdzenie utworzenia pochodnych fosforanowych skrobi np. difosforanów skrobi i fosfonianów skrobi ($\text{H}_2\text{PO}_2\text{-OH-Skrobia}$). Co więcej, nowy sygnał pojawił się w widmie fosfonowanego bursztynianu skrobi przy ~ 2 ppm, co jest charakterystyczne dla grup fosforynowych związanych z cząsteczkami skrobi, najprawdopodobniej w miejscu C3-OH i C6-OH (tj. tworzeniu fosforynów monoskrobiowych ($\text{HPO}_3\text{-OH-Skrobia}$). Środowisko oksydacyjne (oraz obecność rodników hydroksylowych) może generować bowiem złożoną mieszaninę form fosforu na różnych stopniach utlenienia, w tym fosforynu, fosforanu, pirofosforanu lub trifosforanu [47].

Kolejne etapy pracy obejmowały badanie stabilności termicznej, wytrzymałości mechanicznej oraz przenikalności pary wodnej (WVTR) przez przygotowane filmy. Znajomość tych parametrów jest niezbędna dla przyszłych procedur technologicznych i umożliwienia ich zastosowanie jako materiałów opakowaniowych.

Analiza krzywych DTG potwierdziła trzyetapowy rozkład fosfonowanego bursztynianu skrobi, przy czym główny rozkład zachodzi z maksymalną szybkością przy $T_{\max}=271^{\circ}\text{C}$, co odróżnia go od skrobi natywnej oraz mieszaniny skrobia/chitozan (SC), które ulegają degradacji w jednym etapie ($T_{\max, \text{skrobia}} = 307^{\circ}\text{C}$ i $T_{\max, \text{SC}} = 298^{\circ}\text{C}$) [H-3]. Przesunięcie maximum głównego etapu rozkładu w kierunku wyższych temperatur ($279\text{--}280^{\circ}\text{C}$), w przypadku gdy bursztynian skrobi został związany z chitozaniem, potwierdza dobrą interakcję w matrycy wynikającą z utworzenia bardziej stabilnych wiązań sieciujących (np. wodorowych, kowalencyjnych) między składnikami. Warto zauważyć, że temperatury przy maksymalnej szybkości rozkładu są porównywalne we wszystkich mieszaninach z chitozaniem i nie zależą od składu ilościowego próbki ani czasu syntezy. Niemniej jednak charakterystyczne dla tych mieszanin wartości temperatury każdego etapu rozkładu termicznego są nadal wyższe w porównaniu z T_{\max} fosfonowanego bursztynianu skrobi. Dodatkowo, większe wartości zwęglonej pozostałości, wyznaczone w temperaturze 640° (około 18% dla skrobi, 26% dla bursztynianu skrobi i 27–30% dla mieszanek z chitozaniem) potwierdzają ich zwiększającą się stabilność termiczną. Wreszcie, ubytek masy w głównym etapie rozkładu bursztynianu skrobi jest porównywalny z wartością wyznaczoną dla mieszaniny bursztynianu skrobi z chitozaniem i jest o około 20 % mniejszy niż utrata masy skrobi natywnej.

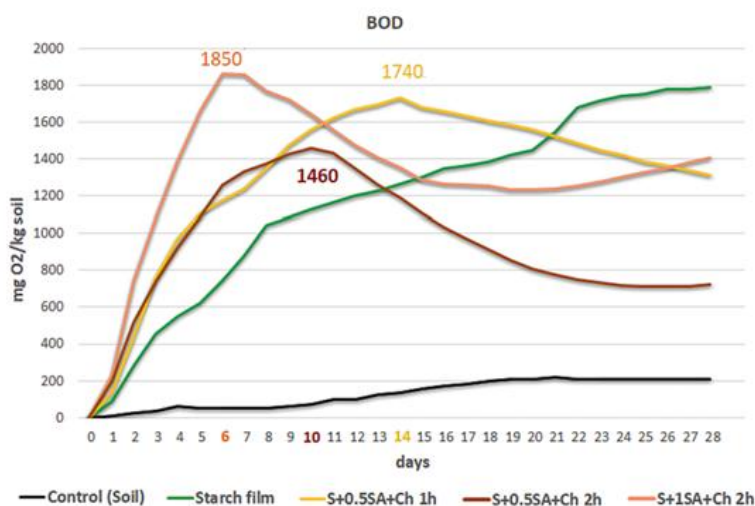
Aby wyjaśnić mechanizm degradacji termicznej, przeprowadziłam analizę spektroskopową produktów gazowych uwalnianych podczas pirolizy. Na podstawie analizy krzywych Grama-Schmidta i DTG stwierdziłam, że powstałe produkty gazowe stanowią mieszaninę wody, dwutlenku węgla, tlenku węgla, niskocząsteczkowych pochodnych eterów i kwasu octowego [48,49]. Maksima widoczne w widmie IR mieszaniny z chitozaniem potwierdzają tworzenie monomerów, ale także powstawanie usieciowanych struktur: skrobia-kwas bursztynowy-podfosforyn i skrobia-kwas bursztynowy-podfosforyn-chitozan, które następnie rozkładają się podczas pirolizy.

Skład, czas modyfikacji, oraz stężenia komponentów miały wpływ na parametry mechaniczne uzyskanych filmów. Największe zmiany tych parametrów (dwukrotnie większe w porównaniu z filmem skrobi, ale również wyższe niż w pozostałych mieszaninach) dotyczą filmu fosfonowanego bursztynianu skrobi z chitozaniem syntetyzowanego w ciągu 1 godziny i z mniejszą ilością kwasu bursztynowego. Świadczy to o najbardziej sztywnej strukturze i największej kruchości tej próbki. Dłuższy czas syntezy (2h) przy większym stężeniu kwasu bursztynowego sprzyjał uzyskaniu filmu (próbka S+1SA+Ch 2h) o mniejszej kruchości i bardziej elastycznej strukturze. Znaczny wzrost wydłużenia przy zrywaniu obserwowany dla układów syntetyzowanych przez 2 godziny może wynikać z reakcji chemicznych prowadzących do powstania zintegrowanej sieci pomiędzy fosfonowanym bursztynianem skrobi – glicerolem i chitozaniem. Analogiczny wniosek wynikał z analiz spektroskopowych XRD i ATR-FTIR.

Podsumowując, wpływ ilości kwasu bursztynowego użytego do syntezy fosfonowanego bursztynianu skrobiowo-chitozanowego na parametry fizykochemiczne uzyskanych mieszanin jest znaczny, zaś czas syntezy wydaje się mieć największe znaczenie dla właściwości mechanicznych analizowanych materiałów. Wydłużenie czasu syntezy do 2 godzin poprawia rozciągliwość folii na bazie bursztynianu skrobi w porównaniu z folią z czystej skrobi.

Badania biodegradacji wykazały możliwość bezpiecznej utylizacji tych materiałów nie obciążającej środowiska naturalnego. Wszystkie testowane mieszaniny są bardziej podatne na rozkład w glebie niż folia z czystej skrobi, chociaż postęp biodegradacji i jej wydajność zależały od stężenia kwasu bursztynowego i czasu syntezy (rys.4).

Po osiągnięciu maksimum szybkości procesu, co miało miejsce w różnym czasie w zależności od rodzaju próbki, biodegradacja, definiowana za pomocą redukcji biologicznego zapotrzebowania na tlen, ulega spowolnieniu we wszystkich mieszaninach. Największe zużycie tlenu zaobserwowałam w obecności S+1SA+Ch 2h, a film osiągnął maksimum szybkości biodegradacji w szóstym dniu pomiaru (BOD = 1850 mgO₂/kg gleby).



RYSUNEK 4. Biodegradacja skrobi i filmów bursztynianu skrobiowo-chitozanowego na podstawie zależności biologicznego zapotrzebowania mikroorganizmów na tlen (BOD) od czasu biodegradacji w glebie.

Niezwykle ważna, z punktu widzenia prognozowanych zastosowań w przemyśle opakowaniowym, jest ocena przepuszczalności wilgoci (WVTR), która była niska i porównywalna dla wszystkich filmów fosfonowanych bursztynianów skrobiowo-chitozanowych (~2 g/m²·h), a jej wartość ustabilizowała się w piątym dniu pomiarów dla każdej próbki. Co więcej, dla filmów bursztynianów skrobiowo-chitozanowych wartość WVTR była około czterokrotnie niższa niż WVTR wyznaczona dla filmu z czystej skrobi (7.8 g/m²·h). Może to dodatkowo potwierdzać istnienie usieciowanych struktur między bursztynianem skrobiowym i chitozaniem, które skutecznie ograniczają transport wody.

Analiza morfologii powierzchni filmów (techniką mikroskopii AFM) pokazała, że powierzchnie wszystkich filmów były lekko chropowate, bez znaczących różnic wizualnych w topografii. Najmniejsze wartości parametrów chropowatości powierzchni ($R_a=21-31$ nm, $R_q=27-37$ nm i $R_{max}=170-175$ nm) charakteryzują filmy bursztynianu skrobiowo-chitozanowego otrzymywanych w procesie 2-godzinnym (wobec kilkakrotnie wyższych wartości wyznaczonych dla kompozytu otrzymanego z wykorzystaniem 0,5 g kwasu bursztynowego i syntetyzowanego przez 1 godzinę). Zatem czas syntezy miał wpływ na większą jednorodność próbek. Dodatkowo chropowatość filmów syntetyzowanych przez 2 godziny jest również mniejsza w porównaniu z wartościami wyznaczonymi dla mieszanki skrobia/chitozan ($R_a \approx 44$ nm, $R_q \approx 60$ nm), co potwierdza, że ich powierzchnie są bardziej zwarte i gładkie. Warto nadmienić, że parametry chropowatości filmu skrobiowego były znacznie niższe niż wszystkich innych folii (R_a , R_q nie przekraczały kilku nanometrów) zaś parametr R_{max} wynosił 122 nm. Miało to również

odzwierciedlenie w omówionych powyżej rezultatach badań biodegradacji próbek w środowisku glebowym, ponieważ wzrost chropowatości filmu ułatwiał dostęp mikroorganizmów i podatność na rozkład biologiczny.

Nowością naukową przedstawionych przeze mnie badań było uzyskanie nowego biodegradowalnego materiału - fosfonowanego estru skrobi związanego z chitozanem, z którego otrzymałam jednorodne folie o właściwościach pożądanych w przemyśle opakowaniowym (również jako powłoki), np. do pakowania suchych produktów spożywczych. Mogą one również stanowić interesującą i cenną alternatywę w kosmetyce i medycynie, co wymaga dalszych, ukierunkowanych badań.

V. OTRZYMYWANIE I CHARAKTERYSTYKA BIOKOMPOZYTÓW O WŁAŚCIWOŚCIACH FLUORESCENCYJNYCH DO ZASTOSOWAŃ PRZEMYSŁOWYCH

V.1. FLUORESCENCYJNE KOMPOZYTY CHITOZANU [H-7]

Obecnie, dużym zainteresowaniem wielu gałęzi przemysłu cieszą się związki fluorescencyjne. Stosowane są m.in. w różnych dziedzinach medycyny, takich jak materiały do obrazowania, fotocuczulacze, diody elektroluminescencyjne i markery biologiczne, pozwalające na wykrywanie białek, kwasów nukleinowych, żywych komórek czy uszkodzonych tkanek [50-52]. Na szczególną uwagę zasługuje zastosowanie barwników fluorescencyjnych (np. błękitu metylenowego, fluoresceiny, zieleni indocyjaninowej czy rózu bengalskiego) w diagnostyce medycznej, np. we wczesnym wykrywaniu nowotworów czy wirusów HIV i COVID-19 [53-56]. Tak szerokie zastosowania są powodem intensywnych badań nad związkami fluorescencyjnymi w ostatnich latach, przyczyniając się do znacznego postępu w nowoczesnych technologiach wykorzystujących zjawiska emisji światła. Do zastosowań praktycznych wymagane są specyficzne właściwości takich związków, a mianowicie wysoki współczynnik absorpcji, wysoka wydajność kwantowa fluorescencji, czułość, stabilność oraz odporność na czynniki chemiczne i środowiskowe. W niektórych przypadkach wymagana jest także aktywność biologiczna (np. właściwości przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe lub przeciwzapalne) i zwiększona odporność termiczna. Co więcej, rozpuszczalność w wodzie, rzadka cecha związków organicznych, jest również istotna dla zastosowań biomedycznych. Nowatorskie materiały o cennych właściwościach fluorescencyjnych, przeznaczone do zastosowań biomedycznych, dzięki dobrej stabilności fotochemicznej mogą być sterylizowane w wysokich temperaturach lub promieniowaniem UV. Takie poszukiwane biokompozyty można uzyskać w procesie modyfikacji, np. poprzez chemiczne lub fizyczne wiązanie barwników organicznych z makrocząsteczkami biopolimerów. Mimo, iż w ostatnim czasie rośnie zainteresowanie biopolimerami fluorescencyjnymi, to wciąż niewiele jest badań nad zachowaniem się tych innowacyjnych materiałów w podwyższonych temperaturach, ale również trudno jest przewidzieć odporność termiczną polimerów zmodyfikowanych w celu uzyskania właściwości absorpcyjnych [57,58]. W związku z tym brak charakterystyki termicznej polimerów fluorescencyjnych, istotnej z punktu widzenia praktycznych zastosowań, stanowi lukę informacyjną.

Zastosowanie biopolimerów np. chitozanu jako matrycy dla związków fluorescencyjnych ma wiele zalet, z których najważniejszymi są biodegradowalność układu oraz wzrost stabilności fotochemicznej. Co więcej, tak zmodyfikowany chitozan charakteryzuje się biokompatybilnością, obojętnością biologiczną i właściwościami biobójczymi. W rezultacie badań właściwości fotochemicznych chitozanu modyfikowanego heterocyklicznymi

barwnikami aromatycznymi na bazie benzimidazolu (BIm), benzoksazolu (BOx) i benzotiazolu (BTh) stwierdzono, że nawet niewielki stopień zastąpienia grup funkcyjnych w chitozanie fluoroforami (nie przekraczający 3%) przyczynia się do powstania intensywnej fluorescencji po wzbudzeniu promieniowaniem o długości fali 425 nm [59]. Kontynuacją powyższego zagadnienia były prowadzone przeze mnie badania właściwości termicznych pochodnych chitozanu modyfikowanego heterocyklicznymi barwnikami aromatycznymi na bazie benzimidazolu (BIm), benzoksazolu (BOx) i benzotiazolu (BTh). Informacje o właściwościach termicznych tych nowych fluorescencyjnych biomateriałów są istotne z praktycznego punktu widzenia – pozwalają oszacować możliwość ich zastosowania w podwyższonych temperaturach, np. w procesie przetwórczym. Jednocześnie testy TGA umożliwiają wykrycie zmian strukturalnych w przypadku wcześniejszej ekspozycji próbek na promieniowanie UV, często stosowane jako środek sterylizujący. Filmy zmodyfikowanego chitozanu, które zawierały względnie małą ilość podstawników barwnikowych, tj. 2,9%, 2,7% i 2,4% odpowiednio w CS-BIm (chitozan-benzimidazol), CS-BoX (chitozan-benzoksazol) i CS-BTh (chitozan-benzotiazol) poddałam naświetlaniu promieniami UV w warunkach pokojowych przez 8 godzin. Stabilność termiczna zastosowanych barwników fluorescencyjnych różniła się znacząco, co wynika z ich odmiennej budowy chemicznej (uporządkowanie wg. stabilności jest następujące: **BIm > BTh > BOx**). Przebieg rozkładu termicznego próbek BIm and BTh jest jednoetapowy, podczas gdy w przypadku BOx - dwuetapowy. Natomiast kształt krzywych TG, DTG i DSC chitozanu zmodyfikowanego tymi barwnikami zmienił się nieznacznie, wskazując na niewielki wpływ modyfikacji na przebieg jego degradacji termicznej. Chitozan jest stabilnym biopolimerem do temperatury około 250 °C, jedynie w początkowej fazie ogrzewania (w zakresie 80–150 °C) obserwuje się utratę masy o około 8%, spowodowaną uwolnieniem związanej wody. Dane wskazują, że woda jest nieco silniej związana w dwóch N -podstawionych pochodnych: CS-BIm i CS-BTh, niż w czystym chitozanie oraz w mieszaninie CS-Box. Rozkład termiczny chitozanu jest transformacją egzotermiczną (krzywe DSC) prawdopodobnie związaną z równoczesnym sieciowaniem chitozanu, o czym świadczy duża masa pozostałości nie ulegającej rozkładowi przy 600 °C.

W świetle uzyskanych danych odporność termiczna CS-BOx i CS-BTh uległa poprawie w porównaniu z niemodyfikowanym chitozaniem, zaś CS-BIm okazał się materiałem najmniej odpornym termicznie spośród badanych próbek, chociaż różnice w wyznaczonych parametrach z analizy termogravimetrycznej są niewielkie. Można to wytłumaczyć mniejszym stopniem usieciowania termicznego, na co wskazuje najmniejsza ilość pozostałości węglowej (55,6%) w temperaturze 600°C. Ta próbka wykazuje najwyższą wartość ciepła rozkładu (172 J/g). Biorąc pod uwagę całkowity ubytek masy w badanych próbkach, o kilka procent mniejszy niż w czystym CS, można stwierdzić, że aromatyczne heterocykliczne podstawniki nieznacznie utrudniają tworzenie stabilnej termicznie pozostałości węglowej.

Zgodnie z teorią, że w początkowej fazie rozkładu termicznego polisacharydów podstawniki boczne są odłączane od makrołańcuchów przy jednoczesnym uwalnianiu produktów gazowych [60], w przypadku opisywanych pochodnych chitozanu oderwanie lub zniszczenie fluoroforów (czyli barwników) powoduje utratę właściwości emisyjnych. Brak endotermicznych pików topnienia BIm, BOx i BT na krzywych DSC CS-BIm, CS-BOx i CS-BT dodatkowo potwierdza, że barwniki modyfikujące były kowalencyjnie powiązane z CS. W związku z powyższym, można przyjąć że pozostałości węglowe składają się głównie ze skondensowanych struktur aromatycznych i struktur usieciowanych powstałych w wyniku powstania poprzecznych wiązań kowalencyjnych pomiędzy

makrołańcuchami. Zostało to potwierdzone badaniami spektroskopowymi prowadzonymi równocześnie z ogrzewaniem próbek. Widma FTIR wykazały zanik grup funkcyjnych (OH,NH) oraz zmniejszenie stopnia deacetylacji, a następnie rozerwanie łańcucha i otwarcie pierścieni glikozydowych w chitozanie.

Na podstawie wartości temperatury maksymalnej (T_{max}) dla głównego (II) etapu rozkładu dla próbek nienapromieniowanych można zaproponować następującą sekwencję termostabilności:



Należy zwrócić uwagę na odwrotną tendencję trwałości: najmniej stabilny barwnik (BOx), gdy jest chemicznie włączony do makrocząsteczek CS, poprawia swoją stabilność (CS-BOx). Biorąc pod uwagę mechanizm rozkładu termicznego wolnych rodników, można założyć, że rodniki benzoksazolowe generowane z najmniej stabilnego podstawnika (BOx) szybko rekombinują z makrorodnikami CS (kończąc w ten sposób reakcję łańcuchową degradacji) i opóźniają proces rozkładu. Z kolei, BIm działa odwrotnie, tj. będąc barwnikiem najbardziej termostabilnym z analizowanych, najszybciej generuje główny proces degradacji chitozanu. Prawdopodobnie za ten efekt odpowiedzialne są rodniki benzimidazolowe, które łatwiej wchodzi w reakcję z chitozaniem.

W prowadzonych badaniach skupiłam się również na określeniu wpływu napromieniowania UV (do 8h) na stabilność termiczną pochodnych fluorescencyjnych chitozanu, którą oceniłam na podstawie drugiego, głównego etapu rozkładu. W grupie próbek napromieniowanych UV, CS-BOx cechowała największa stabilność, co może wskazywać na szczególny udział produktów rozkładu zawierających tlen, które mogły np. ulec sieciowaniu z formowaniem struktur termicznie stabilnych. Ponieważ barwnik BOx cechował się najmniejszą termostabilnością spośród trzech badanych związków heterocyklicznych, jest bardzo prawdopodobne, iż właśnie produkty jego degradacji mogą przyczyniać się do stabilizacji termicznej CS. Oderwanie grup bocznych barwników podczas pirolizy, a następnie ich rozpad na wolne rodniki, może prowadzić do późniejszej rekombinacji z makrorodnikami chitozanu powstałymi we wcześniejszym etapie degradacji termicznej.

Obserwowałam również pewne różnice w składzie produktów lotnych uwalnianych z napromienianych próbek. Najwięcej produktów lotnych w temperaturach powyżej 250 °C została uwolniona z nienaświetlonego chitozanu i była to mieszanina wody, ditlenku węgla, amoniaku, acetamidu i niskocząsteczkowych pochodnych karbonylowych (estrów/eterów). W widmach FTIR rejestrowanych w trakcie degradacji termicznej napromienianego chitozanu obserwowałam obecność charakterystycznych pasm absorpcyjnych, analogicznych jak dla chitozanu nienaświetlanego, ale o mniejszej intensywności. Może to wynikać z faktu, że produkty termodegradacji uległy częściowej ewaporacji wskutek poprzedzającej fotolizy [61, 62].

Analiza FTIR produktów wydzielonych w procesie degradacji z próbki CS-BIm, oprócz tych, które są typowe dla chitozanu, potwierdziła mnogość związków nienasyconych, chociaż w przypadku próbki nienapromienianej ich uwalnianie było znacznie ograniczone. Nienaświetlone próbki CS-BOx i CS-BTh wykazują mniej wydzielającego się CO₂, zaś dominują produkty z ugrupowaniem karbonylowym. Tylko w przypadku CS-BOx wydzielona została bardziej lotny produkt po ekspozycji UV, co może wskazywać na katalityczny wpływ produktów fotodegradacji uwięzionych w matrycy polimerowej na termiczne zniszczenie tej próbki. Zgodnie z raportami Bussiere'a [63, 64], uwolnione lotne produkty mogą gromadzić się na powierzchni próbek (efekt sieciowania powierzchniowego) i przyczyniać się do wzrostu chropowatości i przyczepności.

Podsumowując, termogravimetria w połączeniu z analizą lotnych produktów rozkładu metodą spektroskopii FTIR wykazała, że spośród trzech badanych barwników stosowanych do modyfikacji chitozanu, BIm jest najbardziej stabilną, zaś BOx -najmniej odporną termicznie próbką. W efekcie ogrzewania próbka BIm uwolniła produkty lotne zawierające heteroatomy (głównie tlen i azot), a także produkty z wiązaniami nienasyconymi. Heterocykliczne podstawniki aromatyczne tylko w nieznacznym stopniu przyczyniły się do zmian odporności cieplnej chitozanu, a mieszaniny były stabilne do ok. 250°C. Na podstawie temperatur początkowych i maksymalnej szybkości rozkładu stwierdziłam, że najniższą stabilność termiczną wykazuje CS-BIm, co wiąże się z jego mniejszą podatnością na sieciowanie termiczne. Pozostałe dwie pochodne (CS-BOx i CS-BTh) również wykazały mniejszą masę zwęglonej usieciowanej pozostałości biopolimerowej (w temperaturze 600°C) w porównaniu z samym CS. Na podstawie badań wpływu promieniowanie UV na stabilność termiczną, pochodne chitozanu uszeregowano wg malejącej odporności: **CS-BOx > CS-BTh = CS>CS-Bim**, a ich stabilność termiczna praktycznie nie różni się od tej dla próbek nienapromienianych.

W moich badaniach ustaliłam, że nowatorskie, badane przeze mnie materiały na bazie chitozanu o cennych właściwościach fluorescencyjnych, przeznaczone np. do zastosowań biomedycznych, dzięki dobrej stabilności fotochemicznej i termicznej, mogą być z powodzeniem poddawane wpływowi podwyższonych temperatur, np. w procesie przetwórczym. Tym samym uzupełniłam lukę, jaką stanowił brak charakterystyki termicznej polimerów fluorescencyjnych, istotną z punktu widzenia praktycznych zastosowań.

V.2. FLUORESCENCYJNE KOMPOZYTY SKROBIOWO-CHITOZANOWE MODYFIKOWANE FLUORESCEINĄ/RÓŻEM BENGALSKIM [H-8]

W kolejnym etapie badań skupiłam uwagę na otrzymaniu i charakterystyce materiałów dedykowanych dla branży opakowań spożywczych, mianowicie promieniochronnych i przeciwdrobnoustrojowych powłok do żywności (mięso, owoce, warzywa) [H-8]. Takie materiały wpisują się w politykę zrównoważonego rozwoju żywności i rolnictwa. Mogą być również przydatne w medycynie i farmacji (np. jako „otoczki” kapsułek z lekami), a także w produkcji czujników chemicznych i sond fluorescencyjnych.

W tym celu opracowałam metodykę otrzymywania kompozytów skrobiowo-chitozanowych (Sch) modyfikowanych fluoresceiną (F) oraz różem bengalskim (R) o sprecyzowanych właściwościach absorpcyjnych i emisyjnych. Otrzymane w folie wzbogaciłam skrobią dialdehydową, aby uzyskać dodatkowo właściwości przeciwutleniające, przeciwbakteryjne i przeciwwirusowe zaproponowanych układów. Ponadto spodziewanym skutkiem działania skrobi dialdehydowej jako środka wspomagającego sieciowanie, było „uwięzienie” cząsteczek barwnika w utworzonej sieci polimerowej, pośrednio ograniczając bezpośredni atak 1O_2 i zapobiegając ich fotodegradacji. W praktyce pozwala to na zastosowanie badanego materiału w warunkach długotrwałej ekspozycji na światło. Opracowana przeze mnie metoda uzyskania folii z biopolimerów z dodatkiem barwników fluorescencyjnych była przyjazna dla środowiska i nieskomplikowana, nie wymagała zastosowania niebezpiecznych substancji chemicznych. W doborze barwników kierowałam się nie tylko cennymi właściwościami fotoprotekcyjnymi, ale także wykluczyłam ewentualne skutki toksykologiczne (dawka śmiertelna (LO50) dla fluoresceiny wynosi 300 mg/kg (badania na zwierzętach), co plasuje fluoresceinę w grupie substancji bezpiecznych (dla porównania wartość LO50 kofeiny wynosi 190 mg/kg; Witamina D3 – 42 mg/kg, a nikotyny –

50 mg/kg) [66-68]. Z drugiej strony powłoki z różem bengalskim, który jest toksyczny po spożyciu, nie powinny być stosowane w bezpośrednim kontakcie z żywnością, ale mogą stanowić zewnętrzną warstwę opakowania i tym samym spełniać swoją funkcję fotoochronną dla produktów wrażliwych.

Przygotowałam dwie grupy filmów z barwnikami, tj. z różem bengalskim (R), i fluoresceiną (F). Były to: skrobia z barwnikiem (**RS**, **FS**), skrobia z chitozaniem i z barwnikiem (**RSCh**, **FSCh**), oraz układy czteroskładnikowe: skrobia, chitozan, skrobia dialdehydowa i barwnik (**RSChDS**, **FSChDS**). Każdy kompozyt (film) poddałam napromienianiu lampą UV (emitującą promieniowanie $\lambda = 254 \text{ nm}$ o natężeniu 24 W/m^2) od 5 do 120 min. (do momentu zaobserwowania zmian w widmach UV-Vis i FTIR-ATR; dla próbek z różem bengalskim było to 90 min., a dla próbek z fluoresceiną – 120 min.).

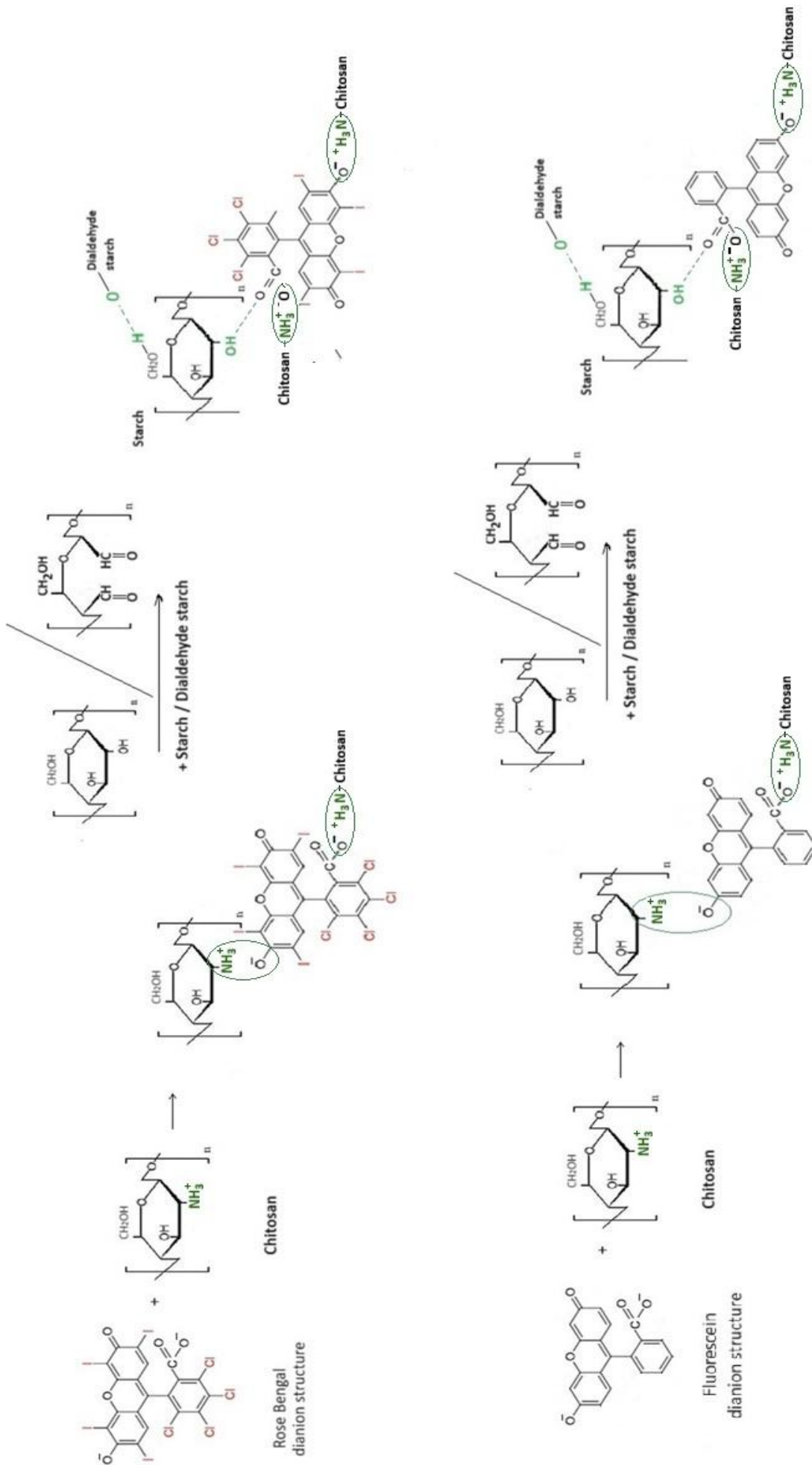
Wykorzystując metody spektroskopowe FTIR-ATR, Ramana, UV-Vis oraz spektroskopię ^{13}C -NMR wykazałam, że barwniki zostały przyłączone kowalencyjnie do makrołańcuchów skrobi i chitozanu (**rys. 6**). Dowodem tego są zmiany w zakresie pasm charakterystycznych w widmach FTIR-ATR biopolimerów i barwników, m.in.:

- zmniejszenie intensywności pasm absorpcji w zakresie $1411\text{--}1418 \text{ cm}^{-1}$ (mieszaniny skrobia/chitozan z barwnikami), przypisanych protonowanym resztom glukozaminy w chitozanie, które wskazują na ubytek grup --NH_3 ;
- spadek intensywności pasma drgań rozciągających C-N amidu III (1339 cm^{-1}) w chitozanie w widmach FSCh i RSCh;
- spadek intensywności pasma $\text{--CH}_2\text{OH}$ ($\lambda \sim 1020 \text{ cm}^{-1}$) obecnego w widmach mieszanin (największy dla próbki RSCh);
- nowe pasmo o dużej intensywności przypisane drganiom grup C=N, C=C, i C=O amidu I ($1680\text{--}1689 \text{ cm}^{-1}$), które potwierdza obecność końcowych grup N-acetylowych w mieszaninach SCh i RSCh. Grupy te są następnie częściowo zużywane w reakcji pomiędzy polisacharydami i barwnikami (z ich grupami karboksylowymi lub hydroksylowymi). Wpływ rodzaju barwnika był najbardziej wyrazisty w przypadku mieszaniny skrobia/chitozan/róż bengalski (RSCh), co może potwierdzać interakcję dianionu barwnika z grupami aminowymi chitozanu;
- zanik pasm charakterystycznych drgań zginających grup --OH (1375 cm^{-1}) i symetrycznych drgań rozciągających od COO^- (1490 cm^{-1}) czystych barwników tj. fluoresceiny i różu bengalskiego w widmach mieszanin. **Według doniesień literaturowych potwierdza to powstawanie nowych wiązań pomiędzy barwnikiem a polisacharydem. Są to wiązania kowalencyjne powstające w wyniku reakcji między ugrupowaniem karboksylowym fluoresceiny a grupami hydroksylowymi lub aminowymi chitozanu [69, 70].**

Potwierdzenie na wzajemność oddziaływań między składnikami mieszanin, a także skutki wpływu promieniowania UV na filmy znalazłam również w widmach Ramana, gdzie obserwowałam zmiany intensywności i/lub przesunięcia pasm charakterystycznych dla obu biopolimerów. Były to m.in. zmiany w zakresie spektralnym charakterystycznym dla jednostek glukozaminy (1381 cm^{-1}), jednostek sacharydowych (939 cm^{-1}), zmniejszenie intensywności pasma amidu I (1650 cm^{-1}) w chitozanie oraz zanik pasma karbonylowego skrobi dialdehydowej ($1669, 1740 \text{ cm}^{-1}$). Zmiany te obserwowałam we wszystkich układach, co potwierdza udział grup hydroksylowych i karbonylowych w tworzeniu nowych wiązań estrowych z barwnikami.

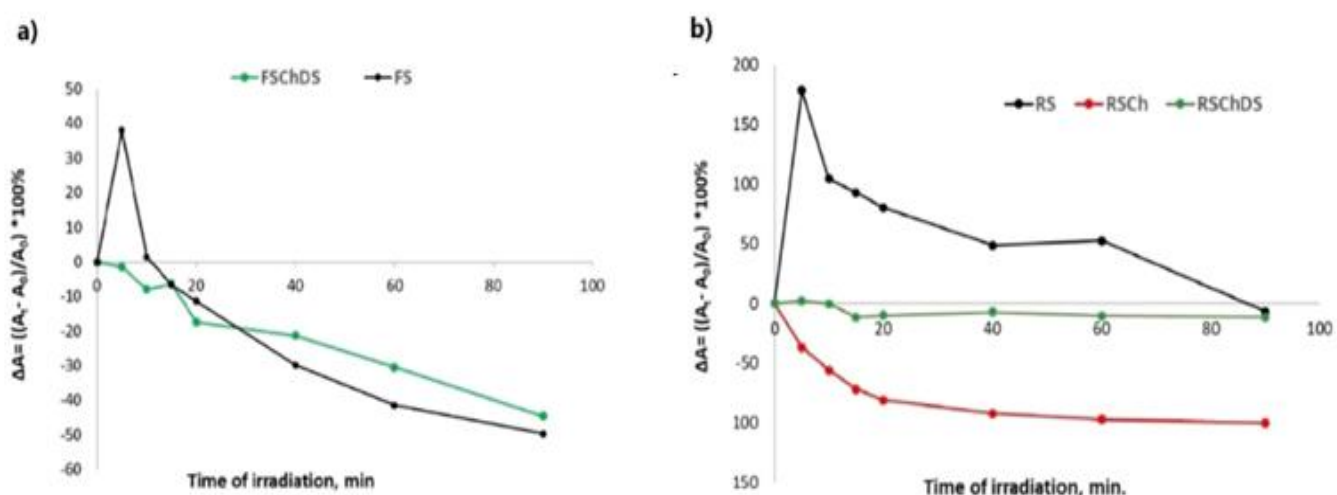
Równocześnie potwierdziłam interakcje między składnikami (^{13}C -NMR, XRD), powodujące reorganizację łańcuchów (kokrystalizację/rekrystalizację) chitozanu i skrobi oraz skrobi utlenionej DS, prowadzącą do przejść polimorficznych i wyraźnego formowania nowej stabilnej, pojedynczej struktury krystalicznej typu V, rozproszonej w fazie amorficznej (np. wyraźne zmiany kształtu widm ^{13}C NMR próbek w widmach FSCh i FSChDS) [71]. Przesunięcia sygnałów w widmie ^{13}C -NMR kompozytu skrobiowo-chitozanowego (SCh) świadczą o tworzeniu wiązań kowalencyjnych pomiędzy $-\text{NH}_2$ a grupami karbonyłowymi z utworzeniem zasady Schiffa [72]. Zaproponowane przeze mnie mechanizmy reakcji przedstawiono na **rys. 6**.

W przypadku kompozytów z różem bengalskim obserwowałam duże podobieństwo widm próbek RS i RSChDS, zaś większe różnice pojawiły się w widmie RSCh. Zanik sygnałów pochodzących od chitozanu w widmie próbki RSChDS potwierdza tworzenie wiązań chemicznych (kowalencyjnych) między składnikami układu. Struktura liniowa chitozanu, złożonego z jednostek deacetylowanych i acetylowanych, prawdopodobnie ogranicza powstawanie wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych, natomiast ułatwia oddziaływanie z cząsteczkami amylozy skrobiowej. Ponadto obecność skrobi dialdehydowej, zbudowanej z utlenionych cząsteczek amylozy i amylopektyny z grupami karbonyłowymi, ułatwia interakcje z liniową amylozą skrobi natywnej (tj. z jej grupami hydroksylowymi) tworząc w ten sposób bardziej uporządkowaną strukturę. Napromienianie UV skutkowało zmianami konformacyjnymi w polisacharydach, ale także fotolizą barwnika. Uważam za prawdopodobne również **odłączenie** podstawnika (np. pierścienia fenyłowego fluoresceiny) i statystyczne pękanie łańcuchów bocznych chitozanu i skrobi. Ekspozycja filmów na promieniowanie UV, spowodowała zajście **konkurencyjnych reakcjach utleniania i powstawania nowych chromoforów (rys. 7)**. Wraz ze wzrostem czasu napromieniania obserwowałam wzrost intensywności pasma karbonyłowego i równoległe zmniejszenie intensywności pasm hydroksylowych, co interpretuję jako tworzenie nowych wiązań z udziałem tych grup, oraz rozrywanie wiązań wodorowych w rezultacie naświetlania. Równocześnie rosnąca intensywność pasm charakterystycznych dla drgań rozciągających $\text{N}=\text{O}$ (1587 cm^{-1}) może świadczyć o utlenianiu grup aminowych w chitozanie. **Wpływ napromieniania jest wyraźniejszy w przypadku próbek zawierających róż bengalski niż filmów z fluoresceiną**. Powodem może być różnica w sposobie wiązania obu barwników. W przypadku układów zawierających fluoresceinę może dominować reakcja chemiczna (tj. powstawanie silnych wiązań kowalencyjnych i jonowych, np. pomiędzy chitozaniem a grupami karboksylowymi (COO^-) barwnika. Jednak ten rodzaj wiązania może być nieco ograniczony w filmach z różem bengalskim, ze względu na obecność podstawników halogenowych w strukturze RB, które mogą stanowić przeszkodę steryczną. Wiązania wodorowe i oddziaływanie van der Waalsa (ale też silne oddziaływanie jonowe) są w tym przypadku bardziej prawdopodobne.



RYСУNEK 6. Prawdopodobne reakcje i oddziaływanie pomiędzy skrobią, skrobią dialdehydową, chitozanem a barwnikami fluorescencyjnymi: fluoresceiną i różem bengalskim.

W celu zbadania efektu promieniowania UV na filmy modyfikowane barwnikami wykorzystywałam również metodę spektroskopii UV-Vis. Potwierdziła ona powyższe wnioski, a mianowicie powstawanie nowych chromoforów, co miało miejsce w pierwszych minutach napromieniania (tj. do 5 min.) filmów FS i RS (rys. 7). Po czasie naświetlania dłuższym niż 5 minut dominowały procesy fotolizy barwników w matrycy skrobi. Stopień i szybkość zaawansowania rozkładu barwnika różniły się istotnie dla różnych mieszanin. W przypadku mieszanin z fluoresceiną większą podatność na światło UV wykazywał film FS niż FSChDS. W widmie FSCh nie stwierdziłam maksimum charakterystycznego dla fluoresceiny przy długości fali 485 nm, co można wytłumaczyć efektywną reakcją estryfikacji (pomiędzy grupami karbonyłowymi fluoresceiny z grupami aminowymi w chitozanie na etapie syntezy) prowadzącą do fotostabilizacji tego filmu. Jak jednak wiadomo, reakcje fotochemiczne w warunkach tlenowych polegające na tworzeniu się i rekombinacji wysoce reaktywnych rodników nie obejmują tylko barwników, ale mogą również prowadzić do powstawania różnych produktów nieabsorbujących w wyniku zrywania wiązań w pierścieniach heterocyklicznych [59]. Uważam, że taka reakcja zaszła również w próbce FSChDS, choć w mniejszym stopniu, ponieważ grupy dialdehydowe mogły przyczynić się do częściowego sieciowania, co może wywołać efekt ochronny na barwnik.



RYSUNEK 7. Zmiana absorbancji (ΔA) pasma przy $\lambda = 495$ nm (próbki z fluoresceiną) (a) i przy $\lambda = 560$ nm (próbki z różem bengalskim) (b) w zależności od czasu napromieniania UV.

Kompozyty z fluoresceiną (FS i FSChDS) okazały się być bardziej fotostabilne niż kompozyty z różem bengalskim. W widmach UV-Vis kompozytów z RB obserwowałam intensywne pasmo przypisywane monomerycznej formie barwnika ($\lambda = 558$ – 562 nm) i drugie, mniej intensywne maksimum przypisywane jego postaci dimerycznej ($\lambda = 520$ – 525 nm). Przesunięcie pasm absorpcji w tych zakresach sugeruje oddziaływania międzycząsteczkowe cząsteczek barwnika (tj. fluoroforów) z grupami funkcyjnymi polisacharydów (chitozan, skrobia) i skrobi dialdehydowej, poprzez wiązania wodorowe lub oddziaływania van der Waalsa. Możliwe jest również oddziaływanie między grupami aminowymi chitozanu i karbonyłowymi skrobi dialdehydowej.

Spektroskopia UV-Vis wskazuje, że filmy zawierające skrobię dialdehydową cechowała mniejsza wrażliwość na promieniowanie UV, niż próbki bez DS. Próbką RSChDS była najbardziej odporna na działanie promieniowania

UV, natomiast folia FSChDS wykazywała podobny trend stabilności, choć nieco wyższą wrażliwość na promieniowanie. Wyniki te potwierdzają udział skrobi dialdehydowej w wiązaniu składników, co zapewnia im większą stabilizację. Warto również podkreślić, że podczas ekspozycji UV, kolor filmów z różem bengalskim jaśnieje, co obserwowano wizualnie.

Modyfikacja wpłynęła również na stopień uporządkowania skrobi wyznaczony techniką XRD ($X_{c,XRD}$) w filmach zarówno z barwnikami jak i skrobią dialdehydową. Odnotowałam zmniejszenie stopnia krystaliczności odpowiednio w RSChDS (spadek do ~14%) i FSChDS (24%) (wobec $X_c=26,4\%$ dla filmu SChDS). Z kolei wyłączny dodatek barwnika do filmu skrobiowo-chitozanowego prawie nie wpłynął na zmiany X_c : RSCh (20% wobec 19,6 % dla SCh) i skrobi z fluoresceiną (S: 17,4%, FS:18%, FSCh:20%).

W efekcie dwugodzinnego napromieniowania filmów najprawdopodobniej doszło do częściowego pęknięcia łańcuchów skrobi znajdujących się w obszarze amorficznym i rekrytalizacji, prowadzącej do zmian konformacyjnych. W związku z tym odnotowałam nieznaczny wzrost X_c skrobi w kompozytach zawierających fluoresceinę do 21% dla FSCh i 25,5% dla FSChDS. Podobne zmiany stopnia uporządkowania obserwowałam w przypadku próbek z RB poddanych promieniowaniu UV (stopień krystaliczności wzrasta o około 1–2%).

Ponadto analiza termogravimetryczna wykazała zmiany stabilności termicznej filmów modyfikowanych i jej dużej zależności od składu. Potwierdziłam rozpoczęcie głównego etapu rozkładu termicznego materiałów zawierających skrobię dialdehydową i barwniki (RSChDS, FSChDS) w nieznacznie wyższych temperaturach ($T_0=220-224^\circ\text{C}$) w porównaniu do próbki bez barwnika tj. SChDS, ($T_0=219^\circ\text{C}$), ale znacznie wcześniej niż miało to miejsce w pozostałych filmach (tj. $\sim 250^\circ\text{C}$). Temperatura maksymalnej szybkości rozkładu termicznego (T_{max}), odpowiadającego utracie masy 51% (FSChDS), 61% (RSCh) i 64% (film skrobiowy), była najwyższa dla filmu czystej skrobi (303°C) i malała dla większości analizowanych układów do ok. 284°C (wyj. RSCh), a dla próbek z barwnikami i skrobią dialdehydową — do 270°C .

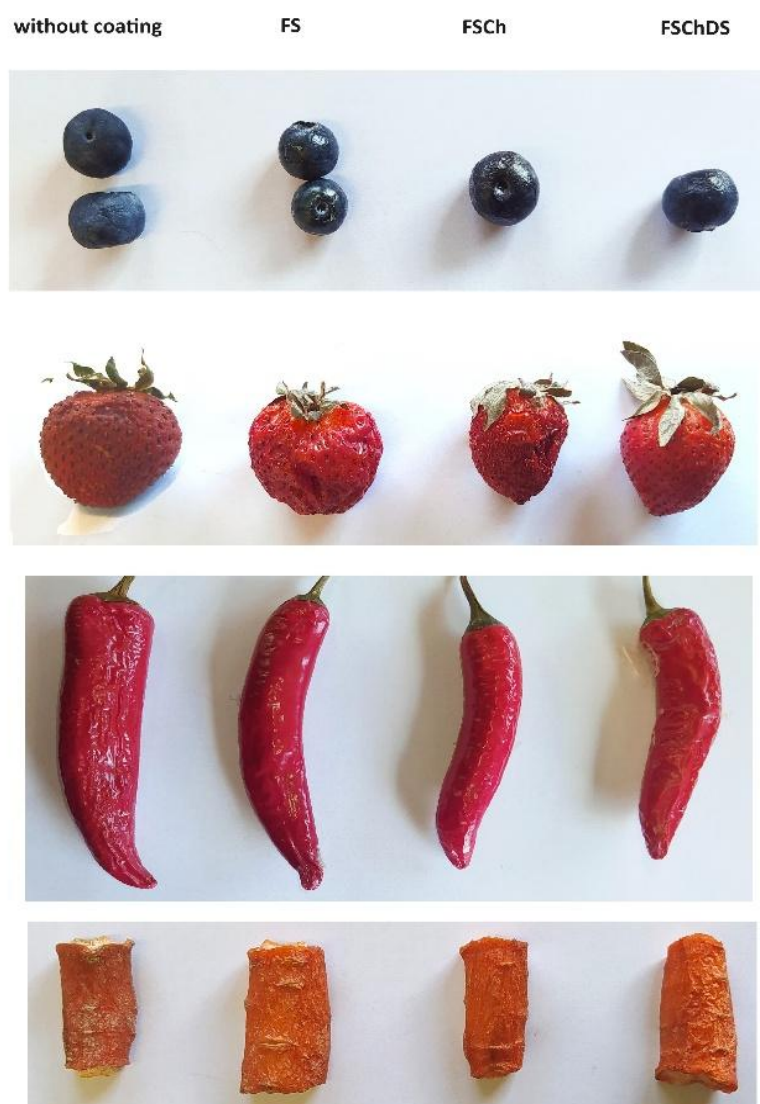
Największy ubytek masy, obserwowany w układzie RSCh, może wynikać prawdopodobnie z niejednorodnej i mniej zwartej struktury tej próbki, potwierdzonej mikrografiami SEM [H-8]. Po naświetlaniu UV nastąpił jedynie nieznaczny wzrost ilości pozostałości węglowej, co potwierdziło powstawanie usieciowanych struktur. Pozostałe parametry cieplne pozostały praktycznie bez zmian.

Podsumowując, dodatek barwnika, jego rodzaj oraz promieniowanie UV nieznacznie pogorszyło stabilność termiczną filmów, przy czym największe zmiany obserwuje się w próbkach zawierających wszystkie modyfikatory; szczególnie dodatek skrobi dialdehydowej przyspieszył rozkład termiczny (zarówno T_{max} , jak i T_0 są niższe dla próbek z DS). Z drugiej strony DS najlepiej stabilizowała próbki poddane działaniu promieniowania UV. Jest to spowodowane silnymi interakcjami między składnikami mieszanki, prowadzącymi do powstania zwartej sieci usieciowanej pod wpływem napromieniania.

Film skrobiowy miał najgładszą powierzchnię, zaś dodatek barwników wpłynął na morfologię powierzchni tj. na chropowatość folii w różny sposób. Modyfikacja barwnikami, chitozanem i/lub skrobią dialdehydową sprzyjała wygładzeniu powierzchni. Obrazy AFM kompozytów zawierających róż bengalski potwierdziły nieco bardziej chropowatą powierzchnię w porównaniu z próbkami zawierającymi fluoresceinę. Najgładsza powierzchnia (o parametrach chropowatości zbliżonych do filmu czystej skrobi) charakteryzowała próbkę FSChDS. Światło UV spowodowało zwiększenie chropowatości powierzchni próbek FS i FSChDS oraz RSCh,

natomiast skutek odwrotny i zmniejszenie chropowatości potwierdziłam dla filmów FSCh, RS i RSChDS. Obserwowane wygładzenie powierzchni może być rezultatem fotoinicjowanego sieciowania składników (skrobia/chitozan/barwnik i DS) w układzie, co również ogranicza absorpcję promieniowania odpowiednio przez fluoresceinę lub róż bengalski (i dalszą fotodegradację filmu) [H-8].

Aby sprawdzić skuteczność fotoochronną uzyskanych materiałów, wybrane owoce/warzywa pokryłam przygotowanymi roztworami mieszanin z fluoresceiną i po odparowaniu rozpuszczalnika (wody) pozostawiłam na trzy doby w warunkach pokojowych w sezonie letnim (temperatura maksymalna w dzień wynosiła 30°C) [H-8]. Powłoki FSChDS okazały się najbardziej skuteczne w ochronie owoców przed światłem słonecznym filtrowanym przez szyby okienne (rys. 8).



Na niepokrytej truskawce po czasie eksperymentu pojawiła się pleśń, zaś owoc pokryty FSChDS wyglądał świeżo. Z kolei skórka papryczki chili, marchwi i jagód w osłonkach biopolimerowych była zdecydowanie mniej pomarszczona. Ponadto marchew nie wyglądała na suchą, biała powłoka była mniej intensywna, a w przypadku marchwi z FSChDS biały nalot nie występował.

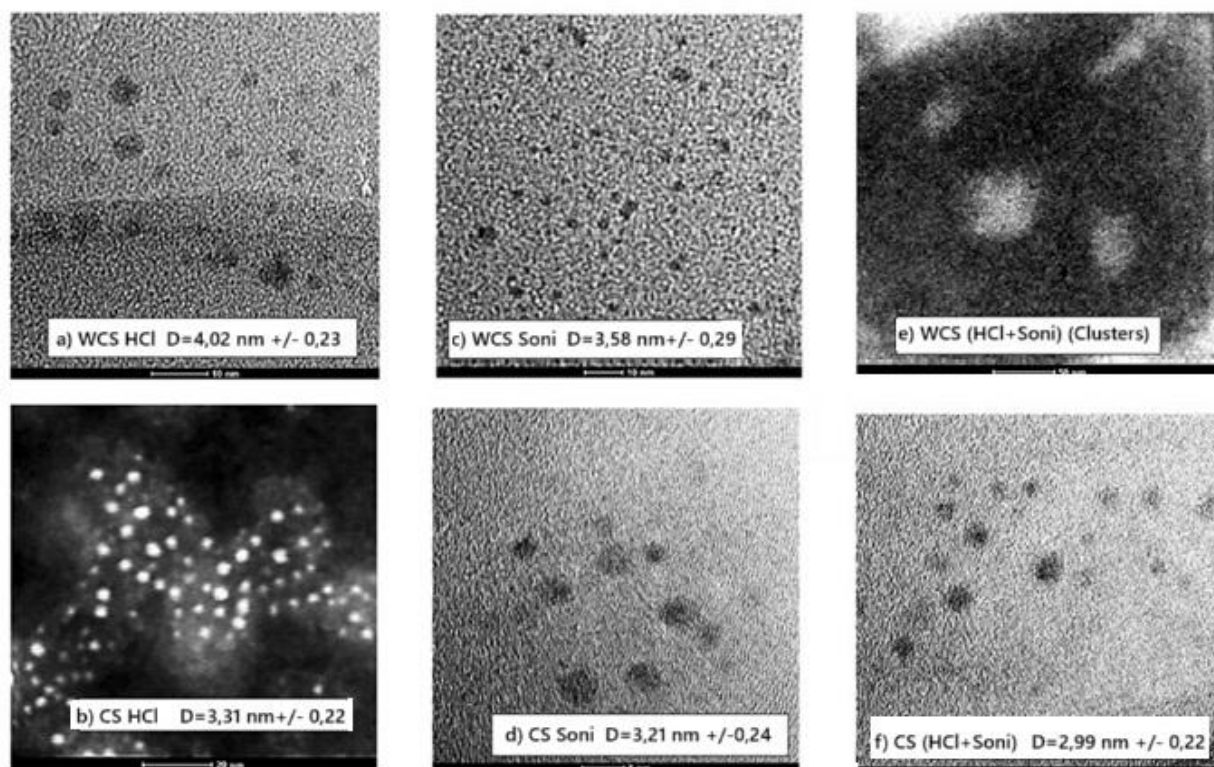
RYSUNEK 8. Zdjęcia wybranych owoców/warzyw niepokrytych i pokrytych cienkimi powłokami FS, FSCh oraz FSChDS badane pod kątem wpływu światła słonecznego.

VI. OTRZYMYWANIE I CHARAKTERYSTYKA NANOSKROBI [H-9]

We współczesnych technologiach coraz większe znaczenie zyskują nanomateriały ze względu na swoje unikalne właściwości fizykochemiczne. Równocześnie poszukiwanie ekologicznych materiałów

o wszechstronnych zastosowaniach przyczynia się do rosnącego zainteresowania naturalnymi biopolimerami, w tym łatwo dostępnymi polisacharydami. Dlatego kolejnym celem mojej pracy było uzyskanie nanocząstek skrobi kukurydzianej (CS) oraz nanoskrobi kukurydzianej woskowej (WCS) o możliwie najmniejszych rozmiarach, z wąskim rozkładem wielkości i ograniczoną podatnością na aglomerację. Warunki eksperymentu zaprojektowałam w taki sposób, aby zapobiec żelowaniu skrobi, a opracowana przeze mnie metodologia okazała się skutecznym, szybkim i ekonomicznym sposobem syntezy nanocząstek z kukurydzy i skrobi woskowej. Oprócz modyfikacji chemicznej (hydroliza kwasowa HCl w 65°C) zbadalam również wpływ fizyczny (kawitacja w 60°C) w kontekście przygotowania nanocząstek, zarówno jako efekt ekskluzywny, jak i po wcześniejszej hydrolizie [H-9]. Uzyskane nanomateriały mogą znaleźć zastosowanie do produkcji żywności funkcjonalnej oraz w przemyśle opakowaniowym lub inżynierii środowiska.

Po hydrolizie HCl cząstki CS osiągnęły średnie rozmiary cząstek na poziomie 3,3 nm, zaś cząstki WCS - 4,0 nm i miały owalny, nieregularny kształt (rys. 9 a, b). Podobny rezultat uzyskałam po zastosowaniu ultrasonifikacji, otrzymując w przypadku obu typów skrobi nanostruktury o rozmiarach cząstek 3-4 nm (rys. 9 c, d).



RYSUNEK 9. Mikrografie TEM-STEM: a, b – skrobia kukurydziana (CS) i skrobia kukurydziana woskowa (WCS) po hydrolizie kwasowej HCl (CS HCl; WCS HCl), c, d- skrobia kukurydziana (CS) i skrobia kukurydziana woskowa (WCS) po sonifikacji (CS Soni; WCS Soni) oraz e, f- i skrobia kukurydziana (CS) i skrobia kukurydziana woskowa (WCS) po hydrolizie HCl i sonifikacji (CS (HCl+Soni), WCS (HCl+Soni)).

Z kolei stosując metodę łączoną, tj. hydrolizę i ultradźwięki, uzyskałam cząstki skrobi kukurydzianej, o średnicy wynoszącej nieco poniżej 3 nm. W przypadku skrobi kukurydzianej woskowej, z powodu ograniczeń aparaturowych nie udało się zmierzyć rozmiarów otrzymanych nanocząstek, natomiast zaobserwowałam ich

skupiska o średniej średnicy 50 nm (**rys. 9 e, f**). Z kolei w żadnym z pozostałych przypadków nie zaobserwowałam agregacji, niezależnie od rodzaju modyfikacji. Dodatkowo, po modyfikacji część struktury ziarnistej zaniknęła; zaś nanoziarna skrobiowe były osadzone w masie nieziarnistej, zatem doszło do częściowego zniszczenia struktur krystalicznych.

W efekcie hydrolizy kwasowej oraz połączonych metod doszło do utleniania z utworzeniem grup karbonylowych wyłącznie w przypadku skrobi kukurydzianej, co stwierdzono metodą spektroskopii FTIR. Może to wynikać z degradacji makromolekuł CS, a następnie utleniania w miejscach pęknięcia wiązań w łańcuchu lub pierścieniu glikozydowym. Wyznaczając indeks hydroksylowy potwierdziłam, że w przypadku nano CS wskutek modyfikacji doszło do utraty związanej wody, a następnie tworzenia wiązań wodorowych między makromolekułami. Z drugiej strony, w przypadku skrobi kukurydzianej woskowej wyższa zawartość amylopektyny, tworzącej gęstsze struktury, w sposób oczywisty ograniczyła dostęp cząsteczek wody.

Spektroskopia FTIR dostarcza również informacji na temat stopnia uporządkowania biopolimerów o rozmiarach nanometrycznych. W tym celu wyznaczyłam stosunek intensywności pasm wrażliwych na zmiany konformacyjne (a jednocześnie zmiany stopnia krystaliczności) tj. pasm przy $\sim 1150\text{ cm}^{-1}$ i 1040 cm^{-1} oraz pasm przy 995 cm^{-1} i 1022 cm^{-1} , odpowiadających jej amorficznemu fragmentom [73]. Wykazałam zmniejszenie uporządkowania struktury w zewnętrznych obszarach ziarna nanoskrobi kukurydzianej (w efekcie wszystkich zastosowanych modyfikacji), skutkujący zmniejszeniem wielkości kryształitów i tworzeniem fazy amorficznej. Z kolei skrobia kukurydziana woskowa była mniej podatna na modyfikację, charakteryzowała się większą stabilnością uporządkowanej struktury, a w efekcie ultrasonifikacji zaobserwowałam nawet wzrost stopnia porządku krystalicznego nano WCS. Pozostawało to w zgodzie z obserwowanym spadkiem zawartości amylozy i zostało potwierdzone wzrostem wartości stopnia krystaliczności wyznaczonego metodą spektroskopii XRD. Wspólne działanie hydrolizy i ultradźwięków najsilniej wpływało na redukcję stopnia uporządkowania struktury nanoskrobi (X_c, FTIR).

W niemodyfikowanych próbkach, zawartość amylozy wynosiła 22,5% dla skrobi kukurydzianej i 3% dla skrobi woskowej. Po hydrolizie lub ultrasonifikacji, a także po zastosowaniu obu tych metod łącznie, ilość amylozy w granulach skrobi została zredukowana, przy czym większe straty amylozy zaobserwowałam dla skrobi kukurydzianej, co wskazuje na większą podatność nierozgałęzionych makrołańcuchów (występujących głównie w amylozie) na działanie HCl i ultradźwięków. Efekt ten jest związany ze zmianą konformacji łańcuchów skrobi i częściowym zniszczeniem struktury helikalnej. Zgodnie z literaturą, działanie HCl wywołuje głównie hydrolizę wiązań α -(1,4)-glikozydowych, ponieważ wiązanie β -(1,6)-glikozydowe charakteryzuje się większą energią [74]. Z moich badań wynika, że rozgałęzione struktury amylopektyny, dominujące w skrobi woskowej, są bardziej odporne na modyfikację. Gęste upakowanie łańcuchów amylopektyny w WCS w obrębie kryształitów zakłóca wnikanie H_3O^+ do tych obszarów ograniczając możliwość hydrolizy wiązań glikozydowych. Tę konkluzję poparłam również wynikami stopnia uporządkowania struktury wyznaczonego metodami spektroskopowymi. Stężenie amylozy wpływa również na zmiany w rozmiarze nanocząstek. W związku z tym, zmniejszenie rozmiaru cząstek po modyfikacji zaobserwowałam w nano-CS, w przeciwieństwie do nano-WCS (gdzie zmiany były niezauważalne). Struktura amylozy i amylopektyny oraz ich ilościowy stosunek, organizacja łańcuchów i rodzaj kryształitów odgrywają istotną rolę w mechanizmie termicznej dekompozycji skrobi i nanoskrobi. Jak podaje literatura,

temperatura termicznej degradacji cząsteczek powinna rosnać wraz ze zwiększającą się zawartością amylozy w skrobi natywnej [75]. Znajduje to odzwierciedlenie w moich badaniach: skrobia kukurydziana woskowa z zawartością amylozy 3% osiągnęła maksimum rozkładu termicznego w $T_{\max}=271^{\circ}\text{C}$, a skrobia kukurydziana z około 22,5% zawartością amylozy wobec $T_{\max}=277^{\circ}\text{C}$.

Przebieg degradacji nanoskrobi poddanej działaniu ultradźwięków był jednoetapowy wyłącznie dla skrobi kukurydzianej woskowej, w pozostałych przypadkach obserwowałam dwa etapy rozkładu. W przypadku zarówno nano-CS, jak i nano-WCS doszło do obniżenia odporności termicznej po zastosowaniu metody modyfikacji łączonej oraz hydrolizy. Analiza DSC potwierdziła, że oba typy skrobi były najbardziej podatne na działanie kwasu, a najmniej na sonifikację (przy czym skrobia woskowa okazała się bardziej odporna na sonifikację niż skrobia kukurydziana). Mały również entalpie topnienia (ΔH) i temperatury żelowania nanoskrobi, przy zachowaniu podobnego trendu zmian dla obu jej rodzajów.

Badania nad właściwościami termicznymi nanoskrobi poszerzyłam o charakterystykę głównych gazowych produktów procesu pirolizy (FTIR), wśród których obserwowałam obecność kwasu octowego, hydroksymetylofurfuralu, dwutlenku węgla, śladowo występowały też kwasy i aldehydy, a także niskocząsteczkowe bezwodne monomery, jak i oligomery.

Opracowane przeze mnie metody syntezy nanoskrobi ze skrobi kukurydzianej oraz kukurydzianej woskowej okazały się skuteczne, szybkie i bezpieczne dla środowiska, ale przede wszystkim umożliwiły otrzymanie stosunkowo stabilnych nanobiomateriałów o rozmiarach cząstek nieprzekraczających 5 nm. Dowiodłam, że większe stężenie amylozy w skrobi ma wpływ na jej podatność zarówno na modyfikację fizyczną jak i chemiczną i w efekcie na cechy uzyskanego produktu. Uważam, że zaproponowana przeze mnie technika może być skuteczna w wielu zastosowaniach zarówno w przemyśle spożywczym, medycznym czy kosmetycznym.

VII. GŁÓWNE ORYGINALNE OSIĄGNIĘCIA OPUBLIKOWANEGO CYKLU BADAŃ

Podstawą osiągnięcia naukowego w ramach postępowania habilitacyjnego był monotematyczny cykl publikacji (H1–H9), poświęcony modyfikacji biopolimerów – skrobi i chitozanu – w celu poprawy ich właściwości użytkowych oraz zwiększenia ich potencjału aplikacyjnego w różnych gałęziach przemysłu, w szczególności w przemyśle opakowaniowym, spożywczym, farmaceutycznym, kosmetycznym oraz w zastosowaniach biomedycznych.

Pomimo licznych zalet, takich jak biodegradowalność, nietoksyczność, odnawialność oraz szeroka dostępność, naturalne biopolimery charakteryzują się pewnymi ograniczeniami, które utrudniają ich powszechne zastosowanie na skalę przemysłową. Do najważniejszych z nich należą: wysoka hydrofilowość, ograniczona stabilność mechaniczna i termiczna, a także trudności w przetwarzaniu i formowaniu struktur o pożądanych właściwościach fizykochemicznych. W związku z tym konieczne jest opracowanie skutecznych metod modyfikacji biopolimerów, które pozwolą na przezwycięzenie tych barier bez utraty ich przyjaznego dla środowiska charakteru.

W prezentowanych badaniach poddałam biopolimery: skrobię i chitozan wielokierunkowym rodzajom modyfikacji, aby wzmocnić ich olbrzymi potencjał praktyczny jako materiałów w pełni ekologicznych,

bezpiecznych dla środowiska, biodegradowalnych i powszechnych. Analizie poddałam m.in. ich zachowanie w warunkach oddziaływania światła, temperatury oraz czynników biologicznych, badając tym samym podatność nowych materiałów na degradację foto-, termo- i biologiczną.

Zaproponowane rozwiązania wpisują się w aktualne trendy rozwoju nowoczesnych, zrównoważonych materiałów polimerowych oraz odpowiadają na potrzeby gospodarki o obiegu zamkniętym.

Do najważniejszych osiągnięć wyników badań własnych, wnoszących znaczący wkład w rozwój nauk chemicznych zaliczam:

1. **Otrzymanie filmów skrobiowo-chitozanowych o dobrej odporności fotochemicznej i wyjaśnienie mechanizmu stabilizacji wskutek oddziaływań międzycząsteczkowych.** Dowiodłam, że filmy skrobiowo-chitozanowe są mniej podatne na promieniowanie UV niż czysta skrobia, a zmiany właściwości fotochemicznych mieszanek chitozanu i skrobi nie są addytywne, co potwierdza interakcje międzycząsteczkowe tych dwóch polisacharydów [H-1].
2. **Wykazanie różnic w fotostabilności skrobi w zależności od pochodzenia botanicznego.** Napromieniowanie UV skrobi skutkuje przemianami konformacyjnymi i tworzeniem mniej uporządkowanych struktur polisacharydów. Równocześnie, w badanych skrobiach dochodzi do rozrywania wiązań glikozydowych i fotolizy. Zaobserwowałam nieco niższą fotostabilność amylozy w porównaniu z amylopektyną. Wykazałam, że skrobia ziemniaczana różni się istotnie od pozostałych typów botanicznych (tj. skrobi kukurydzianej, kukurydzianej woskowej, pszennej) – jest bardziej podatna na amorfizację podczas ekspozycji na promieniowanie UV niż pozostałe rodzaje [H-2].
3. **Otrzymanie nowoczesnych, biodegradowalnych kompozytów skrobiowo-chitozanowych modyfikowanych żelem *Aloe vera* w prostym i ekonomicznym procesie [H-3].** Filmy cechował duży stopień jednorodności, przezroczystości i elastyczności, a także dobra odporność termiczna, umożliwiającą stosowanie klasycznych metod przetwarzania w celu formowania produktów handlowych, co predysponuje te układy do zastosowań w przemyśle opakowaniowym. Wykazałam tworzenie nowych wiązań między składnikami w matrycy oraz pozytywny wpływ żelu AV na wzrost stabilności fotochemicznej i wzrost hydrofobowości kompozytów. Wszystkie próbki uległy biodegradacji, przy czym dowiodłam, że podatność na rozkład biologiczny korelowała z ilością żelu aloesowego w mieszaninie (biodegradację ograniczało wyższe stężenie AV). Uważam, że zaproponowane przeze mnie układy posiadają duży potencjał do zastosowań na opakowania i powłoki ograniczające psucie produktów spożywczych.
4. **Zaprojektowanie biodegradowalnych, perspektywicznych materiałów o charakterze antyutleniającym i przeciwdrobnoustrojowym na bazie skrobi modyfikowanej antyutleniaczami: kwasem askorbinowym, kofeiną, kwasem chinowym oraz kwasem kawowym do zastosowań w przemyśle opakowaniowym [H-4, H-5].** Filmy wzbogaciłam skrobią dialdehydową, która sprzyjała sieciowaniu, poprawiła parametry mechaniczne i odporność termiczną, a dodatkowo działała przeciwbakteryjnie i przeciwoksydacyjnie. Najwyższą aktywność antyutleniającą uzyskałam dla filmów

modyfikowanych skrobią dialdehydową oraz kwasem kawowym/ witaminą C. Z kolei wprowadzenie kofeiny skutkowało większą hydrofobowością filmów skrobiowych, lecz także najniższym potencjałem przeciwutleniającym. Antyoksydanty wprowadzone do matrycy skrobiowej w różnym stopniu zwiększyły sztywność i zredukowały rozciągliwość filmu, podczas gdy skrobia dialdehydowa przyczyniła się do zwiększenia elastyczności. Ponadto wszystkie badane filmy posiadały dobre właściwości barierowe i podlegały efektywnej biodegradacji. Wprowadzenie antyutleniaczy do matrycy biopolimerowej uważam za doskonałe rozwiązanie dla celów przemysłu opakowaniowego, gdzie wymagane są właściwości antyoksydacyjne. Materiały te spełniają wymagania dotyczące ekologicznych opakowań.

5. **Opracowanie metody syntezy i charakterystyka biodegradowalnego materiału fosfonowanego bursztynianu skrobiowego modyfikowanego chitozaniem z przeznaczeniem dla zastosowań przemysłowych [H-6].** Modyfikując czas syntezy oraz stężenia reagentów uzyskałam jednorodny materiał o dobrych właściwościach mechanicznych i ograniczonej barierowości dla pary wodnej. Inną zaletą jest wyższa podatność na biodegradację w glebie w porównaniu do rodzimych filmów skrobiowych. Uzyskane biodegradowalne materiały na bazie skrobi mogą stanowić atrakcyjną ekologiczną alternatywę dla tworzyw sztucznych, jako opakowania i powłoki żywności czy leków.
6. **Zaprojektowanie i charakterystyka fluorescencyjnych pochodnych biopolimerów (skrobi i/lub chitozanu)** o dobrej odporności na ciepło i promieniowanie UV (a więc czynniki sterylizujące) co jest ważne w perspektywie zastosowań w biologii i medycynie [H-7, H-8]. Jako opakowania/powłoki „inteligentne” mogą służyć również zabezpieczeniu łatwo psujących się produktów (np. świeżych owoców i warzyw) i przedłużeniu ich przydatności do spożycia. W celu uzyskania biomateriałów fluorescencyjnych zastosowałam do modyfikacji heterocykliczne barwniki aromatyczne oparte na benzimidazolu, benzotiazolu i benzoksazolu: a także róż bengalski i fluoresceinę. Mieszanki skrobiowo-chitozanowe z fluoresceiną spełniają kryteria powłok spożywczych ograniczających psucie żywności pod wpływem czynników środowiskowych, co potwierdziłam na wybranej grupie owoców i warzyw.
7. **Opracowałam skuteczny, szybki, ekologiczny i ekonomiczny sposób syntezy nanoskrobi z kukurydzy i skrobi kukurydzianej woskowej [H-9].** Zaletami metody są łagodne warunki (lekkie kwaśne środowisko, podwyższona temperatura nieprzekraczająca temperatury żelatynizacji) oraz krótki czas modyfikacji (do 1 godziny). Hydroliza kwasowa, sonifikacja oraz połączenie tych metod prowadzi do otrzymania stosunkowo jednorodnych nanocząstek skrobiowych o rozmiarach nieprzekraczających 5 nm. Potwierdziłam wpływ stężenia amylozy na podatność skrobi na modyfikację i właściwości nanoproduktu; skrobia kukurydziana, bogata w amylozę, była bardziej podatna, zaś skrobia kukurydziana woskowa cechowała się większą odpornością na modyfikację. Oczekuję, że nanocząstki skrobiowe znajdą zastosowanie w funkcjonalnej żywności, oraz farmacji i kosmetyce, np. do enkapsulacji substancji aktywnych, co ułatwi ich transport lub zwiększy trwałość.

Podsumowując, zaprojektowane przeze mnie materiały stanowią istotny wkład w badania nad „inteligentnymi” biodegradowalnymi materiałami opakowaniowymi stanowiącymi alternatywę dla tworzyw sztucznych.

Otrzymane przeze mnie nowe kompozyty charakteryzują się biodegradowalnością, aktywnością przeciwbakteryjną, antyoksydacyjną oraz biokompatybilnością. Są to materiały bezpieczne dla organizmu i środowiska naturalnego, dlatego mogą znaleźć zastosowanie w przemyśle opakowaniowym dla produktów łatwo psujących się, takich jak żywność, kosmetyki czy leki. Moje badania przyczyniają się również do rozwoju innowacji w dziedzinie chemii polimerów, a co za tym idzie do postępu nauk chemicznych.

VIII. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

OPIS DZIAŁALNOŚCI NAUKOWO-BADAWCZEJ PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA

W trakcie studiów magisterskich zainteresowałam się badaniami nad polimerami, dlatego tematyka mojej pracy magisterskiej, której promotorem była Pani Prof. dr hab. Halina Kaczmarek, była związana z poliolefinami. Szczególną uwagę zwróciłam na zagrożenia dla środowiska naturalnego, jakie wynikają z powszechnego użycia polimerów syntetycznych. Zainspirowało mnie to do poświęcenia się badaniom nad modyfikacją polietylenu i polipropylenu w kierunku uzyskania materiałów bio- i foto-degradowalnych. Założenia te były głównym tematem mojej pracy magisterskiej pt. *„Badanie biodegradacji i fotodegradacji polipropylenu, celulozy i ich mieszaniny”*, a tematykę tę kontynuowałam także w trakcie studiów doktoranckich. Po ukończeniu studium doktoranckiego w roku 2004 zostałam pracownikiem Katedry Chemii i Fotochemii Polimerów, najpierw na stanowisku naukowo-technicznym, a następnie asystenta. Do roku 2006 w którym uzyskałam stopień naukowy doktora (tytuł rozprawy: *„Procesy degradacyjne w polietylenie modyfikowanym celulozą”*) ukazało się **10 publikacji (w tym 9 z listy filadelfijskiej - *Master Journal List*)**, których jestem współautorką, oraz uczestniczyłam w **11 konferencjach naukowych** (w tym 8 międzynarodowych).

W 2002 roku w ramach stypendium z projektu Erasmus, odbyłam staż naukowy pod kierunkiem Prof. Enrico Pedemonte na Uniwersytecie w Genui (06.10.2002 - 06. 01.2003). Podczas pobytu podjęłam się badania nad modyfikacją chemiczną celulozy w procesie utleniania jodanem (VII) sodu, a także analizowałam właściwości fizykochemiczne otrzymanej celulozy dialdehydowej. Efektem tej pracy była publikacja w *Thermochimica Acta* (2004r.) (nr 33, zał. 4a). oraz poster prezentowany na konferencji “XXIV National Meeting of Calorimetry, Thermal Analysis and Chemical Thermodynamics” w Catanii, Włochy (nr 32, zał. 4a). Eksperymenty te stały się dla mnie inspiracją do podjęcia badań nad skrobią dialdehydową, jej udziałem w charakterze składnika matryc biopolimerowych i modyfikatora wielu właściwości materiałów otrzymanych dla celów przemysłowych. W trakcie stażu badałam również stabilność fotochemiczną mieszanin polietylenu z celulozą metodą DSC. Wyniki te znalazły się w mojej rozprawie doktorskiej.

Zostałam również laureatką stypendium w projekcie Marie-Curie Training Site. W trakcie trzymiesięcznego stażu pod kierunkiem Dr. Claude`a Sourisseau (Francja, Bordeaux, Universite Bordeaux 1; Laboratoire de Physico-Chimie Moleculaire) badałam procesy bio- i fotodegradacji mieszanin polietylenu i polipropylenu z celulozą. W trakcie stażu analizowałam zmiany właściwości fizyko-chemicznych (zmiany na poziomie molekularnym, zmiany strukturalne i konformacyjne) wspomnianych układów spowodowane ich degradacją pod wpływem promieniowania UV lub mikroorganizmów. Badania prowadziłam za pomocą technik

spektroskopowych IR, UV-Vis i Ramana. Wyniki uzyskane podczas badań prowadzonych na stażu w Bordeaux stanowiły wkład do mojej pracy doktorskiej, a także zostały opublikowane w Journal of Materials Science (2005 r.) (publikacja nr. 32, zał.4a).

W ramach współpracy z Chalex Research Ltd. (Wlk. Brytania), TTZ Bremerhaven (Niemcy), Latvian University of Agriculture in Jelgava (Łotwa) w ramach naukowych sieci tematycznych 5 Programu Ramowego Unii Europejskiej, Quality of Life brałam udział w dwóch projektach:

- „Recykling i biodegradowalność tworzyw sztucznych jako ekologiczne rozwiązania w przemyśle opakowań żywności” (Recyclable and biodegradable eco-efficient packaging solutions for the food industry), akronim ECOPAC, nr kontraktu QLK1-2001-01823 **(2002-2004)**

- „Wdrożenie i standaryzacja przyjaznych środowisku technologii opakowaniowych do przemysłu spożywczego” (Assimilation and Standardisation of Environmentally Friendly Packaging Technologies within the Food Industry), akronim PACKTECH, nr kontraktu GIRT-CT-2002-05068 **(2002-2005)**.

OPIS DZIAŁALNOŚCI NAUKOWO-BADAWCZEJ PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA

Od roku 2007 jestem zatrudniona na stanowisku asystenta, a następnie od roku 2011 – adiunkta w Katedrze Chemii Fizycznej i Fizykochemii Polimerów, obecnie jest to Katedra Chemii Biomedycznej i Polimerów na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. W tym czasie brałam udział w wielu konferencjach krajowych oraz międzynarodowych, a także odbyłam **dwie krajowe staże naukowe (Instytut Inżynierii Materiałów Polimerowych i Barwników IMPIB w Toruniu, obecnie Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Materiałów Polimerowych), jeden staż w ramach współpracy z przemysłem (PRS Lech Rutkowski, Kałdus, Polska), oraz jeden staż zagraniczny (Genua, WŁOCHY)**. W efekcie tej współpracy powstał cykl prac opublikowanych w czasopiśmie o zasięgu krajowym i międzynarodowym, w których jestem współautorką.

Po uzyskaniu stopnia doktora ukazało się **29 publikacji (27 w czasopiśmie posiadających współczynnik Impact Factor, znajdujących się w bazie Journal Citation Reports)**, w których jestem autorką oraz współautorką. W 4 jestem jedynym autorem, a w 7 jestem autorem korespondencyjnym. Ponadto jestem autorką rozdziału w monografii, oraz współautorką 2 patentów.

W roku 2025 na zaproszenie Prof. Silvii Vicini odbyłam miesięczny staż na Uniwersytecie w Genui (Università di Genova; Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale (22.IX.2025 - 17.X.2025)), gdzie prowadziłam badania z wykorzystaniem metod elektrospinningu do pozyskania mat celulozowych i karboksymetylocelulozowych. Praca polegała na doborze najkorzystniejszych dla procesu właściwości roztworu – w tym ekologicznych rozpuszczalników oraz doborze parametrów procesu. Współpraca będzie kontynuowana w zakresie nanobiomateriałów do zastosowań medycznych i opakowaniowych, w tym na bazie celulozy, skrobi, chitozanu i ich pochodnych.

W latach I.2020-XII.2022 oraz I.2023-XII.2025 byłam członkiem dwóch zespołów badawczych wyłonionych w ramach Emerging Fields: „Science of polymers and multifunctional nanomaterials”, oraz „Applied polymers, nanomaterials, membranes, and composites”. Koordynatorem obu projektów był Prof. dr hab. Wojciech Kujawski (Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu). W ramach projektów prowadziłam badania

nad aktywnymi, inteligentnymi materiałami biopolimerowymi oraz projektowałam filmy i powłoki na bazie polimerów naturalnych ze źródeł odnawialnych: skrobi i chitozanu, o właściwościach biologicznych lub fotoczułych do zastosowań przemysłowych, kosmetyczno-medycznych (np. maski na problemy skórne, opatrunki na blizny oraz nośniki substancji czynnych) i opakowaniowych (np. jako opakowania szybko psującej się żywności, a także jako jadalne folie pokrywające produkt cienką warstwą). Aplikacja biodegradowalnych, nietoksycznych i kompatybilnych biopolimerów w przemyśle jest odpowiedzią na zwiększającą się ilość odpadów z polimerów syntetycznych nieulegających biodegradacji, które stanowią poważny problem ekologiczny. Ze względu na obecność grup funkcyjnych w strukturze tych makromolekuł, mogą być one modyfikowane na różne sposoby, aby nadać im pożądane właściwości. W projekcie skupiłam się m.in. na otrzymywaniu światłoczułych, fluorescencyjnych materiałów na bazie skrobi i/lub chitozanu modyfikowanych różem bengalskim i fluoresceiną. Z kolei wprowadzając do matrycy biopolimerowej substancje aktywne, takie jak naturalne antyutleniacze, a także skrobię dialdehydową uzyskałam nowatorskie materiały o charakterze przeciwdrobnoustrojowym, przeciwutleniającym, o wzmocnionej barierowości, ograniczonej hydrofilowości, dobrej wytrzymałości mechanicznej i elastyczności.

Efektym wymiernym tej pracy były publikacje naukowe w czasopiśmie z listy filadelfijskiej, w tym trzy wchodzące w skład osiągnięcia naukowego, w których jestem autorem korespondencyjnym:

1. D. Bajer, Eco-Friendly, Biodegradable Starch-Based Packaging Materials with Antioxidant Features, *Polymers*, 16(7) (2024) 958,
2. D. Bajer, A. Burkowska-But, Innovative and environmentally safe composites based on starch modified with dialdehyde starch, caffeine, or ascorbic acid for applications in the food packaging industry, *Food Chemistry*, 374 (2022) 131639
3. D. Bajer, Fluorescent starch/chitosan composites as safe and photoprotective coverings for perishable food products, *Polymer Degradation and Stability*, 237 (2025), 111317.

W ramach działania w ww. zespołach badawczych (Emerging Fields) prezentowałam wyniki badań (3 komunikaty, 4 postery): na **konferencjach krajowych** (PTChem, 2023 w Toruniu) oraz **międzynarodowych (MODEST 2024, Palermo, Włochy), M3-S "Applied polymers, nanomaterials, membranes, and composites"** (2025, Toruń, Polska) oraz **POLY-CHAR 2025 Polymeric materials meet nanobiotechnology, 2025, Mauritius).**

W konferencji międzynarodowej M3-S "Applied polymers, nanomaterials, membranes, and composites", która miała miejsce w Toruniu, w dniach 27-30.V.2025, **pełniłam funkcję członka komitetu naukowego oraz organizacyjnego oraz prowadziłam sesję naukową.**

Część prac badawczych realizowałam również przy współpracy z innymi ośrodkami krajowymi.

W roku 2007 rozpoczęłam wieloletnią współpracę z Instytutem Inżynierii Materiałów Polimerowych i Barwników, obecnie Sieć Badawcza Łukasiewicz - Instytut Inżynierii Materiałów Polimerowych i Barwników, a w **latach 2011 i 2012** odbyłam **dwumiesięczne staże** gdzie poszerzyłam swą wiedzę o praktyczny aspekt dotyczący przetwórstwa tworzyw polimerowych oraz analizę parametrów przetwórczych i użytkowych. Poznałam laboratoryjne i przemysłowe metody wytwarzania tworzyw polimerowych i ich kompozytów. Zapoznałam się z typami maszyn stosowanych w przetwórstwie, takich jak wyłaczarki jednoślismakowe

(Brabender- wytłaczałam polietylen (PE-LD) i polipropylen), dwuślimakowe (zastosowałam dla mieszanin poli(chlorku winylu) (PVC) i polipropylenu (PP) z różnymi napelniającymi, w celu uzyskania tworzyw termoplastycznych) oraz wtryskarki. W trakcie stażu poznałam również pracę linii do wytłaczania z tzw. rozdmuchiwaniem folii (np. poliamidu (PA6)) oraz folii płaskiej, a ponadto różnego rodzaju profili (rury, listwy, taśmy) z tworzyw polimerowych. Ponadto brałam udział w próbach uzyskania plastyfikowanego granulatu skrobiowego na współbieżnej wytłaczarce dwuślimakowej BTKS 20/40D firmy Buhler, wyposażonej w dozownik wolumetryczny ze specjalnie opracowaną dla tego tworzywa konfiguracją ślimaków. Wynikiem tych prac było otrzymanie wartościowego materiału skrobiowego o pożądanych właściwościach przetwórczych i fizyko-chemicznych, a przede wszystkim o całkowitej biodegradowalności.

W trakcie drugiego stażu pracowałam także nad badaniem biodegradacji tworzyw na bazie polimerów naturalnych, w tym skrobi. Było to ściśle związane z tematyką mojej rozprawy habilitacyjnej. W Instytucie zostałam zapoznana z badaniami biodegradacji materiałów (prowadzonych w różnym inokulum) w oparciu o pomiar wydzielających się w trakcie procesu gazów: dwutlenku węgla (CO₂) i metanu (CH₄) i/lub konsumpcji tlenu (O₂) metodą chromatograficzną. Zastosowanie metody chromatograficznej było nowatorskie w skali kraju i jednocześnie pozwalało uzyskać bardzo dokładne wyniki analizy.

Brałam udział we wspólnym projekcie badawczym rozwojowym realizowanym w latach 2010-2013 „Ulegające biodegradacji tworzywo polimerowe przeznaczone na opakowania odpadów organicznych oraz folie rolnicze i ogrodnicze” (PBR nr NR05-0036-10 /2010), jako jeden z głównych wykonawców. W ramach projektu realizowałam badania dotyczące wpływu typu skrobi i warunków przetwórstwa na właściwości skrobi plastyfikowanej oraz określałam efekty działania różnego rodzaju mikroorganizmów na proces biodegradacji biologicznej w różnorodnych warunkach środowiskowych z wykorzystaniem różnych technik badawczych takich jak: DSC, HPLC, NMR, MFR, ATR-FTIR, UV-Vis, SEM, WAXS, GC. W ramach tego projektu współpracowałam również z Uniwersytetem Jana Długosza w Częstochowie (1 wspólna publikacja nr. 16).

Wyniki badań prowadzonych w efekcie współpracy z IIMPIB w Toruniu w latach 2007-2015 były prezentowane w formie prezentacji współautorskich; w tym **na 12 konferencjach naukowych: krajowych (5: nr 10,13,17,20,21 w zał. 4a) i międzynarodowych (7: nr 1,14-16,18,19 w zał. 4a)** (Konferencja Naukowo-Techniczna: Postęp w Przetwórstwie Materiałów Polimerowych, Częstochowa-Poraj, 2010; 7th MoDeSt Conference 2012, Praga (Republika Czeska); Pomerania – Plast, Międzyzdroje 2013; Conference of the Polymer Processing Society PPS 29, Norymberga (Niemcy) 2013; 5th International Conference on Structural Analysis of Advanced Materials ICSAAM, Kos (Grecja) 2013; 3rd EPNOE International Polysaccharide Conference Nicea (Francja) 2013; 58 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego w Gdańsku, 2015; 4th EPNOE International Polysaccharide Conference Warszawa 2015 POLY-CHAR 2025 Polymeric materials meet nanobiotechnology, Mauritius) oraz **w 9 publikacjach naukowych** (publikacje nr: 13-18, 24-26 zał. 4a).

Prezentowałam także dwa wykłady na zaproszenie:

- Bajer D.: Analiza literaturowa norm i sposobów badania biodegradacji. Analiza wybranych skrobi natywnych. Seminarium naukowe Instytut IMPIB, Toruń, 08.IV.2011

•Bajer D.: Biodegradacja tworzyw polimerowych, definicje, metody i sposoby pomiaru, Warsztaty Naukowe „Tworzywa Biodegradowalne ze źródeł odnawialnych” , IIMPIB, Toruń, 7-8 października 2013 (byłam także członkiem komitetu organizacyjnego tych warsztatów).

Następnie byłam wykonawcą w projekcie badawczym NCN „OPUS 9” w ramach konsorcjum trzech instytucji – Wydział Chemii UMK (lider), Instytut Inżynierii Materiałów Polimerowych i Barwników (Toruń) – i Instytut Technologii Elektronowej (Oddział Kraków): „Badania wpływu napełniaczy mineralnych na strukturę i właściwości piezoelektryczne elektretów z poliolefin krystalicznych” nr 2015/17/B/ST8/03396 (27.IV.2016-26.IV.2019).

Celem głównym projektu było wytworzenie kompozytów polimerowych na bazie poliolefin (izotaktycznego polipropylenu (i-PP) oraz polietylenu o dużej i średniej gęstości (HDPE, MDPE)) modyfikowanych fizycznie napełniaczami nieorganicznymi (glinokrzemiany, kreda) i otrzymanie kompozytów polimerowych o różnym składzie i strukturze metodą wytłaczania w odpowiednio dobranych warunkach. W celu nadania właściwości piezoelektrycznych, poddano je działaniu prądu stałego o dużym natężeniu (100 V/ μm).

W pierwszym kroku, zrealizowanym przez członka konsorcjum IIMPIB (Toruń) było otrzymanie odpowiednich folii poliolefinowych o właściwościach piezoelektrycznych.

Drugi etap badań był prowadzony na Wydziale Chemii UMK i obejmował charakterystykę struktury i właściwości fizykomechanicznych kompozytów. **Badania zrealizowane na Wydziale Chemii UMK, w których brałam aktywny udział obejmowały następujące zagadnienia:**

1. Charakterystyka morfologii próbek wyjściowych (napełniaczy i polimerów) oraz kompozytów, w tym struktury powierzchniowej (z wykorzystaniem metod SEM, AFM), oraz budowy wewnętrznej na podstawie obrazowania kruchych przełomów. Wykazano powstawanie struktury komórkowej, niezbędnej do gromadzenia się ładunku elektrycznego tj. uzyskania właściwości piezoelektrycznych. Badania SEM/EDX udowodniły, że aglomeraty napełniaczy wypełniają pory (jamy) w matrycy polimeru, a ich wielkość jest optymalna przy 5% zawartości dodatku modyfikującego.
2. Badania spektroskopowe kompozytów metodą ATR-FTIR i Ramana, które umożliwiły dokładne określenie struktury chemicznej składników kompozytów i oddziaływań międzycząsteczkowych oraz monitorowanie zmian w próbkach zachodzących podczas napromieniania UV (fotostarzenia).
3. Oznaczenie stopnia krystaliczności (X_c) polimerów na podstawie pomiarów XRD, oraz oszacowanie zakresu X_c wymaganego do powstawania trwałych elektretów.
4. Określenie odporności cieplnej wszystkich układów metodami analizy termicznej (TG/DTG/DTA/DSC). W odrębnym eksperymencie wykazano dobrą stabilność termiczną kompozytów w warunkach izotermicznych (podczas ogrzewania próbek w stałej temperaturze w zakresie 100-200°C do 8h).
5. Zbadanie właściwości powierzchniowych folii kompozytów metodą pomiarów kąta zwilżania, obliczenie swobodnej energii powierzchniowej oraz jej składowej polarnej i dyspersyjnej.
6. Oszacowanie stabilności fotochemicznej próbek z wykorzystaniem komory klimatycznej Suntest wyposażonej w lampę ksenonową emitującą promieniowanie zbliżone do światła słonecznego, co umożliwia ocenę odporności na fotostarzenie w warunkach naturalnych. Ponadto badano wpływ wysokoenergetycznego promieniowania UV

z wykorzystaniem rtęciowych lamp bakteriobójczych (stosowanych do sterylizacji materiałów o przeznaczeniu medycznym).

7. Systematyczne studia literaturowe pozwoliły na opracowanie obszernego przeglądu na temat polimerów piezoelektrycznych. Stan aktualnej wiedzy potwierdza celowość prowadzonych badań pod kątem produkcji tanich, elastycznych i łatwych w przetwarzaniu tworzyw piezoelektrycznych, do zastosowań w mikroelektronice i biomedycynie.

Trzeci cel stanowiło określenie właściwości piezoelektrycznych uzyskanych folii w ITE (Oddział Kraków). W związku z tym, wyznaczano ładunek i napięcie piezoelektryczne spolaryzowanych kompozytów, zbadano trwałość piezoelektretów w czasie przechowywania przez 5 miesięcy.

Zaletami opracowanych kompozytów jest łatwość ich modyfikacji, znana metodyka przetwórstwa, brak toksycznych metali ciężkich (występujących w nieorganicznych piezoelektrykach), możliwość formowania dowolnych kształtów (również cienkich folii), elastyczność i niska cena. Otrzymane kompozyty polimerowe, charakteryzujące się dobrymi właściwościami mechanicznymi (duży moduł Younga, dobra elastyczność), hydrofobowością, stabilnością termiczną i fotochemiczną, nie wykazujące wad piezoelektrycznej ceramiki (kruchość, trudności formowania), z powodzeniem mogą stanowić alternatywę dla stosunkowo drogiego poli(fluorku winylidenu), który jest stosowanym w praktyce piezoelektrykiem i odnośnikiem dla nowych materiałów. Badania pozwoliły wyselekcjonować układy, które z powodzeniem mogą być zastosowane do budowy czujników ruchu lub ciśnienia w przyrządach elektronicznych i medycznych, a także w personalnych urządzeniach do przetwarzania energii mechanicznej na impulsy elektryczne. W ramach projektu, w oparciu o wytypowane najkorzystniejsze kompozycje polimerowe wykonano modele urządzeń, które mogą stanowić przykład zastosowalności, a więc do pozyskiwania energii lub jako przetworniki energii np. do zamiany energii mechanicznej z ruchu człowieka na energię elektryczną (np. ładowanie urządzeń elektronicznych w czasie uprawiania sportu). Przykładowy układ elektroniczny z elementem piezoelektrycznym opartym na nieorientowanej folii PP napełnionej 10% wag. Silikolloidu P87, umieszczonym w podeszwie buta, zastosowano z dobrym skutkiem do pozyskiwania i gromadzenia energii w kondensatorze.

Uzyskane wyniki mogą być inspiracją do dalszych badań w kierunku wdrożenia tych materiałów we współczesnych technologiach. Dzięki temu przewidywany jest szybki rozwój łatwo dostępnych i tanich czujników personalnych.

Wymiernym efektem projektu było 18 publikacji w czasopismach z listy filadelfijskiej, w 5 z nich jestem współautorką (publikacje nr. 19-23, zał. 4a). Zaprezentowano również plakaty i komunikaty na 9 zagranicznych konferencjach naukowych (brałam udział w 2 - jeden plakat, jeden komunikat: nr. 8, 9 w zał. 4a) oraz uzyskano 3 patenty poszerzające istotnie wiedzę o dziedzinie tworzyw piezoelektrycznych.

W ramach projektu „Staż Sukcesem Naukowca” odbyłam staż w przedsiębiorstwie PRS Lech Rutkowski, Kałdus (IX.2011-II.2012), którego tematyka badawcza dotyczyła sposobów i metod zagospodarowania produktów ubocznych pochodzących z produkcji oleju rzepakowego. Na stażu zapoznałam się z następującymi aspektami funkcjonowania przedsiębiorstwa, mianowicie:

- z zakresem działalności firmy, prawną i administracyjną działalnością firmy, sprawozdawczością finansową,
- z produkcją oleju rzepakowego (tłoczenie, oczyszczanie, przechowywanie), w tym z węzłami produkcyjnymi na których powstają odpady oraz produkty uboczne, a także analizą tych produktów pod kątem składu surowcowego i chemicznego. Poznałam metody zagospodarowania odpadów poprodukcyjnych (makuchy, szlam śluzowy po hydratacji oleju),
- z odzyskiem fosfolipidów, głównie lecytyny z opadu pohydratacyjnego (zawartość do 30%),
- z wymogami i analizą parametrów oleju rzepakowego w zgodzie z obowiązującymi normami.

Z kolei w efekcie mojej **współpracy z Prof. Said Reza Falsafi (Food Science and Technology Division, Agricultural Engineering Research Department, Safiabad Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, (AREEO), Dezful, Iran)** w roku 2023 ukazały się dwie publikacje, w których jestem 2 i 3 autorem (publikacja nr 10 w Biomedicine & Pharmacotherapy (IF₂₀₂₅=7.5) oraz nr 11 w Carbohydrate Polymers IF₂₀₂₅=12.5)

W okresie **10.VI.2011 – 15.XII.2011** uzyskałam finansowanie w ramach **Grantu UMK nr: 4/2011**, na „Badanie wpływu promieniowania UV na proces utleniania i właściwości skrobi dialdehydowej”. Badania prowadzone w ramach tego projektu ukierunkowały moje zainteresowania na wykorzystanie potencjału jakim jest skrobia dialdehydowa.

W latach **2010-2012** składałam dwa wnioski badawcze do NCN jako kierownik projektu, wnioski nie zostały zakwalifikowane do finansowania. Dwukrotnie wnioskowałam o finansowanie badań z projektu **Miniatura** temat: „Bioaktywne materiały na bazie skrobi” (**VI i XII 2018**), nie uzyskując finansowania, oraz ubiegałam się o staż z projektu LIDER: „Badania i dobór nowych środków uniepalniających dla tworzyw biodegradowalnych i biorozkładalnych oraz opracowanie procesu ich wytwarzania” – program **LIDER** Narodowego Centrum Badań i Rozwoju - I Konkurs (**2009**) – wniosek niezakwalifikowany do finansowania. Ubiegałam się również o finansowanie z projektu wspieranego przez Urząd Marszałkowski na realizację zadania publicznego „Badania właściwości nowego materiału polimerowego wytworzonego z odpadów, pod kątem możliwości jego zastosowania użytkowego”, konkurs nr 8/2008, oraz „Badania i opracowanie specjalnych środków uniepalniających do tworzyw polimerowych” projekt badawczy własny 38 Konkurs nr N N209 252638 - wnioski nie zostały zakwalifikowane do finansowania.

W roku **2011** byłam członkiem zespołu nagrodzonego przez Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika za osiągnięcia uzyskane w dziedzinie naukowo-badawczej w 2010 roku (**nagroda III stopnia**). W tym samym roku uczestniczyłam w projekcie w projekcie "**Przedsiębiorczość akademicka -kierunek gospodarki jutra**", Fundacja Amicus Universitas Nicolai Copernici, gdzie otrzymałam nagrodę za najlepszy biznesplan.

Wspólnie z Instytutem Inżynierii Materiałów Polimerowych i Barwników w Toruniu otrzymałam srebrny medal GRAND PRIX INNOWACJE, „Biodegradowalna folia z surowców odnawialnych”, na targach **Technicon Innowacje w Gdańsku (2013)**. W latach **2022-2025** zostałam wyróżniona 5 nagrodami rektora za publikacje w renomowanych czasopismach z wysokim IF z przypisaną liczbą punktów od 140 do 200 w wykazie MNiSW.

Należę również do grona 2% najczęściej cytowanych autorów w roku **2024 wg ELSEVIER** (pod nazwiskiem panińskim Ołdak).

Poza działalnością publikacyjną, wyniki autorskich lub współautorskich badań naukowych (prowadzonych po uzyskaniu stopnia doktora) były prezentowane na 24 międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych i warsztatach, w postaci komunikatów naukowych (3 prezentowane osobiście), wykładów na zaproszenie (2 wygłaszane przeze mnie) oraz posterów (17-prezentowane przeze mnie i współautorów).

Od roku 2014 należałam do Towarzystwa Przetwórców Tworzyw Polimerowych (TPTP) przy Zarządzie Oddziału SIMP w Toruniu, w latach 2013 - 2015r. do Polymer Processing Society, PPS, natomiast od roku 2024 jestem członkiem Modification, Degradation, Stabilization of Polymers Society, MODEST. Brałam udział w organizacji konferencji międzynarodowej (M3-S "Applied polymers, nanomaterials, membranes, and composites" International Scientific Conference - 27-30.05.2025, Toruń, Poland) podczas której prowadziłam sesję naukową, a także działałam w Komitecie organizacyjnym i naukowym. Ponadto byłam członkiem komitetu naukowego i organizacyjnego warsztatów naukowych w Instytucie IIMPIB w Toruniu.

Po uzyskaniu stopnia doktora recenzowałam 30 publikacje w następujących czasopiśmie naukowych: Starch-Starke (Wiley, IF=2.7), Cellulose (Springer, IF=4.8), Scientific Reports (Nature, IF=3.9), Polymers (MDPI, IF=5), Materials (MDPI, IF=3,2), International Journal of Biological Macromolecules (Elsevier, IF=8,5), Food Chemistry (Elsevier, 9.8), Biomass Conversion and Biorefinery (Springer, IF=4.1), Journal of Molecular Structure (Elsevier, IF=4.7), Chemical Papers (Springer, IF=2.5).

W roku 2023 byłam także redaktorem wydania specjalnego "*Modification and Application of Starch-Based Polymers*" w czasopiśmie Polymers, MDPI [IF=5; MNiSW=100].

Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę

Działalność dydaktyczna

Moja działalność dydaktyczna związana była przez wiele lat z nauczaniem chemii studentów na kierunkach: Chemia, Biologia, Biotechnologia i Ochrona środowiska UMK, a obecnie Chemia kosmetyczna UMK. Prowadziłam zajęcia laboratoryjne z następujących dziedzin: *Chemia organiczna, Chemia ogólna i organiczna, Chemia ogólna i analityczna w ochronie środowiska*. Obecnie prowadzę ćwiczenia laboratoryjne z przedmiotów *Biopolimery (20h)* i *Chemia ogólna (75h)*, *ćwiczenia rachunkowe z chemii ogólnej (30h)*, a także prowadzę autorskie wykłady z przedmiotów: *chemia ogólna (30h)* i *surowce kosmetyczne (30h)* dla studentów I i II roku Chemii kosmetycznej. W ramach pracy zespołowej opracowałam merytorycznie oraz przygotowałam zajęcia laboratoryjne z przedmiotu chemia ogólna dla I roku kierunku Chemia kosmetyczna (90/75h) i „Biopolimery” (10h) na kierunku chemia Kosmetyczna (III rok).

Na kierunku Chemia kosmetyczna jestem kierownikiem pracowni *Chemia ogólna*, jak również byłam kierownikiem pracowni „*Chemia ogólna i analityczna w ochronie środowiska*” dla studentów I roku Ochrony Środowiska (BiNoZ UMK).

Obecnie jestem koordynatorem przedmiotu *Chemia ogólna* na kierunku Chemia Kosmetyczna (WCh UMK) i współkoordynatorem przedmiotu „*Właściwości i modyfikacja polimerów naturalnych, Properties and modification of natural Polymers*” na Wydziale Chemii.

Byłam opiekunem studentów I roku Chemii Kosmetycznej (WCh UMK) w roku akademickim 2015/16.

Do chwili obecnej byłam promotorem i opiekunem naukowym 20 prac magisterskich i licencjackich, a także recenzentem 13 prac magisterskich i licencjackich.

Obecnie jestem również promotorem pomocniczym doktorantki Darii Olkiewicz z Wydziału Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych UMK).

Działalność popularyzatorska naukę

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk chemicznych rozwinęłam działalność upowszechniającą i popularyzującą naukę. Promowałam naukę wśród dzieci w wieku przedszkolnym i szkolnym odwiedzających Wydział Chemii, z którymi prowadziłam zajęcia laboratoryjne. Ponadto pracowałam jako nauczyciel chemii w szkole podstawowej oraz szkole średniej Montessori w Toruniu. Dodatkowo prowadziłam zajęcia wspierające studentów biologii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, w formie laboratoryjnych zajęć wyrównawczych z Chemii w ramach projektu „Realizacja kształcenia zamawianego na kierunku Ochrona Środowiska z równoczesnym podniesieniem atrakcyjności kształcenia i wzmocnieniem praktycznych elementów kształcenia” (Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki (01.10.2010-28.11.2010).

Podnoszenie kwalifikacji

W ramach podnoszenia kwalifikacji ukończyłam szkolenie pt. METODY POMIAROWE A JAKOŚĆ WYNIKU ANALITYCZNEGO, oraz kurs „Dietetyka w kosmetologii” w ramach Narodowej Strategii Spójności Kapitał Ludzki. Odbyłam także szkolenie w ramach projektu „Przedsiębiorczość akademicka kierunek gospodarki jutra” organizowanego przez Fundację Amicus Universitas Nicolai Copernici w ramach programu Operacyjnego kapitał Ludzki.

Ponadto podnosiłam swoje umiejętności językowe uczestnicząc w kursach „Język angielski dla celów akademickich” organizowanych przez przez Studium Praktycznej Nauki Języków Obcych UMK.

Obecnie biorę udział w projekcie MODULE4NCU „Podniesienie kompetencji kadry dydaktycznej UMK w Toruniu w latach 2024-2026”, uczestniczę w następujących szkoleniach: *Kurs języka angielskiego-Mastering English, Microsoft Teams – nowości*, oraz *Zero waste w domu i w pracy*.

IX. PLANY NA NAJBLIŻSZĄ PRZYSZŁOŚĆ

Prezentowane biokompozyty wymagają dalszych badań w celu zastosowania ich na skalę przemysłową. W związku z tym w dalszych badaniach chciałabym skoncentrować się w szczególności na opracowywaniu systemów z inteligentnym i kontrolowanym uwalnianiem środków przeciwdrobnoustrojowych/przeciwutleniaczy, zgodnie z praktycznymi wymogami konserwacji żywności, osiągnięciu jedności strukturalnej tych materiałów w środowiskach o szczególnie wysokiej wilgotności (np. surowe

mięso). Kluczowe znaczenie będą miały również badania nad zwilżalnością i przyczepnością powłok do różnych powierzchni spożywczych, co jest priorytetowe dla zwiększenia ich skuteczności w konserwacji żywności.

Będę kontynuować współpracę z Prof. Silvia Vicini (Genua, Włochy), a wspólne badania będą skupiały się wokół zastosowania elektrospinningu do pozyskania kompozytów biopolimerowych celulozowych, skrobiowo-chitozanowych oraz nanoskrobiowych o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych do zastosowań w przemyśle spożywczym opakowaniowym.

Rozpoczęłam również współpracę z Dr. Amel HAMMA z Uniwersytetu Bordj Bou Arreridj w Algierii, w ramach badań nad zieloną syntezą nanocząstek do zastosowań w przemyśle spożywczym.

Dagmara Bayer

LITERATURA:

1. Fonseca-García, A., Jimenez-Regalado, E. J., Aguirre-Loredo, R. Y. Preparation of a novel biodegradable packaging film based on corn starch-chitosan and poloxamers. *Carbohydr. Polym.*, 2021, 251, 117009. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117009>.
2. S.P. Bangar, S.P., Whiteside, W.S. Nano-cellulose reinforced starch bio composite films – A review on green composites. *Int. J. Biol. Macromol*, 2021, 85, 849-860, 10.1016/j.ijbiomac.2021.07.017.
3. Ribeiro-Santos, R., Andrade, M., Ramos de Melo, N., Sanches-Silva A. Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. *Trends Food Sci Technol.*, 2017, 61,132-140, <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2016.11.021>
4. Medina-Jaramillo, C., Ochoa-Yepes, O., Bernal, C., Fama, L. Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts. *Carbohydr. Polym.*, 2017, 176, 187–194.
5. Perazzo, K.K.N.C.L., de Vasconcelos, A.C.C., dos Santos, JCP, de Jesus AD, Souza CO, Druzian JI. Properties and antioxidant action of cassava starch films incorporated with green tea and palm oil extracts. *PLoS ONE*, 2014, 9, 9, 105199. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105199>.
6. Chan, B.P. Biomedical Applications of Photochemistry. *Tissue Eng. Part B Rev.*, 2010, 16, 5, 509-22.
7. Mena-Giraldo, P., Pérez-Buitrago, S., Londoño-Berrío, M., Ortiz-Trujillo, I., Hoyos-Palacio, L., Orozco, J. Photosensitive nanocarriers for specific delivery of cargo into cells. *Sci. Rep.*, 2020, 10, 2110.
8. Akiba, U., Minaki, D., Anzai, J.-I. Photosensitive Layer-by-Layer Assemblies Containing Azobenzene Groups: Synthesis and Biomedical Applications. *Polymers*, 2017, 9, 553.
9. Lan, M., Zhao, S., Liu, W., Lee, C., Zhang, W., Wang, P. Photosensitizers for Photodynamic Therapy. *Adv. Healthc. Mater.*, 2019, 8(13):e1900132.
10. Xiong, R., Luan, J., Kang, S., Ye, C. Singamaneni, S., Tsukruk, V. Biopolymeric photonic structures: design, fabrication, and emerging applications. *Chem. Soc. Rev.*, 2020, 49, 983-1031.
11. Chełminiak-Dudkiewicz, D., Ziegler-Borowska, M., Stolarska, M., Sobotta, L., Falkowski, M., Mielcarek, J., Goslinski, T., Kowalonek, J., Węgrzynowska-Drzymalska, K., Kaczmarek, H. The chitosan—Porphyrine hybrid materials and their photochemical properties. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, 2018, 181, 1–13.
12. Pandya, A.D., Øverbye, A., Sahariah, P., Gaware, V.S., Høgset, H., Masson, M., Høgset, A., Mælandsmo, G.M., Skotland, T., Sandvig, K., et al. Drug-Loaded Photosensitizer-Chitosan Nanoparticles for Combinatorial Chemo-and Photodynamic-Therapy of Cancer. *Biomacromolecules*, 2020, 21, 1489–1498.
13. Rinaudo, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Prog. Polym. Sci.*, 2006, 31, 603–670.
14. Cunha-Reis, C., El Haj, A.J., Yang, X., Yang, Y. Fluorescent labelling of chitosan for use in non-invasive monitoring of degradation in tissue engineering. *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, 2013, 7, 39–50.
15. Ahmad, M., Gani, A., Hassan, I., Huang, Q., Shabbir, H. Production and characterisation of starch nanoparticles by mild alkali hydrolysis and ultrasonication process. *Scientific Reports*, 2020, 10, Article 3533. 10.1038/s41598-020-60380-0.
16. Xiong, S., Duan, L., Cheng, X. A novel coumarin-chitosan fluorescent hydrogel for the selective identification of Fe²⁺ in aqueous systems. *Polym. Chem.* 2020, 11, 6066–6072.
17. Li, C., Marin, L., Cheng, X. Chitosan-based macromolecular probes for the selective detection and removal of Fe³⁺ ions. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2021, 186, 303–313.
18. Bayer, R. K., Cagiao, M. E., Balta Calleja, F. J. Structure development in amorphous starch as revealed by X-ray scattering: influence of the network structure and water content. *Journal of Applied Polymer Science*, 2006, 99, 1880–1886.

19. Kodirikhonov, M. Obtaining the Fluorescent Chitosan for Investigations in the Analytical Ultracentrifuge. *Adv. Biol. Chem.*, 2019, 9, 23–30.
20. Zawadzki, J., Kaczmarek, H. Thermal treatment of chitosan in various conditions. *Carbohydr. Polym.* 2010, 80, 395–401.
21. Sionkowska, A. Effects of solar radiation on collagen and chitosan films. *J Photochem Photobiol B: Biology*, 2006, 82, 9-15.
22. Andrady, A. L., Torikai, A., Kobatake, T. Spectral Sensitivity of Chitosan Photodegradation. *J Appl Polym Sci*, 1996, 62, 1465-1471.
23. Wang, S.-M., Huang, Q.-Z, Wang, Q.-S. Study of synergetic degradation of chitosan with ultraviolet light and hydrogen peroxide. *Carbohydr. Res.*, 2005, 340, 1143-1147.
24. Torres-Giner, S., Wilkanowicz, S., Melendez-Rodriguez, B., Lagaron, JM. Nanoencapsulation of Aloe vera in Synthetic and naturally occurring polymers by Electrohydrodynamic processing of interest in food technology and bioactive packaging. *J Agr Food Chem.*, 2017, 65, 4439–4448.
25. Ma, X. F., Yu, J. G., Wan, J. J. Urea and ethanolamine as a mixed plasticiser for thermoplastic starch, *Carbohydr. Polym.*, 2006, 64(2), 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.11.042>
26. Zuo, Y., Liu, W., Xiao, J., Zhao, X., Zhu, Y., Wu, Y. Preparation and characterisation of dialdehyde starch by one-step acid hydrolysis and oxidation. *Int. J. Biol. Macromol*, 2017, 103, 1257–1264.
27. Veelaert, S., Polling, M., De Wit, D. Structural and Physicochemical Changes of Potato Starch Along Periodate Oxidation. *Starch/Starke*, 1995, 47(7), 263–268. <https://doi.org/10.1002/star.19950470706>
28. Flores-Morales, A., Jiménez-Estrada, M., Mora-Escobedo, R. Determination of the structural changes by FT-IR, Raman, and CP/MAS 13C NMR spectroscopy on retrograded starch of maize tortillas. *Carbohydr. Polym.*, 2012, 87 (1) 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.07.011>.
29. Phillips, D.L., Xing, J., Chong, C.K., Liu, H., Corke, H. Determination of the Degree of Succinylation in Diverse Modified Starches by Raman Spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, 48, 5105–5108.
30. Romani, D., Brandán, S.A. Spectroscopic Studies and Vibrational Analysis of Quinic Acid by Using DFT Calculations and the SQM Approach. *IJSRM Hum.*, 2018, 11, 25–56.
31. Ispas-Szabo, P., Ravenelle, F., Hassan, I., Preda, M., Mateescu, M. A. Structure-properties relationship in cross-linked high-amylose starch for use in controlled drug release. *Carbohydr. Res.*, 2000, 323, 163–175.
32. Zhang, L., Zhang, S., Dong, F., Cai, W., Shan, J., Zhang, X., Man, S. Antioxidant Activity and in Vitro Digestibility of Dialdehyde Starches as Influenced by Their Physical and Structural Properties. *Food Chem.*, 2014, 149, 296–301.
33. Hu, X., Yuan, L., Han, L., Li, S., Song, L. Characterisation of antioxidant and antibacterial gelatin films incorporated with Ginkgo biloba extract. *RSC Adv.*, 2019, 9, 27449–27454.
34. Mondal, K., Bhattacharjee, S.K., Mudenur, C., Ghosh, T., Goud, V.V., Katiyar, V. Development of antioxidant-rich edible active films and coatings incorporated with deoiled ethanolic green algae extract: A candidate for prolonging the shelf life of fresh produce. *RSC Adv.*, 2022, 12, 13295–13313.
35. Schreiber, S.B., Bozell, J.J., Hayes, D.G., Zivanovic, S. Introduction of primary antioxidant activity to chitosan for application as a multifunctional food packaging material. *Food Hydrocoll.*, 2013, 33, 207–214.
36. Zhang, S., Liu, F., Peang, H., Wang, Y. An Investigation of the Effect of Semi-Acetal Formation on the Properties of Dialdehyde Starch and Its Thermoplastic Blend with Glycerol. *J. Macromol. Sci. Part B*, 2015, 54, 836–850.
37. Cucinelli Neto, R.P., Da Rocha Rodrigues, E.J., Bruno Tavares, M.I. Proton NMR Relaxometry as Probe of Gelatinisation, Plasticisation and Montmorillonite-Loading Effects on Starch-Based Materials. *Carbohydr. Polym.* 2018, 182, 123–131.

38. Azevedo, H. S., Gama, F. M., & Reis, R. L. In vitro assessment of the enzymatic degradation of several starch-based biomaterials. *Biomacromolecules*, 2003, 4(6), 1703–1712.
39. Ablouh, E.-H., Brouillette, F., Taourirte, M., Sehaqui, H., El Achaby, M., Belfkirac, A. A highly efficient chemical approach to producing green phosphorylated cellulosic macromolecules. *RSC Adv.*, 2021, 11, 24206–24216, <https://doi.org/10.1039/D1RA02713A>;
40. Polnaya, F.J., Nur Cahyanto, M., Mada, D.W. Effect of phosphorylation and cross-linking on the pasting properties and molecular structure of sago starch. *Int. Food Res. J.*, 2013, 20 (4) 1609–1615.
41. Passauer, L., Liebner, F., Fischer, K. Starch phosphate hydrogels. Part I: synthesis by mono-phosphorylation and cross-linking of starch. *Starch/Stärke*, 2009, 61, 621–627, <https://doi.org/10.1002/star.200900168>.
42. Wang, S., Li, T., Wang, S., Copeland, L. Effects of hydrothermal-alkali and freezing-thawing pre-treatments on modification of corn starch with octenyl succinic anhydride. *Carbohydr. Polym.*, 2017, 175, 361–369.
43. Passauer, L., Bender, H., Fischer, S. Synthesis and characterisation of starch phosphates. *Carbohydr. Polym.*, 2010, 82 (3) 809–814, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.05.050>.
44. Mutungi, Ch., Passauer, L., Onyango, C., Jaros, D., Rohm, H. Debranched cassava starch crystallinity determination by Raman spectroscopy: correlation of features in Raman spectra with X-ray diffraction and ¹³C CP/MAS NMR spectroscopy. *Carbohydr. Polym.*, 2012, 87 (1), 598–606, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.08.032>.
45. Kapelko-Zeberska, M., Buksa, K., Szumny, A., Zięba, T., Gryszkin, A. Analysis of molecular structure of starch citrate obtained by a well-established method. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2016, 69, 334–341, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.066>.
46. Saber-Samandari, S., Yilmaz, O., Yilmaz, E. Photoinduced graft copolymerisation onto chitosan under heterogeneous conditions. *J. Macromol. Sci. A*, 2012, 49 (7), 591–598, <https://doi.org/10.1080/10601325.2012.687970>.
47. Omran, A., Abbatiello, J., Feng, T., Pasek, M.A. Oxidative phosphorus chemistry perturbed by minerals. *Life*, 2022, 12 (2) 198, <https://doi.org/10.3390/life12020198>.
48. Corazzari, I., Nisticò, R., Turci, F., Faga, M.G., Franzoso, F., Tabasso, S., Magnacca, G. Advanced physico-chemical characterisation of chitosan by means of TGA coupled on-line with FTIR and GCMS: thermal degradation and water adsorption capacity. *Polym. Degrad. Stab.*, 2015, 112, 1–9, <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstabo.2014.12.006>.
49. Zeng, L., Qin, C., Wang, L., Li, W. Volatile compounds formed from the pyrolysis of chitosan. *Carbohydr. Polym.*, 2011, 83 (4), 1553–1557, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.10.007>.
50. Hou, R., Zhao, B., Xia, Y., Li, D. Organic Fluorescent Compounds that Display Efficient Aggregation-Induced Emission Enhancement and Intramolecular Charge Transfer. *Molecules*, 2018, 23, 1446.
51. Gonçalves, M.S.T. Fluorescent Labelling of Biomolecules with Organic Probes. *Chem. Rev.* 2008, 109, 190–212.
52. Hu, Z.Q., Li, M., Liu, M.D., Zhuang, W.M., Li, G.K. A highly sensitive fluorescent acidic pH probe based on rhodamine B diethyl-2-aminobutenedioate conjugate and its application in living cells. *Dyes Pigm.*, 2013, 96, 71–75.
53. Zhu, S.L., Zhang, J.T., Janjanam, J., Bi, J.H., Vegesna, G., Tiwari, A., Luo, F.T., Wei, J.J., Liu, H.Y. Highly water-soluble, near infrared emissive BODIPY polymeric dye bearing RGD peptide residues for cancer imaging. *Anal. Chim. Acta*, 2013, 758, 138–144.
54. Woo, Y., Chaurasiya, S., O’Leary, M., Han, E., Fong, Y. Fluorescent imaging for cancer therapy and cancer gene therapy. *Mol. Ther. Oncolytics*, 2021, 23, 231–238.
55. Lifson, M.A., Ozen, M.O., Inci, F., Wang, S.Q., Inan, H., Baday, M., Henrich, T.J., Demirci, U. Advances in biosensing strategies for HIV detection, diagnosis, and therapeutic monitoring. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2016, 103, 90–104.
56. Putlyaeva, L.V., Lukyanov, K.A. Studying SARS-CoV-2 with Fluorescence Microscopy. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, 22, 6558.

57. Hai, T.A.P.; Sugimoto, R. Fluorescence control of chitin and chitosan fabricated via surface functionalisation using direct oxidative polymerisation. *RSC Adv.*, 2018, 8, 7005–7013.
58. Marpu, S.B., Benton, E.N. Shining Light on Chitosan: A Review on the Usage of Chitosan for Photonics and Nanomaterials Research. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, 19, 1795.
59. Kaczmarek, H., Tafelska-Kaczmarek, A., Roszek, K., Czarnecka, J., Jędrzejewska, B., Zblewska, K. Fluorescent Chitosan Modified with Heterocyclic Aromatic Dyes. *Materials*, 2021, 14, 6429.
60. Kaczmarek, H., Zawadzki, J. Chitosan pyrolysis and adsorption properties of chitosan and its carbonizate. *Carbohydr. Res.*, 2010, 345, 941–947.
61. Corazzari, I., Nisticò, R., Turci, F., Faga, M.G., Franzoso, F., Tabasso, S., Magnacca, G. Advanced physico-chemical characterisation of chitosan by means of TGA coupled on-line with FTIR and GCMS: Thermal degradation and water adsorption capacity. *Polym. Degrad. Stab.*, 2015, 112, 1–9.
62. Barbosa, H.F.G., Francisco, D.S., Ferreira, A.P.G., Cavalheiro, É.T.G. A new look towards the thermal decomposition of chitins and chitosans with different degrees of deacetylation by coupled TG-FTIR. *Carbohydr. Polym.*, 2019, 225, 115232.
63. Bussiere, P.-O., Gardette, J.-L., Rapp, G., Masson, C., Therias, S. New insights into the mechanism of photodegradation of chitosan. *Carbohydr. Polym.*, 2021, 259, 117715.
64. Bussière, P.O., Rivaton, A., Sandrine Thérias, S., Gardette, J.-L. Multiscale Investigation of the Poly(N-vinylcarbazole) Photoageing Mechanism. *J. Phys. Chem. B*, 2012, 116, 802–812.
65. Schulz, A., Hornig, S., Liebert, T., Birkner, E., Heinze, T., Mohr, G.J. Evaluation of fluorescent polysaccharide nanoparticles for pH-sensing. *Org. Biomol. Chem.* 2009, 7 (9), 1884, <https://doi.org/10.1039/b900260j>
66. National Centre for Biotechnology Information, PubChem compound summary for CID 16850, Fluorescein (2024). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fluorescein>. Retrieved 2 August 2024.
67. National Centre for Biotechnology Information, PubChem compound summary for CID 89594, Nicotine (2024). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nicotine>. Retrieved 2 August 2024.
68. National Centre for Biotechnology Information, PubChem compound summary for CID 5280795, Cholecalciferol (2024). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cholecalciferol>. Retrieved 2 August 2024.
69. Guan, X., Su, Z. Synthesis and characterisation of fluorescent starch using fluorescein as fluorophore: potential polymeric temperature/pH indicators. *Polym. Adv. Technol.*, 2008, 19(5), 385–392, <https://doi.org/10.1002/pat.1021>.
70. Wang, Y., Pitto-Barry, A., Habtemariam, A., Romero-Canelon, I., Sadler, P.J., Barry, N.P.E. Nanoparticles of chitosan conjugated to organo-ruthenium complexes. *Inorg. Chem. Front.*, 2016, 3(8) 1058–1064, <https://doi.org/10.1039/c6qi00115g>.
71. Flores-Morales, A., Jiménez-Estrada, M., Mora-Escobedo, R. Determination of the structural changes by FT-IR, Raman, and CP/MAS 13C NMR spectroscopy on retrograded starch of maize tortillas. *Carbohydr. Polym.* 2012, 87 (1) 61–68, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.07.011>.
72. Shuzhen, N., Liang, J., Hui, Z. Yongchao, Z., Guigan, F., Huining, X., Hongqi, D. Enhancing hydrophobicity, strength and UV shielding capacity of starch film via novel co-cross-linking in neutral conditions. *R. Soc. Open. Sci.*, 2018, 5 (11) 181206, <https://doi.org/10.1098/rsos.181206>.
73. Van Soest, J. J. G., Tournois, H., de Wit, D., Vliegthart, J. F. G. Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. *Carbohydr. Res.*, 1995, 279, 201–214. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(95\)00270-7](https://doi.org/10.1016/0008-6215(95)00270-7).

74. Minakawa, A., Faria-Tischer, P., Mali, S. Simple ultrasound method to obtain starch micro- and nanoparticles from cassava, corn and yam starches. *Food Chem.*, 2019, 283, 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.015>.
75. Le Corre, D., Bras, J., Dufresne, A. Influence of native starch's properties on starch nanocrystals thermal properties. *Carbohydr. Polym.*, 2012, 87(1), 658–666. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.08.042>.