# Spis treści

INDEKS STOSOWANYCH AKRONIMÓW ..... 6
STRESZCZENIE ..... 8
CZĘŚĆ TEORETYCZNA ..... 10
1 Wprowadzenie ..... 10
2 Właściwości folii z naturalnych polimerów ..... 11
2.1 Folie białkowe ..... 11
2.1.1 Folie z kolagenu ..... 11
2.1.2 Folie z żelatyny ..... 12
2.1.3 Folie z kazein ..... 14
2.1.4 Folie z izolatów białek soi ..... 15
2.2 Folie polisacharydowe ..... 15
2.2.1 Folie ze skrobi ..... 15
2.2.2 Folie z chitozanu ..... 16
2.2.3 Folie z pektyn ..... 17
3 Modyfikacje folii z naturalnych polimerów ..... 18
3.1 Modyfikacje fizyczne ..... 18
3.1.1 Promieniowanie γ ..... 18
3.1.2 Promieniowanie UV ..... 19
3.1.3 Denaturacja cieplna ..... 19
3.2 Modyfikacje chemiczne ..... 20
3.2.1 Plastyfikacja ..... 20
3.2.2 Sieciowanie chemiczne ..... 21
3.2.3 Nanonapełniacze ..... 26
3.3 Modyfikacje enzymatyczne ..... 32
3.3.1 Transglutaminaza ..... 32
3.3.2 Lakkaza ..... 34
3.3.3 Tyrozynaza ..... 34
4 Podsumowanie ..... 35
CZĘŚĆ EKSPERYMANTALNA ..... 36
5 Cel, zakres i uzasadnienie pracy ..... 36
6 Materiały i Metody ..... 38
6.1 Materiały ..... 38

6.2 Aparatura ... 40
6.3 Postępowanie doświadczalne ... 41
6.3.1 Przygotowanie roztworów i mieszanin do formowania folii ... 41
6.3.2 Formowanie folii ... 44
6.3.3 Określenie właściwości mechanicznych folii ... 44
6.3.4 Określenie właściwości barierowych folii ... 44
6.3.5 Określenie właściwości fizykochemicznych folii ... 45
6.3.6 Określenie właściwości przeciwutleniających folii ... 46
6.3.7 Określenie właściwości przeciwdrobnoustrojowych folii ... 48
6.3.8 Opracowanie statystyczne wyników ... 49
7 Wyniki ... 50
7.1 Folie jednoskładnikowe ... 50
7.1.1 Właściwości mechaniczne ... 50
7.1.2 Właściwości barierowe ... 51
7.1.3 Rozpuszczalność ... 52
7.1.4 Analiza widm FT-IR ... 53
7.1.5 Właściwości termiczne folii (TGA i DSC) ... 58
7.1.6 Podsumowanie ... 62
7.2 Folie skrobiowo-żelatynowe ... 63
7.2.1 Właściwości mechaniczne ... 63
7.2.2 Właściwości barierowe ... 64
7.2.3 Rozpuszczalność ... 65
7.2.4 Analiza widm FT-IR ... 66
7.2.5 Właściwości termiczne folii (DSC) ... 71
7.2.6 Podsumowanie ... 72
7.3 Folie skrobiowo-chitozanowe ... 73
7.3.1 Właściwości mechaniczne ... 73
7.3.2 Właściwości barierowe ... 75
7.3.3 Rozpuszczalność ... 76
7.3.4 Analiza widm FT-IR ... 77
7.3.5 Właściwości termiczne folii (DSC) ... 82
7.3.6 Podsumowanie ... 84
7.4 Folie nanokompozytowe ... 85
7.4.1 Nanokompozyty żelatynowe ... 85

7.4.2 Nanokompozyty skrobiowe ... 100
7.4.3 Nanokompozyty chitozanowe ... 110
7.5 Folie z ekstraktami roślinnymi ... 116
7.5.1 Właściwości mechaniczne ... 116
7.5.2 Właściwości barierowe ... 118
7.5.3 Rozpuszczalność ... 120
7.5.4 Analizy widm FT-IR ... 120
7.5.5 Właściwości termiczne folii (TGA) ... 123
7.5.6 Właściwości termiczne (DSC) ... 126
7.5.7 Podsumowanie ... 129
7.6 Właściwości przeciwutleniające folii ... 129
7.7 Właściwości przeciwdrobnoustrojowe folii. ... 133
8 Wnioski ... 137
PIŚMIENNICTWO ... 138
DOROBEK NAUKOWY ... 151

## INDEKS STOSOWANYCH AKRONIMÓW

| | |
|---|---|
| ABTS | 2,2-azynobis(3-etylobenzotilino-6-sulfonian) |
| CEC | pojemność wymiany kationowej (ang. *Cation Exchange Capacity*) |
| DPPH | 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl |
| DSC | skaningowa kalorymetria różnicowa |
| F-C | odczynnik Folina-Ciocalteu'a |
| FT-IR | spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (ang. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy)* |
| GTE | ekstrakt zielonej herbaty (ang. *Green Tea Extract*) |
| MMT | montmorylonit |
| MMT-$Na^+$ | montmorylonit sodu |
| PA6 | poliamid 6 |
| PEG | glikol polietylenowy |
| pI | punkt izoelektryczny |
| POM | polioksymetylen |
| PP | polipropylen |
| PPG | glikol polipropylenowy |
| PVP | poliwinylopirolidon |
| R | rozpuszczalność |
| RH | wilgotność względna |
| RFT | reaktywne formy tlenu |
| SD | stopień deacetylacji |
| $S_{Si(kwas)}$ | skrobia modyfikowana kwasem metakrzemowym |
| $S_{Si(sól)}$ | skrobia modyfikowana metakrzemianem sodu |
| $S_{zn}$ | skrobia modyfikowana tetrahydroksocynkanem(II) sodu |
| $T_c$ | temperatura krystalizacji |
| $T_g$ | temperatura zeszklenia |
| $T_m$ | temperatura topnienia |
| TEM | transmisyjny mikroskop elektronowy |
| TGA | analiza termograwimetryczna |
| WVP | przepuszczalność pary wodnej |
| X-ray | rentgenowska analiza dyfrakcyjna |

| | |
|---|---|
| $\Delta H_m$ | entalpia topnienia |
| $\Delta H_c$ | entalpia krystalizacji |
| $\sigma$ | naprężenie przy zerwaniu |
| $\varepsilon$ | wydłużenie względne przy zerwaniu |

# STRESZCZENIE

Głównym celem pracy było wytworzenie z naturalnych polimerów materiałów opakowaniowych do żywności o dobrych właściwościach mechanicznych oraz barierowych wobec pary wodnej poprzez odpowiedni dobór składników tworzących matrycę polimerową (łączenie kilku polimerów ze sobą, modyfikację różnymi związkami chemicznymi) lub włączenie do niej dodatkowych substancji modyfikujących (warstwowych nanonapełniaczy z rodziny 1:2 filokrzemianów lub związków polifenoli ekstrahowanych z wytłoków owoców). Jednocześnie starano się uzyskać opakowania aktywne o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych i przeciwutleniających.

Połączenie skrobi z żelatyną w stosunku 1:1 i 1:2 poprawiło wytrzymałość mechaniczną folii dwuskładnikowych w porównaniu z jednoskładnikową folią żelatynową i skrobiową, a także nadało większą stabilnością termiczną w przypadku połączenia 1:1. Łączenie natywnej skrobi z chitozanem wraz ze wzrostem zawartośc skrobi w folii, obniżyło wytrzymałość mechaniczną w stosunku do folii chitozanowej i nie wpłynęło na poprawę barierowości otrzymanych folii.

Dodanie skrobi chemicznie modyfikowanej do żelatyny obniżyło wytrzymałość mechaniczną folii, poprawiło jej barierowość w stosunku do pary wodnej oraz nie wpłynęło na jej temostabilność. Natomiast dodatnie skrobi modyfikowanej do chitozanu znacząco ograniczyło rozpuszczalność otrzymanych folii oraz obniżyło ich wytrzymałość mechaniczną.

Folie żelatynowe modyfikowane zarówno hydrofilowymi, jak i hydrofobowymi nanonapełniaczami wykazywały dobre właściwości barierowe. W przypadku folii skrobiowych zastosowanie tylko hydrofilowego nanonapełniacza Nanomer®PGV poprawiło wytrzymałość mechaniczną folii. Natomiast modyfikacja tych folii zarówno hydrofilowymi, jak i hydrofobowymi nanonapełniaczami nie polepszyła barierowości otrzymanych materiałów, a w niektórych wariantach wywołała nawet zwiększenie WVP. Dodatek hydrofobowych nanonapełniaczy powodował obniżenie wytrzymałości mechanicznej folii chitozanowych, natomiast zastosowanie hydrofilowych nanonapełniaczy nie pozwoliło uzyskać jednoznacznych wyników. Obecność nanonapełniaczy w foliach chitozanowych nie wpłynęła również na poprawę rozpuszczalności i właściwości barierowych folii, natomiast w przypadku folii żelatynowych i skrobiowych z dodatkiem nanonapełniaczy o charakterze hydrofilowym były one mniej rozpuszczalne w wodzie niż te z dodatkiem nanonapełniaczy hydrofobowych, na co mogła wpłynąć lepsza kompatybilność hydrofilowego nanonapełniacza z polimerem. Dodatek zarówno hydrofobowych, jak i

hydrofilowych nanonapełniaczy do folii żelatynowych i skrobiowych spowodował na otrzymanie folii o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych.

Modyfikacja wodnymi ekstraktami z wytłoków owocowych z reguły polepszyła właściwości mechaniczne folii żelatynowej i chitozanowej, natomiast nie wpłynęła na właściwości folii skrobiowej. Dodatek wodnych ekstraktów z wytłoków owocowych ograniczył rozpuszczalność oraz zwiększył aktywność przeciwutleniającą folii skrobiowych i chitozanowych, natomiast folie żelatynowe wykazywaly aktywność przeciwutleniającą już bez dodatku ekstraktu. Zastosowane ekstrakty nadały również właściwości przeciwdrobnoustrojowe foliom skrobiowym wobec bakterii gramdodatnich i gramujemnych. Żaden z wodnych ekstraktów z wytłoków owocowych nie wpłynął na wzrost stabilności termicznej folii żelatynowych i skrobiowych, a także nie polepszył właściwości barierowych.

# CZĘŚĆ TEORETYCZNA

## 1 Wprowadzenie

Opakowanie stanowi element zintegrowany z produktem, zabezpiecza jego wartość użytkową, promuje wyrób, a także umożliwia jego identyfikację. Ponad połowa opakowań produkowanych na świecie wykorzystywana jest w branżach związanych z przemysłem żywnościowym. Materiałami opakowaniowymi najczęściej są: papier i karton, tworzywa sztuczne, metal, drewno i szkło. Dziś opakowanie powinno spełniać nie tylko funkcje ochronne, informacyjne czy marketingowe, ale również szereg innych, które zwiększają atrakcyjność i trwałość produktu żywnościowego.

Tworzywa sztuczne, zaraz po opakowaniach papierowych, są drugim co do częstości stosowania materiałem opakowaniowym na świecie. Ze względu na dużą ilość odpadów zalegających na wysypiskach śmieci Parlament Europejski i Rada Unii Europejskiej ustanowili w grudniu 1994 r. Dyrektywę 94/62/EC regulującą gospodarkę odpadami w krajach Unii Europejskiej. Wymieniona regulacja prawna opiera się na koncepcji dyrektyw „nowego podejścia", których zadaniem jest dbanie o to, aby w obrocie znajdowały się produkty bezpieczne dla zdrowia, życia i środowiska. Wprowadziła ona dla wszystkich rodzajów opakowań wymagania związane z produkcją i składem surowcowym, przydatnością do ich wielokrotnego użytkowania oraz recyklingu. Niestety recykling opakowań z tworzyw sztucznych wiąże się z problemami technicznymi i ekonomicznymi, a ich spalanie bez odzysku energii przyczynia się do zanieczyszczenia środowiska. Dlatego wciąż prowadzi się badania nad wykorzystaniem biodegradowalnych polimerów do wytwarzania przyjaznych dla środowiska opakowań.

W zależności od źródła pochodzenia Averous i Boqullon (2004) podzieli biopolimery na pochodzące z biomasy (skrobia, ligninoceluloza, pektyny, chitozan i gumy), białka pochodzenia zwierzęcego (kazeina, serwatka, żelatyna) oraz roślinnego (gluten, białka soi), polimery pochodzenia mikrobiologicznego (polihydroksykwasy) oraz polimery pochodzenia biotechnologicznego (kwas polimlekowy), polimery otrzymywane z surowców petrochemicznych (polikaprolaktony, poliestroamidy, alifatyczne kopoliestry oraz aromatyczne kopolimery). Biopolimerami stosowanymi do wytwarzania materiałów opakowaniowych mogą być białka oraz polisacharydy otrzymywane z surowców odnawialnych oraz produktów odpadowych przemysłu żywnościowego. Posiadają one dobre właściwości foliotwórcze oraz zdolność do rozkładu. Ponadto, mogą być nośnikiem substancji aktywnych wpływających korzystnie na procesy przechowalnicze zapakowanych produktów. Opakowania do żywności powinny wykazywać

jednakże odpowiednią wytrzymałość mechaniczną, barierowość dla gazów i wody oraz ograniczoną rozpuszczalność w kontakcie z wilgotnymi produktami.

# 2 Właściwości folii z naturalnych polimerów

## 2.1 Folie białkowe

### 2.1.1 Folie z kolagenu

Kolagen jest to białko występujące głównie w tkance łącznej zwierząt różnego pochodzenia, zarówno kręgowców, jak i bezkręgowców. Charakterystyczną, trójwymiarową strukturę białka tworzy prawoskrętna potrójna helisa, zbudowana z trzech lewoskrętnych łańcuchów polipeptydowych. Jej długość wynosi około 300 nm, natomiast masa pojedynczego łańcucha stanowi około $10^5$ kDa. Zidentyfikowano i sklasyfikowano około 27 różnych typów kolagenu, z których najczęściej występują trzy (Tabela 1). Różnią się one między sobą masą cząsteczkową i długością łańcuchów, składem i sekwencją aminokwasową oraz strukturą przestrzenną, przez co wykazują różne właściwości fizyczne i chemiczne (Sadowska, 1992; Nagai i Suzuki, 1999; Schrieber i Gareis, 2007).

Tabela 1. Występowanie głównych typów kolagenu według Schrieber i Gareis (2007).

| Typ kolagenu | **Występowanie** |
|---|---|
| Typ I | Tkanka łączna skóry i ścięgien, a także w kościach |
| Typ II | Tkanka chrzęstna |
| Typ III | Skóra (jego zawartość jest uzależniona od wieku: w młodej skórze występuje do 50%, w miarę starzenia się organizmu jego ilość zmniejsza się do 5-10%) |
| Pozostałe | Śladowe ilości, w specyficznych narządach. |

Niezależnie od źródła pochodzenia w strukturze kolagenu powtarza się sekwencja Gly-X-Y, w której X i Y najczęściej odpowiadają odpowiednio prolinie i hydroksyprolinie. Aminokwasy te stabilizują prawoskrętną potrójną helisę poprzez tworzenie wiązań wodorowych pomiędzy poszczególnymi łańcuchami. Kolagen ryb zawiera mniejsze ilości proliny i hydroksyproliny w porównaniu z kolagenem ssaków, dlatego jego struktura jest mniej stabilna. Charakteryzuje się też niższym stopniem usieciowania wewnątrz- i międzycząsteczkowymi wiązaniami kowalencyjnymi. Mniejsza liczba wiązań wodorowych i kowalencyjnych wpływa na obniżenie

temperatury denaturacji kolagenu z ryb w stosunku do kolagenu ssaczego (Gómez-Gullien i in., 2005; Montero i in., 1990).

Helikalna struktura oraz oddziaływania międzyłańcuchowe i międzycząsteczkowe w budowie polimeru wpływają na dobre właściwości mechaniczne wytworzonych folii kolagenowych, przy czym z kolagenu ssaczego są one lepsze niż z rybiego (Krochta i De Mulder-Johnson, 1997; Yamauchi i in., 2000; Perez i Desorby, 2002). Ze względu na hydrofilową naturę, folie kolagenowe posiadają bardzo dobre właściwości barierowe w stosunku do tlenu w warunkach niskiej wilgotności względnej. Jednakże, w miarę jej wzrostu następuje ich pogorszenie (Krochta i De Mulder-Johnson, 1997; Perez i Desorby, 2002).

Odpowiednio zmodyfikowane poprzez sieciowanie folie kolagenowe znalazły zastosowanie jako osłonki, które umieszcza się na produktach mięsnych do wędzenia lub w celu ochrony ich podczas gotowania przed wniknięciem w głąb wyrobu elastycznej siatki. Po zakończeniu obróbki termicznej siatkę usuwa się, natomiast folia kolagenowa może być spożyta wraz z produktem. Materiały kolagenowe używane są również do pokrywania steków wołowych, które są następnie umieszczane na tackach polistyrenowych przykrywanych folią z polichlorku winylu. Obecność folii kolagenowych zapobiega „poceniu" tak opakowanego mięsa, sprzyja zachowaniu barwy i zapobiega utlenianiu lipidów. Folie na bazie kolagenu zapobiegają, podobnie jak materiały z tworzyw sztucznych, niekorzystnym zmianom jakościowym na powierzchni przechowywanej zamrażalniczo wołowiny, a ponadto rozpuszczają się podczas obróbki termicznej mięsa, co pozwala zredukować nadmiar opakowań (Krochta i De Mulder-Johnston, 1997).

Naprężenie przy zerwaniu folii z kolagenu mieści się w zakresie 12 do 50 MPa, natomiast wydłużenie względne przy zerwaniu od 0,2 do 15% w zależności od źródła tego białka, sposobu izolacji oraz warunków suszenia (Angele i in., 2004; Tylingo, 2006). Yamauchi i in. (2000) wykazali, iż w wyniku wzrostu temperatury suszenia folii z kolagenu cielęcego z 25 do 50°C wybrane właściwości mechaniczne folii uległy pogorszeniu - $\sigma$ obniżyło się z 50 do 8 MPa, natomiast $\varepsilon$ z 10 do 2%.

### 2.1.2 **Folie z żelatyny**

Żelatyna nie występuje w naturze, lecz otrzymywana jest na drodze chemiczno-termicznej obróbki kolagenu. W zależności od sposobu wstępnego traktowania surowca kolagenowego otrzymuje się dwa typy żelatyny wykazujące odmienne właściwości: żelatynę A (obróbka kwaśna), o punkcie izoelektrycznym w zakresie pH 6-9 oraz żelatynę B (obróbka alkaliczna), o punkcie izoelektrycznym w pH ok. 5 (Karim i Bhat, 2009). Żelatynę od lat

wykorzystuje się w wielu gałęziach przemysłu, głównie spożywczego, fotograficznego i farmaceutycznego. W ostatnich latach, ze względu na bardzo dobre właściwości foliotwórcze, prowadzone są badania nad jej wykorzystaniem do produkcji jadalnych folii opakowaniowych.

Głównym źródłem żelatyny otrzymywanej na skalę przemysłową są surowce łącznotkankowe zwierząt stałocieplnych. Niestety w ostatnich latach konsumenci coraz bardziej sceptycznie podchodzą do konsumpcji produktów zawierających żelatynę z tego źródła. Główną przyczyną są przekonania religijne oraz możliwość zachorowania na choroby wywołane przez priony. Dlatego rozpoczęto badania nad pozyskaniem i wykorzystaniem żelatyny ze zwierząt zmiennocieplnych – głównie ze skór ryb (Góméz-Guillén i in., 2005; Jongjareonrak i in., 2006a, Kołodziejska i in., 2008). Jej właściwości fizykochemiczne różnią się w zależności od gatunku i środowiska życia ryb. Żelatyna z ryb ciepłolubnych, takich jak sola, tilapia czy karp, charakteryzuje się lepszą termostabilnością i właściwościami reologicznymi w porównaniu z tą pozyskiwaną z ryb zimnolubnych, takich jak dorsz, łosoś czy mintaj (Gómez -Guillén i in., 2002). Właściwości te mają bezpośredni związek ze składem aminokwasowym tego białka (Tabela 2). Żelatyna z ryb zimnolubnych charakteryzuje się mniejszą zawartością reszt proliny i hydroksyproliny odpowiedzialnych za stabilizację struktury białka podczas żelowania w porównaniu z żelatyną ssaczą. Taki skład aminokwasowy powoduje obniżenie temperatury topnienia i wpływa na właściwości formowania folii (Haug i in., 2004). Fizyczne właściwości żelatyny zależą nie tylko od jej pochodzenia, składu aminokwasowego, ale również od zawartości łańcuchów α, β, γ oraz metody otrzymywania (Haug i in., 2004; Góméz-Guillén i in., 2005).

Tabela 2. Skład aminokwasowy żelatyn w zależności od źródła pochodzenia (Gómez-Estaca i in., 2009; Montero i in. 2009; Zhou i in., 2006; Gómez-Guillen i in. 2002; Arnesen i Gildgerg, 2007).

| **SKŁAD** AMINOKWASOWY **ŻELATYN WYRAŻONY JAKO ILOŚĆ** RESZT / 1000 RESZT | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ŻELATYNA** | Hyp | Asx | Thr | Ser | Glx | Pro | Gly | Ala | Val | Met | Ile | Leu | Tyr | Phe | His | Hyl | Lys | Arg |
| BYDLĘCA | 83 | 46 | 33 | 39 | 74 | 127 | 342 | 113 | 19 | 4 | 11 | 24 | 4 | 12 | 4 | 5 | 25 | 52 |
| WIEPRZOWA | 91 | 46 | 18 | 35 | 72 | 132 | 330 | 112 | 26 | 4 | 10 | 24 | 3 | 14 | 4 | 6 | 27 | 49 |
| RYBIA ZE SKÓR: | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| TUŃCZYKA | 78 | 44 | 21 | 48 | 71 | 107 | 336 | 119 | 28 | 16 | 7 | 21 | 3 | 13 | 7 | 6 | 25 | 52 |
| DORSZA | 50 | 52 | 25 | 64 | 78 | 106 | 344 | 96 | 18 | 17 | 11 | 22 | 3 | 16 | 8 | 6 | 29 | 56 |
| ŁOSOSIA | 60 | 54 | 23 | 46 | 74 | 106 | 366 | 104 | 15 | 18 | 9 | 19 | 3 | 13 | 13 | bd | 24 | 53 |

bd – brak danych

Folie żelatynowe stanowią dobrą barierę przed dostępem tlenu. Jednakże charakteryzują się słabymi właściwościami mechanicznymi i niewystarczającą odpornością na wodę, co w

znacznym stopniu ogranicza ich zastosowanie (Chiou i in., 2008). Po 24 h wstrząsania w wodzie, w temperaturze 25°C rozpuszczalność folii z żelatyny bydlęcej wynosi ok. 31% (Carvalho i Grosso, 2004), podczas gdy folie z żelatyny rybnej w tych samych warunkach ulegają całkowitemu rozpuszczeniu (Kołodziejska i in., 2006; Kołodziejska i Piotrowska, 2007). Aby znalazły one praktyczne zastosowanie, konieczne jest ograniczenie rozpuszczalności takich folii. Efekt taki uzyskuje się poprzez reakcje chemicznego lub enzymatycznego sieciowania białek (Carvalho i Grosso, 2004; Kołodziejska i in., 2006; Kołodziejska i Piotrowska, 2007). Właściwości mechaniczne folii żelatynowych zależą od źródła pochodzenia żelatyny, naprężenie przy zerwaniu folii z żelatyny ze skór *Lutjanus spp* wynosi 40 – 60 MPa w zależności od gatunku ryb, natomiast naprężenie przy zerwaniu folii z żelatyny wieprzowej 80 MPa (Jongjareonrak i in., 2006a; Cao i in., 2007b). Park i in. (2002) stwierdzili, że folie otrzymane z żelatyny ze skór *Lates niloticus* charakteryzowała wytrzymałość ok. 20 MPa podczas gdy folie z żelatyny z kości tych samych ryb były o połowę mniej wytrzymałe. Wydłużenie względne przy zerwaniu folii żelatynowych wynosi kilka procent, co jest charakterystyczną cechą folii białkowych (Carvalho i Grosso,2004; Jongjareonrak i in., 2006a; Cao i in., 2007b; Pronato i in., 2007; Park i in., 2002). Przepuszczalność pary wodnej dla folii z żelatyny rybnej jest porównywalna z foliami z żelatyny wieprzowej i bydlęcej, i wynosi ok. 2,5–5 g·mm/kPa·h·m$^2$ (Sobral i in., 2001; Chambi i Grosso; 2006, Jongjareonrak i in., 2006a; Kołodziejska i Piotrowska, 2007; Pranoto i in., 2007).

### 2.1.3 Folie z kazein

Kazeiny są głównym składnikiem białek mleka. Należą one do heterogenicznej grupy fosfoprotein składających się z 20 składników różniących się między sobą ufosforylowaniem, glikozylacją oraz składem aminokwasowym. Do głównych frakcji kazeiny należą: $\alpha_{s1}$-, $\alpha_{s2}$-, β- i κ-kazeiny oraz γ-kazeiny. W mleku krowim stanowią one odpowiednio 38, 10, 36, 13 i 3% całkowitej zawartości kazeiny. Każda frakcja charakteryzuje się swoistym punktem izoelektrycznem i strukturą (Chen, 1995; Sikorski, 2002; Audic i Chaufer, 2005). Podczas kwasowego strącania kazeiny otrzymuje się kazeinian sodu – polimer charakteryzujący się dobrymi właściwościami foliotwórczymi (Audic i Chaufer, 2005). Folie kazeinowe charakteryzują się brakiem smaku i zapachu. Są one przezroczyste lub półprzezroczyste, co uzależnione jest od sposobu ich formowania, czystości białka i rodzaju frakcji (Chen, 1995; Mauer i in., 2000). Podobnie jak większość folii białkowych, folie kazeinowe są całkowicie rozpuszczalne w wodzie (Chen, 1995; Schou i in., 2005; Audic i Chaufer, 2005).

Wytrzymałość mechaniczna folii kazeinowych różni się w zależności od składu białkowego i formy kazeiny użytej do ich wytwarzania. Schou i in. (2005) wykazali, że nieplastyfikowane folie z kazeinianu sodu charakteryzują się $\sigma$ ok. 37 MPa, $\varepsilon$ ok. 2,5% i WVP w zakresie 1,8÷2 g·mm/kPa·h·m$^2$.

### 2.1.4 **Folie z izolatów białek soi**

Białka roślinne, których źródłem jest soja od wieków były cennym składnikiem diety krajów Dalekiego Wschodu. Duża plenność tej rośliny oraz łatwa procedura izolacji białek sojowych sprawia, że są one szeroko wykorzystywane w produktach żywnościowych na całym świecie. Izolaty białek soi (SPI) można też wykorzystać do otrzymywania jadalnych i biodegradowalnych folii opakowaniowych. Białka roślinne charakteryzują się dużą wartością odżywczą i są dużo tańsze niż zwierzęce. SPI jest mieszaniną białek o różnych masach cząsteczkowych (Cho i in., 2007). Folie otrzymywane z SPI wykazują nadmierną kruchość, przez co ich właściwości użytkowe są ograniczone. W celu ich poprawy należy je modyfikować dodając plastyfikatora, na przykład glicerolu (Brandenburg i in., 1993; Gennadios i in., 1993; Kim i in., 2002; Cho i in, 2007). $\varepsilon$ folii z izolatów białek soi plastyfikowanych glicerolem zależy od pH roztworu foliotwórczego (Gennadios i in., 1993, Brandenburg i in., 1993). Folie formowane z roztworu o pH w zakresie z 6 do 11 wykazują o około dwa razy większą rozciągliwość w stosunku do folii otrzymanych z roztworu o pH 1÷3 (Gennadios i in., 1993). WVP folii formowanych z roztworów o pH w zakresie 1÷3 jest większa o ok. 25% niż folii otrzymanych z roztworów o pH 6. Dalszy wzrost pH z 6 do 12 powoduje ograniczenie tej przepuszczalności o ok. 19% (Gennadios i in., 1993). Mniejsza barierowość dla pary wodnej folii z izolatów białek soi otrzymanych z roztworów o pH 1÷3 jest wynikiem zmniejszenia liczby międzycząsteczkowych wiązań oraz zwiększenia odpychania pomiędzy dodatnio naładowanymi grupami białek soi (Gennadios i in., 1993; Brandenburg i in., 1993).

## 2.2 Folie polisacharydowe

### 2.2.1 Folie ze skrobi

Skrobia, ze względu na łatwy dostęp i niską cenę, wykorzystywana jest w przemyśle na bardzo szeroka skalę. Polisacharyd ten stosuje między innymi do poprawy tekstury i konsystencji produktów żywnościowych. Bardzo często wykorzystuje się go także do produkcji materiałów opakowaniowych (Romero-Bastida i in., 2005; Dae-Hyun i in., 2001).

Pomysłodawcą wykorzystania skrobi do produkcji materiałów opakowaniowych był Griffin, który w latach 70-tych XX wieku włączył ten biodegradowalny polimer w strukturę

polietylenu w stosunku 10:90. W otrzymanej folii skrobia spełniała jedynie rolę wypełniacza ułatwiającego fragmentację materiału. σ otrzymanego materiału wynosiła 20–30 MPa, natomiast ε 600-700%. W latach 80-tych XX wieku rozpoczęto łączenie syntetycznych polimerów z modyfikowaną skrobią w procesie ekstruzji. Wytworzone w ten sposób materiały charakteryzowały się bardzo zbliżoną wartością σ, lecz mniejszym ε w stosunku do tych, otrzymanych w latach 70-tych XX wieku. Od lat 90-tych badania skupiają się nad wytworzeniem materiałów opakowaniowych bazujących również na czystej skrobi (Lourdin i in., 1995).

Skrobia zbudowana jest z dwóch makrocząsteczek: amylozy odpowiedzialnej za żelowanie i rozgałęzionej amylopektyny. Stosunek tych dwóch sacharydów różni się w zależności od źródła, z jakiego skrobia została pozyskana i wpływa na właściwości użytkowe wytworzonych folii (Lourdin i in., 1995). Wg Rindlav-Westling i in. (1997) σ folii amylozowych wynosi 20 MPa, natomiast amylopektynowych ok. 6 MPa.

Folie skrobiowe stanowią dobrą barierę dla tlenu i dwutlenku węgla, jednak hydrofilowa natura polisacharydu sprawia, iż wykazuje ona, w porównaniu z polimerami syntetycznymi, słabsze właściwości barierowe wobec pary wodnej. Właściwość ta jest głównym ograniczeniem dla produkcji folii opakowaniowych (López i in., 2007; Bertuzzi i in., 2007). Alternatywą do zredukowania tej wady jest użycie skrobi modyfikowanych chemicznie, fizycznie lub enzymatycznie.

### 2.2.2 Folie z chitozanu

Chitozan jest nietoksycznym polikationowym polimerem polisacharydowym zbudowanym z reszt D-glukozaminy połączonych wiązaniami β -1,4-glikozydowymi. Występuje on w ścianie komórkowej grzybów *Zygomycetes*, a przemysłowo otrzymuje się go poprzez chemiczną N-deacetylację chityny, składnika budulcowego pancerzy skorupiaków morskich (krewetek, ostryg, krabów, homarów czy kryli antarktycznych). Stopień deacetylacji oraz masa cząsteczkowa polimeru nadają mu różne właściwości, co decyduje o sposobie jego wykorzystania. Chitozan o wysokim SD, w środowisku lekko kwaśnym, wykazuje dużą gęstość ładunków dodatnich przez co może oddziaływać z innymi polimerami, mającymi w tych warunkach ładunek ujemny. Ponadto wykazuje on też aktywność przeciwdrobnoustrojową, dzięki czemu może być stosowany do przedłużania trwałości produktów żywnościowych oraz jako składnik biodegradowalnych, jadalnych folii do żywności. Ograniczeniem jego stosowania jest jego nadmierna rozpuszczalność w wodzie, w lekko kwaśnym środowisku, duża lepkość oraz strącanie w pH zasadowym (Rabea i in., 2003).

Folie chitozanowe są gładkie, transparentne i charakteryzują się lepszymi właściwościami barierowymi w porównaniu z foliami żelatynowymi (Begin i Calsteren, 1999; Kołodziejska i Piotrowska, 2007; Vargas i in., 2009). σ folii chitozanowych zależy od masy cząsteczkowej chitozanu (Chen i Hwa, 1996; Kittur i in., 1998; Begin i Calsteren, 1999; Lazaridous i Biliaderis, 2002; Srinivasa i in., 2007). Chen i Hwa (1996) wykazali, iż folie z chitozanu o masie cząsteczkowej 400 kDa charakteryzowały się 2,5 raza większym σ i 2 razy większym ε w porównaniu z foliami z chitozanu o dwukrotnie mniejszej masie. Begin i Calsteren (1999) stwierdzili, że właściwości mechaniczne folii zależą również od użytego rozpuszczalnika. Folie formowane z chitozanu rozpuszczonego w kwasie mlekowym wykazywały σ na poziomie około 20 MPa, natomiast rozpuszczone w kwasie solnym około 80 MPa. Duży wpływ na właściwości użytkowe folii mają warunki przechowywania - σ folii zwiększa się ze wzrostem temperatury z 4°C do 30°C (Srinivasa i in., 2007). WVP folii chitozanowych jest mniejsza niż w przypadku folii białkowych i wynosi od 0,55 do 0,7 $g \cdot mm/m^2 \cdot h \cdot kPa$ (Kittur i in., 1998; Srinivasa i in., 2007).

Przeciwdrobnoustrojowe działanie chitozanu jest możliwe dzięki obecności reaktywnych grup aminowych, których liczba jest uzależniona od pH. W pH poniżej 6 następuje protonowanie grup aminowych i dodatnio naładowany polimer może wiązać się z ujemnie naładowaną powierzchnią komórki mikroorganizmów, co prowadzi do utraty wielu wewnątrzkomórkowych składników i w konsekwencji do ich inaktywacji. W pH 7 traci on swoje właściwości przeciwdrobnoustrojowe ze względu na brak protonowanych grup aminowych oraz małą rozpuszczalność (Sudharshan i in., 1992; Tsai i Su, 1999, Malinowska-Pańczyk i in., 2009). Według niektórych autorów na działanie przeciwdrobnoustrojowe ma wpływ także masa cząsteczkowa polimeru. Chitozan o dużej masie może tworzyć na powierzchni komórki bakteryjnej polimerowy film w wyniku oddziaływań ze ścianą komórkową mikroorganizmu. Uniemożliwia to dostarczanie niezbędnych składników odżywczych komórce (Zheng i Zhu, 2003). Natomiast chitozan o małej masie cząsteczkowej może wnikać do wnętrza komórki i wiązać się z ujemnie naładowanymi składnikami wewnątrzkomórkowymi. Liu i in. (2007) uważają, iż może on związać się z resztami fosforanowymi DNA i blokować w ten sposób podstawowe procesy życiowe mikroorganizmu.

### 2.2.3 Folie z pektyn

Pektyny należą do polisacharydów o masie cząsteczkowej od 20 do 400 kDa szeroko rozpowszechnionych wśród roślin lądowych. W dużych ilościach występują one w młodych

owocach i tkankach takich roślin jak: porzeczki, brzoskwinie, jabłka, czereśnie, winogrona, żurawiny, morele, rodzynki i banany (Nowak i Mitka, 2004).

Pektyny stanowią mieszaninę polisacharydów i oligosacharydów o zmiennym składzie cząsteczkowym, które tworzą liniowe polimery poprzez połączenie owiązaniem -1,4-glikozydowym jednostek kwasu D-galaktopiranouronowego, w znacznej części zestryfikowanego grupami metylowymi. W zależności od stopnia estryfikacji wyróżniamy dwie frakcje pektyn: wysokometylowane, w których zestryfikowanych jest więcej niż 50% grup karboksylowych kwasu D-galaktopiranouronowego oraz niskometylowane, w których stopień estryfikacji jest mniejszy niż 50%. Wspólną cechą pektyn jest zdolność do tworzenia żeli w kwaśnym środowisku.

Folie pektynowe, podobnie jak folie białkowe, są nadmiernie rozpuszczalne w wodzie. Wytrzymałość mechaniczna folii pektynowych zależy od sposobu ich wytwarzania i stopnia estryfikacji polisacharydu. Zwykle cechuje je jednak zbyt mała ε. WVP olii pektyn owych wynosi 0,54 g·mm/kPa·h·m$^2$ (Brault i in., 1997; Kang i in., 2005).

# 3 Modyfikacje folii z naturalnych polimerów

Folie produkowane z naturalnych polimerów z jednej strony charakteryzują się dobrą barierowością wobec tlenu, z drugiej strony wykazują one niekorzystne niektóre właściwości mechaniczne oraz niską barierowość wobec pary wodnej i nadmierną rozpuszczalność w wilgotnym środowisku. Cechy te w znacznym stopniu ograniczają zastosowanie folii, dlatego w celu poprawy ich właściwości konieczne są modyfikacje polimerowych składników. Najczęściej stosuje się modyfikacje przy użyciu różnych substancji chemicznych, a także promieniamy, UV czy temperaturą.

## 3.1 Modyfikacje fizyczne

### 3.1.1 **Promieniowanie γ**

Promieniowanie γ wpływa na właściwości białek przez zmianę ich konformacji, utlenianie niektórych reszt aminokwasów, powstawanie wolnych rodników oraz reakcje rekombinacji i polimeryzacji. Prowadzi to do powstania cząsteczek białka o dużej masie cząsteczkowej. Folie wytworzone z modyfikowanych w ten sposób białek mają lepsze właściwości mechaniczne oraz są mniej podatne na wchłanianie wody przez matrycę polimerową. Efekt naświetlania promieniami γ zależy od kilku czynników, takich jak stężenie białka i jego struktura, obecność tlenu oraz zastosowana dawka promieniowania (Outtara i in., 2002, Lacroix i in., 2002).

Napromieniowanie folii powoduje również polepszenie właściwości mechanicznych folii skrobiowych (Salmoral i in., 2000; Lacroix i in., 2002; Zhai i in., 2003; Cieśla i in., 2004; Lee i in., 2005; Jo i in., 2005; Sabato i in., 2007). Działanie promieniowaniem $\gamma$ w dawce 50 kGy na folie z nieoczyszczonej skrobi z fasoli, zwiększyło $\sigma$ folii z 3 do 10 MPa. (Salmoral i in., 2000). Pod wpływem promieni $\gamma$ $\varepsilon$ oraz WVP folii maleje (Salmoral i in., 2000; Kang i in., 2005; Lacroix i in., 2002; Ouattara i in., 2002; Cieśla i in., 2004; Lee i in., 2005; Kim i in., 2008). Kim i in. (2008) wykazali, że $\varepsilon$ folii ze skrobi kukurydzianej zmniejszyło się z ok. 54 do 26% po traktowaniu ich dawką 24 kGy.

Modyfikacja folii przy użyciu promieni $\gamma$ w niewielkim stopniu ogranicza ich rozpuszczalność (Jo i in., 2005; Kang i in., 2005). Na przykład rozpuszczalność folii pektynowych naświetlonych dawką 30 kGy zmniejszyła się o 10% stosunku do folii niemodyfikowanych (Kang i in., 2005).

### 3.1.2 Promieniowanie UV

Kolejną modyfikacją polepszającą właściwości użytkowe folii jest zastosowanie odpowiednich dawek promieniowania ultrafioletowego. Proces ten indukuje jedynie zmiany powierzchniowe, a więc powodujące tylko częściowe zmiany struktury materiału. W czasie działania promieniowania ultrafioletowego na kolagen zachodzi jego sieciowanie poprzez reakcje wolnorodnikowe z udziałem reszt tyrozynowych i fenyloalaninowych. Jednakże stosowanie zbyt wysokich dawek promieniowania wywołuje zmiany konformacyjne, a nawet degradację cząsteczek (Sionkowska, 2000). Braczko i in. (1994) wykazali, że sieciowanie folii kolagenowych promieniami UV powoduje polepszenie $\sigma$. Z kolei, Rhim i in. (1999) oraz Liu i in. (2004) badając folie z glutenu pszenicy, zeiny kukurydzy, albuminy jaja oraz z białek orzechów ziemnych stwierdzili, że poddanie tych folii działaniu promieniowania UV nie ma wpływu na właściwości mechaniczne i tylko nieznacznie ogranicza WVP.

### 3.1.3 Denaturacja cieplna

Na właściwości folii można wpływać poprzez ogrzewanie roztworów foliotwórczych. Ogrzewanie białek powoduje ich denaturację, w wyniku której następuje zniszczenie struktur II, III i IV-rzędowych oraz ekspozycja grup tiolowych ułatwiająca powstawanie międzycząsteczkowych, kowalencyjnych wiązań disulfidowych (Cao i in., 2007a). Zmiany w strukturze białek wywołane denaturacją wpływają na niektóre właściwości użytkowe folii.

Cieplna denaturacja z reguły poprawia właściwości mechaniczne wytworzonych folii, powodując zwiększenie $\sigma$ (Stuchel i Krochta, 1994; Miller i in., 1997; Kim i in., 2002; Hernández-

Muñoz i in., 2004; Liu i in., 2004; Cao i in., 2007). Taj folii otrzymanych z roztworu gliadyny pszenicy, ogrzewanego w temperaturze 90˚C przez 24h, wynosiła 14 MPa, podczas gdy σ folii z białek niezdenaturowanych tylko 0,6 MPa (Hernández-Muñoz i in., 2004). Ogrzewanie roztworu białek poprawia również właściwości barierowe wobec pary wodnej (Stuchel i Krochta, 1994; Miller i in., 1997; Kim i in., 2002; Hernández-Muñoz i in., 2004; Liu i in., 2004). Według Hernández-Muñoz i in. (2004) jest to wynikiem zrywania i tworzenia nowych, międzyłańcuchowych wiązań disulfidowych podczas ogrzewania, co z kolei ogranicza ruchliwość łańcuchów polipeptydowych i w konsekwencji przyczynia się do zmniejszenia przenikania cząsteczek wody przez folie.

## 3.2 Modyfikacje chemiczne

### 3.2.1 Plastyfikacja

Niemodyfikowane folie z białek lub polisacharydów są kruche i nie nadają się do wykorzystania jako opakowania do żywności (Coupland i in., 2000; Repka i McGinity, 2000; Sothornvit i Krochta, 2001; Mali i in., 2005; Jongjareonrak i in., 2006a; Jongjareonrak i in., 2006b; Bergo i Sobral, 2007). Właściwości te można polepszyć poprzez dodatek hydrofilowych związków niskocząsteczkowych, które zmniejszają międzycząsteczkowe oddziaływania w sieci polimeru (Gontard i in., 1993; Sothornvit i Krochta, 2001). Dodatek plastyfikatorów z jednej strony prowadzi do zwiększenia ε folii, z drugiej zaś do zmniejszenia σ oraz barierowości wobec pary wodnej. Najczęściej stosowanymi plastyfikatorami są: glicerol, glikol propylenowy, glikol polietylenowy o różnej masie cząsteczkowej, sorbitol i sacharoza (Sothornvit i Krochta, 2001; Parra i in., 2004; Turhan i Sahbaz, 2004).

Oddziaływanie substancji plastyfikujących zależy od rodzaju białka. Orliac i in. (2003) stwierdzili, że PEG i PPG o masach 400, 1000 oraz 3000 nie tworzy z białkami ze słonecznika jednorodnych roztworów umożliwiających wytworzenie homogennych folii, podczas gdy te z żelatyny rybnej z dodatkiem PEG o podobnych masach są jednolite i przezroczyste (Jongjareonrak, 2006b). Prawdopodobnie jest to wynikiem niewystarczającego podobieństwa strukturalnego między substancją plastyfikującą, a polimerem, bądź krystalizacji w strukturze folii nadmiernej ilości plastyfikatora (Jangchud i Chinnan, 1999; Anker i in., 2001; Orliac i in., 2003; Olivas i Barbosa-Canovas, 2008).

Znaczący wpływ na właściwości mechaniczne plastyfikowanych folii ma woda. Jej zawartość w foliach rośnie wraz ze zwiększającą się RH środowiska, powodując zmiany σ i ε folii (Coupland i in., 2000; Mali i in., 2004; Mali i in., 2005; Chang i in., 2006; Martelli i in., 2006). Mali i in. (2004) wykazali, że σ folii ze skrobi z 20% dodatkiem glicerolu wynosi ok. 20 MPa przy RH

35%, podczas gdy przy RH 75% tylko 3 MPa. Stwierdzono także, iż dodatek hydrofilowego plastyfikatora zwiększa rozpuszczalność folii w wodzie (Cuq i in., 1997; Galietta i in., 1998; Martinelli i in., 2006). Dodatek glicerolu w stężeniu 7% do folii z keratyny kurzego pierza zwiększa ich rozpuszczlność 10-krotnie (Martinelli i in., 2006). Natomiast Kołodziejska i Piotrowska (2007) wykazały, iż dodatek glicerolu w stężeniu 30% nie wpłynął w znaczącym stopniu na rozpuszczalność folii żelatynowo–chitozanowej.

Plastyfikatory, rozluźniają strukturę polimeru, co ułatwia wnikanie wody do jej wnętrza i powoduje zmniejszenie barierowości dla pary wodnej. Obniża się ona wraz ze zwiększającym się stężeniem plastyfikatora (Arvanitoyannis i in., 1996; Arvanitoyannis i Biliaderis, 1999; Aydinli i Tutas, 2000; Yang i Paulson., 2000; Irissin-Mangata i in., 2001). Dodatek plastyfikatorów do folii z białek i polisacharydów zmniejsza także barierowość tych folii w stosunku do tlenu (Arvanitoyannis i in., 1996; Arvanitoyannis i in., 1997; Arvanitoyannis i Biliaderis, 1999; Sothornvit i Krochta, 2000; Mali i in., 2004). Arvanitoyannis i in. (1997) stwierdzili, że przepuszczalność tlenu folii ze skrobi z dodatkiem 5% (w/w) glicerolu zwiększyła się 15-krotnie w stosunku do folii nieplastyfikowanych. Dwukrotny wzrost stężenia sorbitolu, z 15 do 30% (w/w), w foliach ze skrobi spowodował aż 650-krotne zwiększenie przepuszczalności tlenu (Arvanitoyannis i Biliaderis, 1999).

### 3.2.2 Sieciowanie chemiczne

#### *3.2.2.1 Sieciowanie syntetycznymi **związkami chemicznymi***

Do chemicznego sieciowania polimerów stosuje się związki naturalne lub syntetyczne zawierające reaktywne grupy zdolne do tworzenia kowalencyjnych, wewnątrz- lub międzycząsteczkowych, wiązań pomiędzy łańcuchami białek lub polisacharydów. Sieciowanie polimerów naturalnych związkami chemicznymi może odbywać się na dwa sposoby: poprzez wprowadzenie związków sieciujących bezpośrednio do roztworu, z którego wytwarzane są folie (Tropini i in., 2004; Kołodziejska i in., 2006) lub poprzez zanurzenie folii w roztworze z czynnikiem sieciującym (Wissink i in., 2001; Park i in., 2002; Angele i in., 2004). Chemiczne czynniki sieciujące można podzielić na dwie grupy: związki wchodzące w skład wiązania sieciującego oraz związki nie ulegające włączeniu do układu.

Do pierwszej grupy można zaliczyć aldehydy. Sieciowanie białek przy użyciu aldehydów ogranicza rozpuszczalność folii i z reguły zwiększa ich $\sigma$ oraz barierowość w stosunku do wody (Ghorpade i in., 1995; Sheu i in., 2001; Carvalho i Grosso, 2004; Ustunol i Mert, 2004; Audic i Chaufer, 2005). Carvalho i Grosso (2004) wykazali, że zastosowanie aldehydu mrówkowego w

stężeniu 88 mM ograniczyło rozpuszczalność folii wytworzonych z żelatyny bydlęcej typu B o ok. 17% i spowodowało wzrost $\sigma$ o ok. 53%. Modyfikowanie folii żelatyny wieprzowej 210 mM roztworem aldehydu glutarowego wywołało około 4-krotny wzrost $\sigma$ w stosunku do folii niemodyfikowanych (Bigi i in., 2001).

Pomimo, iż aldehydy są bardzo dobrymi czynnikami sieciującymi, mogą jednak powodować denaturację białek oraz wykazują działanie toksyczne. Możliwość pozostania tych substancji w materiale opakowaniowym lub uwolnienie wskutek hydrolizy ogranicza ich wykorzystanie do modyfikowania właściwości folii opakowaniowych do żywności. W związku z tym prowadzone są badania nad zastąpieniem aldehydów innymi, nietoksycznymi związkami sieciującymi (Ulubayram i in., 2002).

Do chemicznego sieciowania polisacharydów, przede wszystkim skrobi, stosuje się reagenty, które mogą tworzyć zarówno estrowe, jak i eterowe wiązania wewnątrz- i międzycząsteczkowe pomiędzy grupami hydroksylowymi jednostek strukturalnych (Wurzburg, 1986a, 1986b). Głównymi czynnikami sieciującymi skrobię są: fosforan sodu, trimetafosforan sodu, tripolifosforan sodu, epichlorohydryna, chlorek fosforylu, 1,2,3,4-diepoksybutan oraz mieszanina kwasu adypinowego, bezwodnika octowego i chlorku winylu (Wattanchant i in., 2003; Narenda i Yiqi, 2009). Najkorzystniejsze efekty uzyskuje się wprowadzając jedno wiązanie poprzeczne na 500-1300 jednostek D-glukozy. W miarę zwiększania stopnia usieciowania zwiększa się temperatura kleikowania skrobi i obniża maksymalna lepkość kleików po ochłodzeniu. Towarzyszy temu wzrost odporności na wysokie temperatury, niskie pH i zwiększone siły ścinania (Walkowski i Lewandowicz, 2004). Najbardziej popularnym wśród wymienionych związków sieciujących jest epichlorydyna. Sangeeta i Asim (2007) wykazali, iż sieciowanie skrobi kukurydzianej tym związkiem zwiększyło $\sigma$ folii z ok. 9 do 15 MPa oraz $\varepsilon$ o ok. 34%.

Innym czynnikiem wykorzystywanym do sieciowania skrobi jest kwas cytrynowy – tani i nietoksyczny związek szeroko stosowany w przemyśle spożywczym. Może on nie tylko sieciować skrobię, ale także tworzyć z nią liczne wiązania wodorowe, poprawiając tym samym jej stabilność termiczną oraz hamować niepożądaną retrogradację polimeru (Yu i in., 2005). Folie formowane ze skrobi z dodatkiem kwasu cytrynowego wykazują niższą WVP oraz lepszą $\sigma$ w porównaniu z nieusieciowanym materiałem. Ponadto sieciowanie zapewnia lepsze oddziaływania między cząsteczkami, umożliwiając utworzenie bardziej zwartej struktury folii, zapobiegającej pęcznieniu polisacharydu (Narensra i Yiqi, 2009; Reddy i Yang, 2010; Schramm i in., 2002; Yang i in., 1996). Rui i in. (2008) wykazali, iż dodatek kwasu cytrynowego w stężeniu 5% (w/w)

polepszył σ folii skrobiowych z 39 do 48 MPa oraz zwiększył ε folii o ok. 25%. Mimo to usieciowane folie skrobiowe są kruche i wymagają dodatku plastyfikatora (Reddy i Yang, 2010).

Drugą grupę czynników sieciujących stanowią związki, które powodują tworzenie wiązań sieciujących bez włączania się w to wiązanie. Do tej grupy należą azydki acylu oraz karbodiimidy. Najczęściej stosowany jest 1-etylo-3(3-dimetyloaminopropylo)karbodiimid (EDC) (Tropini i in., 2004; Kołodziejska i in., 2006).

Sieciowanie żelatyny rybnej, kolagenu, żelatyny i chitozanu oraz kolagenu i karagenu przy użyciu EDC skutecznie ogranicza rozpuszczalność folii w środowisku o zróżnicowanym pH (Kołodziejska i in., 2006; Kołodziejska i Piotrowska, 2007; Tylingo, 2006). Zazwyczaj pod wpływem sieciowania przy użyciu EDC ma miejsce zwiększenie σ folii (Kim i in., 2004; Kołodziejska i Piotrowska, 2007). W przypadku folii żelatynowo-chitozanowych, po zastosowaniu EDC w stężeniu 30mM jako czynnika sieciującego, uzyskano zwiększenie ε z ok. 2 do 9% (Kołodziejska i Piotrowska, 2007). Nie stwierdzono znaczącego wpływu sieciowania przy użyciu EDC na WVP folii (Kołodziejska i Piotrowska, 2007; Sztuka i Kołodziejska, 2009).

Folie sieciowane za pomocą EDC, w przeciwieństwie do materiałów opakowaniowych modyfikowanych przy użyciu aldehydów, uważane są za nietoksyczne. Związek ten nie zostaje włączony w powstające wiązania sieciujące, lecz przekształcany jest w nietoksyczne pochodne mocznika, czyli ewentualna depolimeryzacja materiału nie stwarza zagrożenia uwolnienia szkodliwych związków (Yunoki i in., 2004).

#### *3.2.2.2 **Sieciowanie związkami pochodzenia naturalnego***

Podobny efekt sieciujący do syntetycznych związków można uzyskać stosując związki pochodzenia naturalnego. Jedną z takich grup są polifenole, naturalne przeciwutleniacze powstające z węglowodanów na drodze szlaku octanowo-malonowego. Źródłem polifenoli są najczęściej rośliny, odpady porolnicze oraz produkty uboczne przemysłu spożywczego. Pod względem budowy zostały podzielone na grupy: kwasy hydroksybenzoesowe, kwasy hydroksycynamomowe, stylbeny, taniny i flawonoidy obejmujące takie podgrupy jak: flawonole, flawony, flawanony, flawanole, izoflawony, katechiny i antocyjanidyny (Wilska-Jeszka, 1999). Cechą wspólną polifenoli jest obecność w ich cząsteczkach grup fenolowych. Jako przeciwutleniacze mogą one działać na kilka sposobów: jako substancje redukujące lub jako związki blokujące wolne rodniki, które inicjują procesy utleniania, a także jako czynniki chelatujące jony metali, które katalizują reakcje utlenienia (Oszmiański, 1995). Aktywność

antyoksydacyjna tych związków uzależniona jest od ich chemicznej budowy. Wzrasta ona znacznie, gdy w pozycji *orto* występują dwie grupy hydroksylowe, które dodatkowo umożliwiają przeprowadzenie reakcji sieciowania polimeru. Następuje ono w wyniku interakcji łańcuchów polimeru z polifenolami poprzez utworzenie wiązań kowalencyjnych, jonowych, wodorowych oraz oddziaływań hydrofobowych (Hoque i in., 2011, Strauss i Gibson, 2004; Spanos i Wrolstad, 1992; Trugo i Macrae, 1984).

Oddziaływania pomiędzy białkami i związkami fenolowymi ekstraktów roślinnych zależą od długości łańcucha białkowego. Na przykład żelatyna mniej zhydrolizowana, o dłuższych łańcuchach, zawiera więcej grup reaktywnych umożliwiających utworzenie wiązań wodorowych i oddziaływań hydrofobowych ze związkami fenolowymi, co z kolei prowadzi do wzmocnienia folii (Hoque i in., 2011). Ponadto z polifenolami łatwiej oddziaływują białka o mniejszym stopniu pofałdowania. Jest to spowodowane odsłonięciem miejsc wiązania w ich cząsteczkach (Hagerman i Butler, 1993).

Hoque i in. (2011) wykazali, że w środowisku alkalicznym, w obecności tlenu, polifenole zostają utlenione tworząc pochodne chinonu. W wyniku tej reakcji stają się one podatne na atak nukleofilów (Zhang i in., 2010b). W łańcuchach peptydowych rolę nukleofilów pełnią grupy: tiolowa cysteiny, aminowa lizyny i argininy, amidowa asparaginy i glutaminy, pierścień indolu z tryptofanu oraz pierścień imidazolowy z histydyny, natomiast w polisacharydach grupy hydroksylowe (Zhang i in., 2010b). W wyniku reakcji chinonów z aminową lub tiolową grupą łańcucha polipeptydowego tworzą się kowalencyjne wiązania C-N lub C-S (Hoque i in., 2011). Możliwe jest także utworzenie wiązania kowalencyjnego w wyniku ataku wolnej pary elektronowej nukleofila na posiadający deficyt elektronowy pierścień aromatyczny pochodnej chinonu (Zhang i in., 2010b).

W niemodyfikowanych foliach z polimerów naturalnych łańcuchy polimeru stabilizowane są głównie przez oddziaływania hydrofobowe oraz wiązania wodorowe, co prowadzi do ograniczenia mobilności tych łańcuchów. Efekt ten ulega spotęgowaniu w przypadku utlenienia polifenoli i utworzenia dodatkowych wiązań kowalencyjnych z polimerem (Hoque i in., 2011).

Siebert i in. (1996) wykazali, że efektywność reakcji sieciowania uzależniona jest od stosunku białka do polifenolu. Interakcja białko-polifenol jest najbardziej wydajna, gdy stężenia obu reagentów są takie same. W przypadku nadmiaru jednego z nich, następuje tylko częściowe sieciowanie polimeru. W zaproponowanym przez Sielberta i in. (1996) modelu, użyty polifenol, kwas taninowy, posiada dwa miejsca aktywne umożliwiające wiązanie z białkiem. W sytuacji nadmiaru polifenolu, większość miejsc wiążących w białku jest już zajęta i maleje szansa na napotkanie wolnego miejsca przez polifenol. Gdy stężenie białka przekracza stężenie polifenolu,

dwie cząsteczki białka będą wiązane przez jedną cząsteczkę polifenolu, co ogranicza dalsze sieciowanie.

Modyfikacja folii opakowaniowych z wykorzystaniem ekstraktów roślinnych będących źródłem polifenoli prowadzi do zmian właściwości użytkowych folii. Zmiany te uzależnione są od rodzaju polimeru oraz rodzaju polifenolu. Modyfikacja foli z żelatyny ze skóry mątwy *Sepia pharaonis* z dodatkiem ekstraktu z cynamonu (*Cinnamomum zeylanicum*) spowodowała wzrost σ o ok. 20% (Hoque i in., 2011). Natomiast Ou i in. (2005) nie wykazali wpływu polifenoli na wytrzymałość folii uzyskanych na bazie izolatu białek soi. Podobne wyniki otrzymali Rattaya i in. (2009) dla folii z żelatyny izolowanej ze skór *Priacanthus tayenus* z dodatkiem ekstraktu z brunatnych alg *Turbinaria ornata*. Cytowani autorzy wykazali natomiast wzrost rozciągliwości folii.

Zhang i in. (2010a) wykazali, że niewielka ilość polifenolu wystarcza, aby ograniczyć mobilność łańcuchów polimeru i w ten sposób poprawić właściwości barierowe wobec wody uzyskanych folii. Przepuszczalność folii względem pary wodnej zależy także od użytego źródła polifenoli (Gómez-Guillén i in., 2007). Modyfikacja folii uzyskanych na bazie żelatyny, wyizolowanej ze skóry tuńczyka, z dodatkiem ekstraktu z liści *Ugni molinae* - Soloyo Chico ograniczyła WVP o ok. 14%. Natomiast dodatek ekstraktu z liści *Ugni molinae* - Soloyo Grande spowodował zwiększenie WVP o ok. 33%.

Wykorzystanie polifenoli do sieciowania polimeru wpływa także na ropuszczalność uzyskanych folii. Kwas taninowy w stężeniu 3% (w/w) powoduje zmniejszenie rozpuszczalności folii z żelatyny z 100 do 20% w temperaturze 100°C (Zhang i in., 2010).

Siripatrawan i Harte (2010) wykazali pozytywny wpływ polifenoli zawartych w ekstrakcie zielonej herbaty na właściwości mechaniczne i barierowe wobec pary wodnej folii na bazie chitozanu. Analiza widm FT-IR tych folii wykazała interakcje pomiędzy chitozanem, a polifenolami z ekstraktu z zielonej herbaty.

Polifenole zawarte w ekstraktach roślinnych dodane do roztworów foliotwórczych mogą spełniać także inne, nie mniej ważne funkcje, takie jak ochrona produktów spożywczych przed drobnoustrojami lub przed utlenianiem składników żywności.

Rajkumar i in. (2010) wykazali, że kwas taninowy, rozpuszczalny w wodzie polifenol, zbudowany z glukozy i kwasu galusowego, posiada właściwości przeciwdrobnoustrojowe przeciwko bakteriom takim jak *Escherichia coli* i *Listeria monocytogenes*. Kwas ten należy do substancji typu GRAS (ang. *Generally Recognized As Safe*) – ogólnie uznanych jako bezpieczne, a autorzy wykorzystali go do formowania folii skrobiowych o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych. Podobnie Chana-Thawornwraz i in. (2011) wykazali, że folia z hydroksymetylocelulozy z dodatkiem ekstraktu z drewna kiam (*Cotyleobiumlanceotatum*), którego

ważnym składnikiem jest kwas taninowy, hamuje wzrost bakterii *Escherichia coli* oraz *Listeria monocytogenes.*

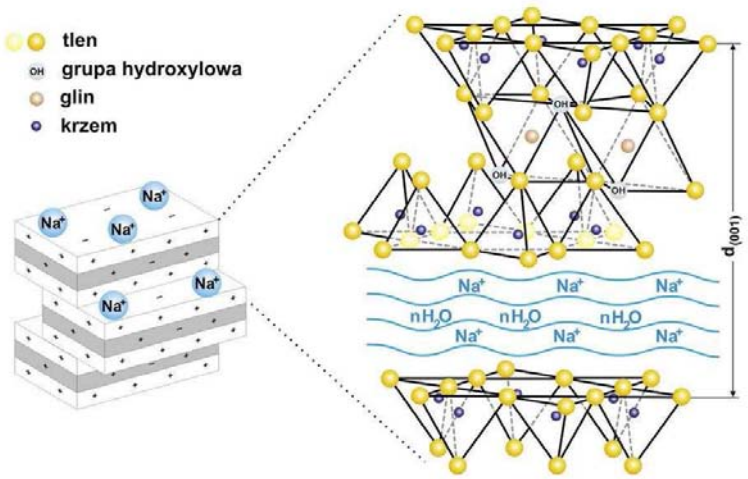
Ekstrakty roślinne posiadają także właściwości przeciwutleniające. Właściwości te są bardzo pożądane w foliach spożywczych, gdyż procesy utleniania zachodzące w żywności wpływają niekorzystnie na jakość produktów spożywczych. Syntetyczne przeciwutleniacze, takie jak butylohydroksyanizol, butylohydroksytoluen, czy α-tokoferol, nadają się doskonale do modyfikacji folii polimerowych, ze względu na swoją stabilność, niski koszt i wydajność produkcji. Zawartość tych syntetycznych związków w żywności budzi jednak wiele kontrowersji i jest pod ścisłą kontrolą. Dlatego lepszym rozwiązaniem jest wykorzystanie do tego celu polifenoli pochodzenia naturalnego. Siripatrawan i Harte (2010) udowodnili, że folia chitozanowa modyfikowana ekstraktem z zielonej herbaty ma znacznie lepsze właściwości przeciwulteniające, niż niemodyfikowana folia, która również posiada takie właściwości dzięki chitozanowi. Z badań autorów wynika, iż 2% dodatek ekstraktu z zielonej herbaty poprawia te właściwości o ok. 30%, a jego 10-krotnie wyższe stężenie w folii, o ok. 50%.

### 3.2.3 **Nanonapełniacze**

Jednym ze sposobów polepszenia właściwości użytkowych opakowań jest włączenie w matrycę polimeru nanocząstek (Malesa, 2004). Największe znaczenie mają nanokompozyty wytworzone z polimerów syntetycznych i kompatybilnych z nimi hydrofobowych nanonapełniaczy. W dobie opakowań biodegradowalnych coraz więcej uwagi poświęca się także nanokompozytom na bazie polimerów naturalnych takich jak skrobia, żelatyna czy chitozan. Dzięki połączeniu polimeru z nanonapełniaczem można polepszyć właściwości barierowe oraz mechaniczne wytworzonego materiału (Nour, 2002; Kacperski, 2003; Zhang i in., 2000; Wang i in., 2000).

Interesujące jest wykorzystanie w inżynierii materiałowej nieorganicznych nanonapełniaczy zawierających w swojej budowie krzem, takich jak MMT, saponit czy hektoryt. Nanonapełniacze te należą do rodziny 2:1 trójwarstwowych filokrzemianów. Ich zewnętrzne warstwy stanowią tetraedry krzemianowo-tlenowe, natomiast wewnętrzną warstwę tworzą oktaedry glinowo-tlenowo-wodorotlenowe (Rysunek 1). W zależności od rodzaju nanonapełniacza kation glinu może być zastępowany przez kationy żelaza lub magnezu. Grubość warstwy MMT uzależniona jest od jego składu i wynosi od 1 do 2,1 nm, natomiast długość od 100 do 150 nm. Między warstwami obserwuje się zjawisko tzw. adsorpcji międzypakietowej, w której biorą udział kationy wapnia, sodu lub potasu. Oddziaływanie

poszczególnych warstw z tymi kationami oraz cząsteczkami wody odbywa się poprzez słabe siły van der Waalsa (Ray i Okamoto, 2003).




Rysunek 1. Struktura 2:1 filokrzemianów (Malesa, 2004).

Równowagę kationowo-anionową w takich cząsteczkach charakteryzuje pojemność wymiany kationowej (CEC, ang. cation exchange capacity) wyrażana w milirównoważniakach (mol-ładunek) na 100 mg (Tabela 3).

Tabela 3. Charakterystyka 2:1 filokrzemianów (Ray i Okamoto, 2003).

| 2:1 filokrzemiany | CEC [mequiv/100g] | **Długość cząstki [nm]** |
|---|---|---|
| Montmorylonit | 110 | 100 – 150 |
| Hekroryt | 120 | 200 – 300 |
| Saponit | 86,6 | 50 – 60 |

Większość nanonapełniaczy, w tym MMT, mają naturę hydrofilową, co sprawia, iż są one kompatybilne z polimerami naturalnymi i niekompatybilne z syntetycznymi. W celu zwiększenia powinowactwa do syntetycznej matrycy polimerowej przeprowadza się modyfikacje MMT różnymi związkami organicznymi. Najczęściej stosowanymi czynnikami modyfikującymi są czwartorzędowe sole alkiloamoniowe zawierające objętościowe grupy organiczne o ładunku dodatnim, z długimi łańcuchami alkilowymi ($C_3$ – $C_{18}$). Takie modyfikacje zwiększają hydrofobowość powierzchni nanonapełniacza, przez co ułatwiają wniknięcie cząsteczek hydrofobowego polimeru między jego warstwy (Malesa, 2004).

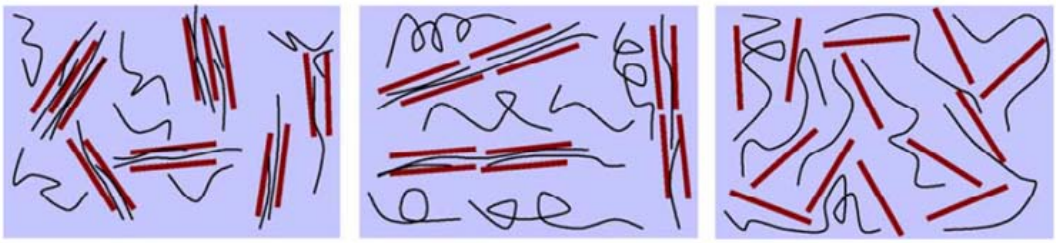
Najważniejszymi producentami MMT oraz jego pochodnych są takie firmy jak: Southern Clay Products (MMT występuje pod handlową nazwą Cloisite®), Nanocor (nazwa handlowa MMT

to Nanocor®, Nanomer®), Südchemie AG (MMT jako Tixogel® i Nanofil®). Główne przeznaczenie MMT to modyfikacja szerokiej gamy polimerów w celu otrzymania nanokompozytów oraz prace badawcze (Malesa, 2004; Piecyk 2006).

Wyróżnia się trzy metody otrzymywania nanokompozytów: metoda polimeryzacji *in situ*, metoda polegająca na mieszaniu nanonapełniacza z uplastycznionym polimerem oraz metoda rozpuszczalnikowa (Gołębiowski, 2003). Pierwsza polega na włączeniu odpowiednich monomerów do warstw nanonapełniacza i następującej po nich polimeryzacji *in situ*, natomiast pozostałe na bezpośrednim łączeniu matrycy polimerowej z nanonapełniaczem będącym w stanie stopionym lub roztworze. W przypadku polimerów syntetycznych każda z wymienionych metod prowadzi do otrzymania nanokompozytu o dobrych właściwościach użytkowych. Niestety silnie hydrofilowa natura w przypadku polimerów naturalnych oraz ich zwiększona wrażliwość na mechaniczną degradację sprawia, iż najodpowiedniejsza dla nich jest metoda rozpuszczalnikowa (Ray i Bousmina, 2005).

Ze względu na sposób wniknięcia matrycy polimerowej między poszczególne warstwy nanonapełniacza Ray i Okamoto (2003) wyróżnili trzy różne typy nanokompozytów:

1. Nanokompozyty interkalowane – polimer wnika między warstwy nanonapełniacza. Właściwości takich nanokompozytów przypominają ceramiczne materiały; łańcuchy polimerowe są rozmieszczone w warstwowej strukturze krzemianu w sposób regularny i zgodny z jego formą krystalograficzną,
2. Nanokompozyty flokulowane – wniknięcie polimeru w strukturę nanonapełniacza jest podobna do nanokompozytów interkalowanych; różnica polega na tym, iż w nanokompozytach flokulowanych obserwuje się dodatkowe oddziaływania grup hydroksylowych krawędź-krawędź,
3. Nanokompozyty eksfoliowane – polimer wchodzi w strukturę nanonapełniacza między jego poszczególne warstwy. Nanokompozyty eksfoliowane charakteryzują się największym stopniem dyspersji nanonapełniacza w matrycy polimerowej.




Rysunek 2. Przykładowe struktury nanokompozytów polimer/krzemiany warstwowe (Ray i Okamoto, 2003).

Malesa (2004) wyróżnia tylko dwie struktury nanokopozytów: interkalowaną i eksfoliowaną. Natomiast nanokompozyty flokulowane traktuje jak interkalowane z dłuższymi warstwami krzemianu (300–800 nm) (Rysunek 2).

Najbardziej pożądaną strukturą jest struktura eksfoliowana, charakteryzująca się najwyższym stopniem rozproszenia nanonapełniacza. Otrzymanie takiej struktury, jak również interkalowanej, jest uzależnione od rodzaju polimeru (głównie jego polarności) i właściwości nanonapełniacza (przede wszystkim współczynnika wymiany jonów). Natomiast nie zależy ona od masy cząsteczkowej polimeru (Gołębiewski, 2003). W przypadku polimerów syntetycznych do osiągnięcia wysokich wymagań stawianych materiałowi wystarczy niewielki dodatek nanonapełniaczy wynoszący od 3 do 5% (Piecyk, 2006). Natomiast w przypadku polimerów naturalnych strukturę eksfoliowaną oraz złożoną z eksfoliowanej i interkalowanej można osiągnąć w obecności do 10% (w/w) nanonapełniacza. Dalsze zwiększenie zawartości nanocząstek powoduje jego aglomerację i otrzymanie mikrokompozytu (Marucci i in., 2007).

Obecnie na skalę przemysłową otrzymuje się nanokompozyty na bazie poliamidów, termoplastycznych poliestrów, polipropylenu, polietylenu oraz polistyrenu. W przypadku nanokompozytów zawierających matrycę poliamidową obserwuje się polepszenie właściwości użytkowych przy zastosowaniu MMT modyfikowanego za pomocą kwasu 12-aminolaurynowego. Na przykład prowadząc proces polimeryzacjiε –kaprolaktamu w temperaturze 250$^{o}$C przez 6h w obecności 4 i 6% tak zmodyfikowanego MMT uzyskano wzrost σ ze 108 MPa do odpowiednio 158 i 176 MPa. MMT modyfikowany kwasem 12-aminolaurynowym spowodował też kilkakrotny spadek przepuszczalności pary wodnej i tlenu w stosunku do polimeru niemodyfikowanego. W przypadku nanokompozytu na bazie poliamidu PA6 w obecności 5% MMT modyfikowanego kwasem 12-aminolaurynowym zaobserwowano 2-krotny wzrost ε i zwiększenie σ o 75% (Kacperski, 2003).

Z kolei Pielichowski i Leszczyńska (2006), prowadzili badania nad otrzymaniem nanakompozytu polioksymetylenu (POM) i MMT. Autorzy wykazali, że MMT modyfikowany organicznie za pomocą amin czwartorzędowych zwiększa wytrzymałość otrzymanego nanokompozytu, podczas gdy w przypadku niezmodyfikowanego MMT ma wprawdzie miejsce zwiększenie σ, lecz jednocześnie zmniejszeniu ulega ε materiału. Na otrzymany efekt znaczący wpływ ma typ związku amoniowego zastosowanego do modyfikacji MMT. Do otrzymywania nanokompozytów z MMT stosowano także hydrofilowy poliwinylopirolidon (PVP). Uzyskanie struktury eksfoliowanej możliwe było, gdy udział MMT nie przekraczał 20% (w/w). Nanokompozytowy materiał PVP/MMT wykazywał dobre właściwości optyczne i lepszą odporność termiczną w stosunku do niezmodyfikowanego polimeru (Drzycimska i Spychaj, 2008).

Nanokompozyty można otrzymywać również na matrycy poliolefin, z których najpopularniejszym jest polipropylen (PP). Jest to polimer niepolarny, dlatego należy stosować zmodyfikowany MMT. Skomplikowana technologia otrzymywania takich nanokompozytów została opracowana przez Oya (2000). Nanokompozyty PP/MMT otrzymywane tą metodą wykazują polepszone prawie wszystkie właściwości mechaniczne w stosunku do niemodyfikowanego PP. Wytwarzane są również nanokompozyty poli(tereftalan etylenu)/MMT modyfikowany kwasem 12-aminolaurynowym, głównie w celu zwiększenia barierowości wobec tlenu. Materiały z dodatkiem 8% kwasu 12-aminolaurynowego wykazują przepuszczalność tlenu leżącą w granicach 20-80% przepuszczalności początkowej (Kacperski, 2003).

W dotychczasowym piśmiennictwie można znaleźć tylko nieliczne dane o wykorzystaniu nanonapełniaczy do otrzymywania materiałów opakowaniowych na bazie polimerów naturalnych. Biodegradowalne materiały nanokompozytowe oparte są na białkach pochodzenia zwierzęcego (kazeinie, kolagenie, białkach jaja kurzego, serwatki), jak i roślinnego (białka soi, glutenie pszenicy, zeinie kukurydzy) (Zhao i in., 2008).

Dean i Yu (2005) badali właściwości folii nanokompozytowych na bazie izolatów białek soi zawierających 5% hydrofilowego montmorylonitu sodu (MMT-$Na^+$) z 33% dodatkiem glicerolu. Stwierdzili oni wzrost σ o ok. 47%. Polepszenie σ, o ok. 30%, wykazali również Rhim i in. (2005) wprowadzając do folii z izolatów białek soi bentonit (OPZIL AOK, Sudchemie Korea). Autorzy wykazali także polepszenie właściwości mechanicznych po wprowadzeniu do matrycy polimerowej organicznie modyfikowanego montmorylonitu (Nanomer I.34TCN, Nanocor Inc.) o zwiększonej hydrofobowości powierzchni. Folie te, w zależności od rodzaju nanonapełniacza, wykazywały także obniżenie WVP o 7-52%. Największy wzrost barierowości wobec pary wodnej zaobserwowano w przypadku folii z dodatkiem bentonitu.

Znaczącą poprawę właściwości mechanicznych nanokompozytów na bazie żelatyny wykazali Zheng i in. (2002). Folie zawierające 5% Cloisite®$Na^+$ wykazywały σ ok. 79 MPa oraz moduł Younga 1,6 GPa, czyli odpowiednio 1,6 oraz 1,8 razy wyższe wartości niż dla samej żelatyny. Wzrost stężenia nanonapełniacza do 17% powodował już niewielkie zmiany właściwości mechanicznych. Poprawa wytrzymałości mechanicznej wynikała z jednolitej dyspersji warstw Cloisite®$Na^+$ w matrycy żelatynowej oraz silnych oddziaływań żelatyna - Cloisite®$Na^+$, których charakter nie jest do końca poznany. Zjawisko to prawdopodobnie jest spowodowane wytworzeniem wiązań wodorowych pomiędzy naładowanymi grupami funkcyjnymi łańcuchów żelatyny a pakietami Cloisite®$Na^+$. Z kolei stwierdzone obniżenie σ i modułu Younga przy wyższych stężeniach Cloisite®$Na^+$ tłumaczono prawdopodobną agregacją cząstek nanonapełniacza.

Polepszenie σ poprzez wprowadzenie 5% MMT do matrycy żelatynowej wykazali także Rao (2007) oraz Bae i in. (2009). Dodatek MMT w ilości ok. 10% powodował również spadek WVP w stosunku do folii z samej żelatyny o 75% (Bae, 2009).

Biodegradowalne nanokompozyty wytwarza się również na bazie polisacharydów takich jak chitozan czy skrobia. Yixiang i in. (2006) wykazali, że już 1% dodatek Cloisite®$Na^+$ do chitozanu powodował wzrost σ z 40 do 55 MPa. Zwiększenie stężenia Cloisite®$Na^+$ do 3% wywołało dalszy wzrost σ do 66 MPa. Tak znaczące polepszenie przy małych ilościach nanonapełniacza wskazuje na otrzymanie nanokompozytu eksfoliowanego o jednolitej dyspersji Cloisite®$Na^+$ w matrycy chitozanowej. Dowodzi to silnej interakcji między chitozanem a Cloisite®$Na^+$. Zmiana nanonapełniacza na hydrofobowy Cloisite®30B nie powodowała istotnego statystycznie wzrostu wytrzymałości przy zerwaniu. Brak poprawy σ, w przypadku zastosowania hydrofobowego Cloisite®30B w porównaniu z hydrofilowym Cloisite®$Na^+$ Yixiang i in. (2006) tłumaczą agregacją cząstek nanonapełniacza i jego słabszą dyspersją w strukturze nanokompozytu.

Z kolei Cyras i in. (2008) badali nanokompozyty na bazie plastyfikowanej natywnej skrobi ziemniaczanej i Cloisite®$Na^+$. Wykazali oni, iż 5% dodatek Cloisite®$Na^+$ do polimeru spowodował wzrost σ tylko z 3 do 4 MPa. Niewielkie polepszenie właściwości mechanicznych spowodowane jest zmianą morfologiczną struktury skrobi przez Cloisite®$Na^+$.

Poprzez odpowiednie modyfikacje nanonapełniaczy można uzyskać materiały o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych (Martyn i Targoński, 2010; Tan i in., 2008). Wykorzystując na przykład zdolność MMT do sorpcji jonów z roztworów wodnych, otrzymano MMT będący nośnikiem metali ciężkich, oddziaływujących destruktywnie na drobnoustroje

(Pagacz i Pielichowski, 2007; Malachová i in., 2011; Tan i in., 2008). Tan i in. (2008) wykazali, że aktywność przeciwdrobnoustrojowa MMT zmodyfikowanego jonami metali ciężkich wzrasta wraz z zmniejszeniem rozmiaru nanocząstki, skutkującym wzrostem jego powierzchni właściwej.

Innym sposobem modyfikacji MMT jest wprowadzenie w strukturę nanocząstek łańcuchów związków amfifilowych o strukturze chemicznej: $[R_1R_2R_3]N^+R_4X^-$, gdzie: $R_1$-$R_3$ - grupy alkilowe; $R_4$ - długi łańcuch alkilowy o różnej liczbie atomów węgla; $X^-$ to anion chlorkowy lub bromkowy. Dodatnio naładowany atom azotu wraz z grupami alkilowymi $R_1$ - $R_3$ stanowią hydrofilową część związku, natomiast długi łańcuch alkilowy $R_4$ jest jego częścią hydrofobową (Obłąk i Gamian, 2012).

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa modyfikowanego MMT uzależniona jest od długości hydrofobowego łańcucha alkilowego. MMT modyfikowany łańcuchem alkilowym zawierającym 10–12 atomów węgla wykazuje najwyższą aktywność, która obniża się wraz ze wzrostem długości łańcucha powyżej 12 atomów węgla (14–16) oraz jego spadkiem poniżej 10 atomów węgla. Efektywność przeciwbakteryjnego działania modyfikowanego MMT zwiększa się również ze wzrostem jego stężenia. Duży wpływ na aktywność modyfikowanego MMT może mieć też pH, temperatura oraz stężenie innych jonów (Obłąk i Gamian, 2012).

Komercyjnie dostępne hydrofobowe nanonapełniacze, będące MMT modyfikowanym za pomocą łańcuchów alkilowych to Closite®30B oraz Closite®20A. Hong i Ridm (2008) wykazali, że Cloisite®30B wykazuje właściwości przeciwdrobnoustronjowe wobec bakterii gramdodatnich i gramujemnych, natomiast Cloisite®20A tylko wobec bakterii gramdodatnich. Odmienne właściwości przeciwdrobnoustrojowe nanonapełniaczy są wynikiem ich różnych modyfikacji.

## 3.3 Modyfikacje enzymatyczne

Enzymatyczna modyfikacja składników żywności jest często wykorzystywana w celu polepszenia ich właściwości funkcjonalnych. Reakcje przeprowadzane z użyciem enzymów charakteryzuje wysoka specyficzność, brak produktów ubocznych oraz niskie zapotrzebowanie energetyczne. Do enzymatycznego sieciowania jadalnych folii można wykorzystać transglutaminazę, lakkazę i tyrozynazę.

### 3.3.1 Transglutaminaza

Transglutaminaza (TG) jest to transferaza katalizująca reakcję tworzenia wiązań sieciujących między grupąy -karboksyamidową reszty glutaminy a pierwszorzędowymi grupami

aminowymi różnych związków jak np. białek ( -aminowe reszty lizyny), amin czy diamin. Konsekwencją sieciowania są nowe właściwości polimeru (Aeschlimann i Paulsson, 1994; Nielsen, 1995; Dickinson i Yamamoto, 1996; Krakowiak i Czakaj, 1999; Kołakowski i Sikorski, 2001).

Modyfikacje żelatyny przy użyciu TG poprawiają jej właściwości żelujące wskutek tworzenia wiązań kowalencyjnych pomiędzy łańcuchami polimeru (Babin i Dickson, 2001; Jongjareonrak i in., 2006b). Przy użyciu tego enzymu możliwe jest również otrzymywanie żeli z mieszanin zawierających białko i polisacharyd, np. żelatynę i chitozan (Chen i in., 2003). TG wykorzystano także do modyfikacji folii opakowaniowych.

Sieciowanie folii białkowych TG powoduje ograniczenie ich rozpuszczalności (Motoki i in., 1987; Yildirim i Hettiarachchy, 1998; Carvalho i Grosso, 2004; Piotrowska i in., 2005; Di Pierro i in., 2007). Stwierdzono, iż folie chitozanowo–albuminowe sieciowane TG, były praktycznie nierozpuszczalne po 24 h inkubacji w 25°C w buforach o pH 4,0; 6,0 i 8,0 (Di Pierro i in., 2007), natomiast rozpuszczalność folii z żelatyny rybnej ograniczono z 96% w pH 3,0 i 6,0 odpowiednio do 33 i 26% (Piotrowska i in., 2005). W mniejszym stopniu uległa zmniejszeniu rozpuszczalność modyfikowanych TG folii z żelatyny wołowej, z 31 do 26% (Carvalho i Grosso, 2004).

Sieciowanie składników przy użyciu TG ma niejednoznaczny wpływ na wytworzonych folii. Według Carvalho i Grosso (2004) sieciowanie folii z żelatyny wołowej przy użyciu TG, nie wpływa na właściwości mechaniczne otrzymanych folii. Z kolei Kołodziejska i Piotrowska (2007) wykazały, iż enzymatyczna modyfikacja folii żelatynowo-chitozanowych obniżyła wytworzonych materiałów z 46 do 35 MPa jednocześnie nie wpływając istotnie statystycznie na ich . Natomiast Motoki i in. (1987) wykazali 2-krotny wzrost folii na bazie $\alpha_{s1}$-kazeiny sieciowanej TG, w porównaniu do folii niemodyfikowanych.

Również wyniki dotyczące wpływu TG na WVP wytworzonych folii uzyskane przez różnych autorów są rozbieżne. Carvalho i Grosso (2004) stwierdzili zmniejszenie WVP folii z żelatyny wołowej o 40% w wyniku sieciowania enzymatycznego. Natomiast wzrost WVP folii wykazano w przypadku folii z białek soi, glutenu pszenicy, żelatyny bydlęcej oraz folii żelatynowo-chitozanowych i żelatynowo-kazeinowych (Tang i in., 2005; Chambi i Grosso, 2006; Lai i Chiang, 2006; Kołodziejska i Piotrowska, 2007). Rozbieżności wyników mogą być spowodowane stosowaniem odmiennych warunków przy wytwarzaniu folii obejmujących: rodzaj białka, skład roztwory foliotwórczego, warunki reakcji sieciowania i metody formowania folii.

### 3.3.2 Lakkaza

Lakkaza należy do oksydoreduktaz. Występuje w tkankach zwierząt, roślin, grzybów oraz komórkach bakterii. Katalizuje utlenianie związków zawierających układy aromatyczne (fenole i ich pochodne, anilinę bądź tyrozynę). Lakkaza dodana do roztworów białkowych lub polisacharydowych przyspiesza ich żelowanie i zwiększa stopień polimeryzacji, jednak mechanizm tych reakcji nie jest dokładnie poznany (Kuuva i in., 2003; Lantto i in., 2005; Salony i in., 2008). Wg Mattinen i in. (2005) lakkaza powoduje powstawanie rodników hydroksylowych w pierścieniu reszt tyrozyny znajdujących się w krótkich peptydach, a następnie reakcje zachodzące pomiędzy dwoma rodnikami prowadzą do powstawania wiązań sieciujących. W przypadku rozbudowanych przestrzennie białek, dostęp enzymu do reszt tyrozyny może być utrudniony i w związku z tym, aby ułatwić przemiany rodnikowe, a tym samym zwiększyć wydajność polimeryzacji, stosuje się kwas 4-hydroksy-3-metoksycynamonowy (Micard i Thibault, 1999; Carvajal-Millan i in., 2005; Mattinen i in., 2005).

### 3.3.3 Tyrozynaza

Tyrozynaza, podobnie jak lakkaza jest oksydoreduktazą. Występuje w organizmach roślinnych i zwierzęcych. Typowymi substratami dla tyrozynazy są monofenole oraz o-difenole, które ulegają enzymatycznemu utlenieniu do o-chinonów. Następnie o-chinony tworzą wiązania sieciujące z grupami aminowymi białek (Kumar i in., 2000; Aberg i in., 2002; Thalmann i Lötzbeyer, 2002). Tyrozynaza katalizuje powstawanie wiązań sieciujących między cząsteczkami polisacharydów, lecz tylko w obecności niskocząsteczkowego związku fenolowego. W przypadku chitozanu może być to arbutyna, która zostaje utleniona przez tyrozynazę do o-chinonu tworzącego wiązanie sieciujące z grupami aminowymi chitozanu (Aberg i in., 2002). Natomiast, sieciowanie tyrozynazą roztworów żelatynowo-chitozanowych nie wymaga dodatku prekursora fenolowego ze względu na obecność reszt tyrozyny w żelatynie (Chen i in., 2003). Na stopień usieciowania polimeru przez tyrozynazę, a tym samym właściwości reologiczne uzyskanego żelu mają wpływ warunki reakcji, w tym pH, temperatura, aktywność enzymu, obecność i stężenie niskocząsteczkowego związku fenolowego (Thalmann i Lötzbeyer, 2002).

Sztuka (2009) wykazała, iż sieciowanie folii żelatynowo-chitozanowych przy użyciu tyrozynazy w stężeniu 300 U/mL w zależności od środowiska spowodowała ograniczenie rozpuszczalności ze 100 do 56% przy pH 3,0 oraz z 74 do 62% przy pH 6,0. Ponadto dodatek tego enzymu zwiększył wytrzymałość na zerwanie z 13,2 do 17,6 MPa.

# 4 Podsumowanie

Opakowania do żywności powinny charakteryzować się odpowiednią wytrzymałością mechaniczną, barierowością dla gazów i wody oraz ograniczoną rozpuszczalnością w kontakcie z wilgotnymi produktami. Droga do otrzymania opakowań z polimerów naturalnych, o wszystkich korzystnych właściwościach użytkowych, zbliżonych do tych z tworzyw sztucznych, jest bardzo trudna. Najczęściej poprawienie jednej cechy powoduje pogorszenie drugiej. Stąd ciągle poszukuje się nowych sposobów polepszenia właściwości biopolimerów poprzez użycie metod fizycznych, chemicznych i enzymatycznych. Jednocześnie dąży się do wytworzenia opakowań, które stanowiłyby nie tylko fizyczną barierę chroniącą produkt przed negatywnymi czynnikami środowiska, ale także spełniałyby szereg dodatkowych funkcji.

Folie wytworzone z biopolimerów ze względu na ich hydrofilową naturę wykazują niewystarczające właściwości barierowe. Są one też mało rozciągliwe i kruche. Jednym ze sposób poprawiających te właściwości może być odpowiednie dobranie komponentów tworzących matrycę polimerową. Polepszenia właściwości barierowych oraz wytrzymałości mechanicznej może być uzyskane poprzez wprowadzanie do matrycy polimeru dodatkowych substancji modyfikujących. Takimi substancjami mogą być na przykład nanonapełniacze, należące do rodziny 2:1 filokrzemianów. Kolejnym sposobem polepszenia właściwości użytkowych folii jest sieciowanie polimerów poprzez formowanie wiązań kowalencyjnych. Do tego celu mogą być wykorzystane między innymi naturalne polifenole pochodzenia roślinnego.

Poszczególne składniki do wytwarzania folii mogą również wykazywać działanie przeciwdrobnoustrojowe. Pod tym względem szczególnie cennym polimerem jest, chitozan, który nie tylko polepsza właściwości materiałów opakowaniowych wykonanych z innych biopolimerów, ale jednocześnie wykazuje aktywność wobec wielu grup drobnoustrojów. Potencjalne właściwości przeciwdrobnoustrojowe wykazują również bentonity modyfikowane czwartorzędowymi związkami alkiloamoniowymi oraz związki fenolowe, które dodatkowo charakteryzują się znaczącym potencjałem przeciwutleniającym i mogą zapobiegać przemianom oksydacyjnym składników żywności, przede wszystkim lipidów.

Odpowiedni dobór modyfikacji chemicznych składników folii oraz łączenie odpowiednio dobranych polimerów, oprócz polepszenia ich właściwości użytkowych takich jak wytrzymałość mechaniczna i barierowość wobec wody, pozwala jednocześnie uzyskać opakowania aktywne o właściwościach przeciwdroboustrojowych i przeciwutleniających. Dzięki temu możliwe jest poprawienie bezpieczeństwa mikrobiologicznego produktów oraz ich jakości podczas przechowywania, a także wydłużenie okresu przechowywania.

# CZĘŚĆ EKSPERYMANTALNA

## 5 Cel, zakres i uzasadnienie pracy

Celem pracy było wytworzenie materiałów opakowaniowych do żywności o dobrych wlasciwościach mechanicznych, barierowych w stosunku do pary wodnej oraz ograniczonej rozpuszczalności w wodzie poprzez łączenie różnych naturalnych polimerów ze sobą, ich sieciowanie z użyciem polifenoli z ekstraktów roślinnych oraz włączenie w matrycę biopolimeru nanonapełniaczy – warstwowych krzemianów. Przy doborze modyfikacji brano pod uwagę możliwość uzyskania opakowania aktywnego o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych i przeciwutleniających.

Zakres pracy obejmował:

- otrzymanie folii z żelatyny pozyskanej ze skór łososia, natywnej skrobi ziemniaczanej i chitozanu bez i z dodatkiem nanonapełniaczy o różnym stopniu hydrofobowości,
- modyfikację chemiczną natywnej skrobi ziemniaczanej w reakcji estryfikacji z metakrzemianem sodu, kwasem krzemowym oraz tetrahydroksocynkanem(II) sodu,
- otrzymanie dwuskładnikowych folii skrobiowo-żelatynowych i skrobiowo-chitozanowych z wykorzystaniem natywnej oraz modyfikowanej skrobi ziemniaczanej,
- otrzymanie folii z żelatyny, natywnej skrobi ziemniaczanej i chitozanu modyfikowanych wodnymi ekstraktami pochodzenia roślinnego,
- zbadanie właściwości użytkowych wytworzonych folii: przepuszczalności pary wodnej, wytrzymałości na zerwanie, maksymalnego wydłużenia przy zerwaniu oraz rozpuszczalności w wodzie,
- analizę struktury wytworzonych folii za pomocą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR), rentgenowskiej analizy dyfrakcyjnej (X-ray), skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC) oraz analizy termograwimetrycznej (TGA),
- zbadanie właściwości przeciwdrobnoustrojowych i przeciwutleniających wybranych folii.

### Uzasadnienie

Uzyskanie materiałów opakowaniowych o dobrych właściwościach użytkowych z naturalnych polimerów, jest przede wszystkim bardzo istotne dla ochrony środowiska. Po pierwsze są one alternatywą dla powszechnie stosowanych opakowań syntetycznych, po drugie

surowce do otrzymania takich materiałów można pozyskać z uciążliwych odpadów przemysłu rolno-spożywczego, generowanych w bardzo dużych ilościach szczególnie przez sektor rybny (np. żelatyna ze skór ryb). Ponadto zastosowanie polimerów naturalnych do produkcji opakowań stwarza nowe możliwości dla opakowania – folie mogą być jadalne i stać się nośnikiem wielu substancji biologicznie aktywnych.

Folie wytworzone z biopolimerów ze względu na hydrofilową naturę tych składników wykazują niewystarczające właściwości barierowe wobec wody. Są one też mało rozciągliwe i kruche. Jednym ze sposób poprawiających te właściwości może być odpowiednie dobranie komponentów tworzących matrycę polimerową. W tym przypadku wykorzystuje się oddziaływania pomiędzy naładowanymi polimerami, co w rezultacie może prowadzić do zmniejszenia podatności wytworzonego materiału na działanie wilgoci i zwiększenia barierowości wobec pary wodnej. Do wytworzenia dwuskładnikowych folii zostanie wybrana żelatyna rybna, chitozan oraz skrobia natywna i chemicznie modyfikowana w reakcji estryfikacji z wybranymi związkami nieorganicznymi: solą sodową kwasu cynkowego oraz krzemowego. W ten sposób zmodyfikowana skrobia charakteryzuje się też większą hydrofobowością, co może korzystnie wpływać na właściwości barierowe.

Inną z dróg polepszenia właściwości barierowych oraz wytrzymałości mechanicznej może być wprowadzenie do matrycy polimeru dodatkowych substancji modyfikujących. Takimi substancjami mogą być na przykład nanonapełniacze, MMT i zmodyfikowane organicznie bentonity o zróżnicowanej hydrofobowości należące do rodziny 2:1 filokrzemianów.

Kolejnym sposobem polepszenia właściwości użytkowych folii jest sieciowanie polimerów poprzez formowanie m. in. wiązań kowalencyjnych. Do tego celu mogą być wykorzystane naturalne polifenole pochodzenia roślinnego.

Ważnym aspektem badań jest fakt, iż większość składników stosowanych do wytwarzania folii wykazuje działanie przeciwdrobnoustrojowe. Pod tym względem cennym polimerem jest, chitozan, który nie tylko polepsza właściwości materiałów opakowaniowych wykonanych z innych biopolimerów, ale jednocześnie wykazuje aktywność wobec wielu grup drobnoustrojów. Potencjalne właściwości przeciwdrobnoustrojowe powinny wykazywać też folie z modyfikowanej skrobi zawierającej cynk oraz z modyfikowanymi bentonitami. W inaktywacji mikroorganizmów aktywne są także związki polifenolowe z ekstraktów roślinnych, które mogą ponadto zapobiegać przemianom oksydacyjnym składników żywności, przede wszystkim lipidów, podczas przechowywania produktów.

# 6 Materiały i Metody

## 6.1 Materiały

### Surowce naturalne

Materiałem do wytwarzania folii opakowaniowych były:

- chitozan wyprodukowany w Morskim Instytucie Rybackim w Gdyni (Kołodziejska i in., 2000) o stopniu deacetylacji 73%, lepkości 1230 mPa·s i średniej masie cząsteczkowej 2180 kDa,
- natywna skrobia ziemniaczana „Superior" spełniająca normę PN-93/A-74710 (P.P.Z. Trzemeszno, Polska),
- zliofilizowane wytłoki owocowe aronii, jagody kamczackiej, jarzębiny,
- żelatyna ze skór łososia, wydzielona wg procedury opracowanej w Katedrze Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności PG (Kołodziejska i in., 2004).

### Odczynniki

W pracy stosowano następujące odczynniki:

- ABTS - 2,2-azynobis(3-etylobenzotilino-6-sulfonian) (98%), DPPH - 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl (98%), kwas 5-kawoilochinonowy, *Extrasynthese*, kwercytyno-3-rutynozyd, metanol (*Chromasolv do gradientowej elucji HPLC* 99,9%), Trolox - kwas 6-hydroksy-2,5,7,8-tetrametylochromano-2-karboksylowy (97%) (Sigma Aldrich),
- amoniak, kwas solny (36%), nadsiarczan sodu (POCH, S.A),
- chlorek sodu (PPK „STANLAB" s.j., Polska),
- cyjanidyno-3-O-glukozyd, kwas krzemowy, pięciowodny metakrzemian sodu, (Fluka, USA),
- glicerol (Chempur, Polska),
- nanonapełniacze: Nanomer®PGV (Sigma Aldrich, Polska), Cloisite®$Na^+$ (Southern Clay Products, INC., USA), NanoBent ZR-1 (Zakłady Górniczo-Metalowe „ZĘBIEC"), Nanofil® 2 (Rockwood Clay Additives),
- odczynnik *Folina-Ciocalteu'a*, kwas mrówkowy (98%) (Merck),
- steridial (P.I.W.„IMPULS")

- tetrahydroksocynkan(II) sodu otrzymany wg Staroszczyk i Janas (2010),
- wodotlenek sodu (P.P.H. Standard, Polska)

**Materiał biologiczny**

Do badań stosowano następujące szczepy bakterii:

- *Escherichia coli* K12 (PCM 2560), *Staphylococcus aureus* (PCM 2054) z Polskiej Kolekcji Mikroorganizmów, Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu,
- *Listeria innocua* DSM 20649 z Niemieckiej Kolekcji Mikroorganizmów i Kultur Komórkowych,
- *Pseudomonas fluorescens* WSRO 121 z kolekcji kultur Katedry Mikrobiologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

**Podłoża**

Hodowle bakterii prowadzono w bulionie kazeinowo-sojowym (TSB) o składzie: pepton kazeinowy – 7 g, pepton sojowy – 3 g, NaCl – 5 g, glukoza – 2,5 g, $K_2HPO_4$ – 2,5 g, woda do objętości końcowej 1000 ml (pH 7,3).

Do oznaczania liczby bakterii stosowano agar kazeinowo-sojowy (TSA) o składzie: pepton kazeinowy – 15 g, pepton sojowy – 5 g, NaCl – 5 g, agar – 15 g, woda do objetości końcowej 1000 ml (pH 7,3) oraz podłoże do oznaczania ogólnej liczby drobnoustrojów o składzie: pepton kazeinowy – 5 g, ekstrakt drożdżowy – 2,5 g, NaCl – 5 g, glukoza – 1 g, mleko w proszku – 1 g, agar – 15 g, woda do objetości końcowej 1000 ml (pH 7,3).

Rozcieńczeń dziesiętnych dokonywano w 1 % wodzie peptonowej o składzie: pepton kazeinowy – 1 g, NaCl – 8,5 g, woda do objętości końcowej 1000 ml (pH 7,3).

Podłoża pochodziły z firmy Merck Sp. z o. o. Niemcy. Podłoża i wodę peptonową sterylizowano przez 20 min w temperaturze 121°C.

## 6.2 Aparatura

- Analizator termograwimetryczny SDT Q 600, firmy TA Instruments
- Autoklaw pionowy A-6, ELMI ESS-201
- Dyfraktometr X'Pert Pro firmy Philips, wyposażony w lampę emitującą promieniowanie $CuK_{\alpha}$ (30 mA, 40 kV)
- Skaningowy kalorymetr różnicowy TC 10A firmy Mettler, wyposażony w procesor TA 300 oraz oprogramowanie ta60 Version 1.31 (Shimadzu Corporation). Instrument kalibrowano za pomocą czystego indu ($T_m$=156,6°C i $\Delta H_m$=28,45 J/g)
- Spektrofotometr FT-IR, Nicolet 8700 firmy Thermo Elektron Scientific Inc. z przystawką odbiciową ATR Golden Gate (Specol) z kryształem diamentu, wyposażony w wysokociśnieniowe urządzenie dociskowe oraz elektroniczny regulator temperatury (Specol)
- Spektrofotometr Nano-Drop 2000C firmy Thermo Scientific
- Spektrometr mas Agilent Technologies 6130 Quadrupole LC/MS
- Sterylizator SP-65G, firmy Womed

oraz

- Elektroniczne wagi laboratoryjne, Radwag
- Homogenizator, Heidolph Instruments D-91126 SchwabachType: Silent CrusherM
- Inkubator, Binder
- Kuchenka mikrofalowa Samsung, typ MW71E, emitująca promieniowanie odpowiadające częstotliwości 2450 MHz
- Liofilizator: CHRIST ALPHA 1-4 LD Plus, CHRIST ALPHA 2-4 LSC
- Łaźnia wodna oraz glicerynowa z wytrząsarką Grant GLS400
- Mieszadła magnetyczne MS 11
- Młynek kulowy Narva, typ DDR-GM 9458
- Łaźnia ultradźwiękowa, ChemLand
- pH-metr elektroniczny, Metra Tronik V628
- Suszarka z wymuszonym obiegiem powietrza, Binder
- Suwmiarka elektroniczna 15240, Toyota
- Śruba mikrometryczna, FWP-Warszawa
- Termometr, Digital Termometr, Prima Long
- Wirówka Sigma 6K15

- Wyciąg laminarny HERA SAFE, Thermo Scientific
- Wytrząsarka powietrzna, Forma Scientific Inc. 4518

## 6.3 **Postępowanie doświadczalne**

### 6.3.1 Przygotowanie roztworów i mieszanin do formowania folii

#### *6.3.1.1* ***Jednoskładnikowe roztwory***

Roztwór **żelatyny**

5 lub 20 g żelatyny zawieszano w niewielkiej ilości wody destylowanej i mieszano na mieszadle magnetycznym w temperaturze pokojowej do momentu całkowitego rozpuszczenia, po czym roztwory uzupełniano do końcowej masy 100g. 5% roztwór żelatyny poddawano dodatkowo homogenizacji (15000 obr/min) wspomaganej ultradźwiękami o częstotliwości 40 kHz przez 15 min.

Roztwór chitozanu

6 g chitozanu zawieszano w 250 g wody destylowanej, a następnie wprowadzono kroplami 1M wodny roztwór HCl i wstrząsano w temperaturze 25°C. Po całkowitym rozpuszczeniu chitozanu, roztwór uzupełniano wodą destylowaną do końcowej masy 300 g i poddawano homogenizacji (15000 obr/min) wspomaganej ultradźwiękami o częstotliwości 40 kHz przez 15 min.

Roztwór skrobi natywnej lub modyfikowanej

2, 3 oraz 10 g skrobi natywnej lub modyfikowanej, zawieszanej w wodzie destylowanej do całkowitej masy 100 g, wstrząsano przez 20 min w temperaturze 79°C celem skleikowania. Po ochłodzeniu roztwór poddawano homogenizacji (15000 obr/min) wspomaganej ultradźwiękami o częstotliwości 40 kHz przez 15 min.

Modyfikacje skrobi

Skrobię ziemniaczaną mieszano z czynnikiem modyfikującym (kwasem krzemowym, metakrzemianem sodu lub tetrahydroksocynkanem(II) sodu) w stosunku 1:0,1 [mol D-glukozy/mol czynnika modyfikującego] i ucierano w porcelanowym moździerzu. Następnie mieszaninę ogrzewano w piecu mikrofalowym o mocy 450 W przez 20 min. W przypadku modyfikacji kwasem krzemowym, w celu pozbycia się jego pozostałości, produkt dodatkowo wstrząsano z roztworem amoniaku, sączano pod zmniejszonym ciśnieniem i suszono w 35°C przez 24 h. Produkt modyfikacji: skrobię krzemianowaną kwasem krzemowym ($S_{Si(kwas)}$),

skrobię krzemianowaną metakrzemianem sodu ($S_{Si(sól)}$) oraz skrobię cynkanowaną ($S_{Zn}$) zamykano szczelnie w naczynku i przechowywano do dalszych badań.

#### *6.3.1.2 **Dwuskładnikowe roztwory***

Roztwory dwuskładnikowe przygotowano mieszając w odpowiednich stosunkach wagowych:

- 2% roztwór skrobi natywnej lub modyfikowanej z 20% roztworem żelatyny (Tabela 6)
- 10% roztwór skrobi natywnej lub modyfikowanej z 2% roztworem chitozanu (Tabela 7).

Tabela 4. Skład roztworów foliotwórczych na bazie skrobi i żelatyny.

| Składniki roztworu foliotwórczego | Stosunek skrobi do żelatyny (w/w) | |
|---|---|---|
| | 1:1 | 1:2 |
| 2% roztwór skrobi [g] | 30 | 30 |
| 20% roztwór żelatyny [g] | 3 | 6 |
| Woda [g] | 27 | 24 |

Tabela 5. Skład roztworów foliotwórczych na bazie skrobi i chitozanu.

| Składniki roztworu foliotwórczego | Stosunek skrobi do chitozanu (w/w) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1:2 | 1:1 | 2:1 | 4:1 |
| 10% roztwór skrobi [g] | 3 | 6 | 12 | 24 |
| 2% roztwór chitozanu [g] | 30 | 30 | 30 | 30 |
| Woda [g] | 27 | 24 | 18 | 6 |

Dwuskładnikowe roztwory poddawano następnie homogenizacji (15000 obr/min) wspomaganej ultradźwiękami o częstotliwości 40 kHz przez 15 min, a następnie wstrząsano przez dwie godziny w łaźni wodnej o temperaturze 55°C.

*6.3.1.3 Mieszaniny nanokompozytów*

**Przygotowanie nanonapełniacza**

Nanonapełniacz zawieszano w wodzie destylowanej i mieszano na mieszadle magnetycznym przez 24h. Następnie zawiesinę poddawano homogenizacji (15000 obr/min) wspomaganej ultradźwiękami o częstotliwości 40 kHz przez 15 min.

**Nanokompozyty na bazie żelatyny**

5 g żelatyny zawieszano w wodzie destylowanej i mieszano na mieszadle magnetycznym do momentu całkowitego rozpuszczenia. Następnie roztwór łączono z zawiesiną nanonapełniacza i uzupełniano wodą do końcowej masy 100 g. Ilości obu składników folii dobierano tak, aby stężenie końcowe żelatyny wynosiło 5%, a nanonapełniacza odpowiednio 5, 10, 15% w stosunku do masy żelatyny. Otrzymane mieszaniny poddawano homogenizacji (15000 rpm) wspomaganej ultradźwiękami o częstotliwości 40 kHz przez 15 min.

Nanokompozyty na bazie skrobi

3 g skrobi zawieszonej w 97 mL wody destylowanej kleikowano w temperaturze 79°C przez 20 min silnie wstrząsając. Dalej postępowano tak, jak w przypadku żelatyny.

Nanokompozyty na bazie chitozanu

2 g chitozanu zawieszano w 80 g wody destylowanej, a następnie wprowadzono kroplami 1M wodny roztwór HCl i wstrząsano w temperaturze 25°C. Po całkowitym rozpuszczeniu chitozanu, roztwór uzupełniano wodą destylowaną do końcowej masy 100 g. Dalej postępowano tak, jak w przypadku mieszaniny żelatyny.

*6.3.1.4* ***Roztwory polimerów z ekstraktami polifenoli z wytłoków owocowych***

Wytłoki owocowe uzyskane po wydzieleniu soku zamrożono i zliofilizowano. 2 g zliofilizowanych wytłoków danego owocu i 10 g wody destylowanej mieszano w temperaturze 40°C przez 20 min na mieszadle magnetycznym. Następnie ekstrakt wirowano przy 8500 × g w temperaturze 20°C przez 10 min i sączono przez watę.

Do 100 mL 5% roztworu żelatyny, 3% kleiku skrobiowego lub 2% roztworu chitozanu dodawano 6 g wodnego ekstraktu owocowego i poddawano homogenizacji (15000 obr/min) wspomaganej ultradźwiękami o częstotliwości 70 kHz przez 15 min.

### 6.3.2 Formowanie folii

Folie formowano poprzez wylewanie roztworów lub mieszanin na odtłuszczone, kwadratowe płytki Petriego o wymiarach 121 x 121 mm lub okrągłe o średnicy 55 mm wykonane z polistyrenu. Folie suszono w temperaturze pokojowej, z wyjątkiem jednoskładnikowych folii ze skrobi (natywnej i modyfikowanej), które suszono w temperaturze 47°C.

W wybranych wariantach eksperymentalnych, przed formowaniem folii, do roztworów lub mieszanin foliotwórczych dodawano glicerol w zakresie stężeń 15 – 30%.

### 6.3.3 **Określenie właściwości mechanicznych** folii

Pomiar σ oraz ε folii wykonano w oparciu o zmodyfikowaną normę ASTM D882-00 oraz PN-81/C-89034, przy użyciu maszyny wytrzymałościowej INSTRON model 5543, sterowanej programem „Merlin".

Przed pomiarami paski folii o wymiarach 15x100 mm kondycjonowano przez 48h w temperaturze 25 ± 2°C i wilgotności względnej 50 ± 2%.

Właściwości wytrzymałościowe materiałów odczytano z wykresów zależności $\sigma = f(\varepsilon)$, przy stałej szybkości przesuwu głowicy 10 mm/min, w temperaturze pokojowej. Początkowy rozstaw szczęk wynosił 50 ± 5 mm.

Wyniki przedstawione w tabelach są wartością średnią z 14 oddzielnych prób ± odchylenia standardowe.

### 6.3.4 **Określenie właściwości barierowych folii**

Oznaczenie WVP wykonano według normy ASTM E 96-95. Przed pomiarami próby kondycjonowano przez 24h w temperaturze 25 ± 2°C i wilgotności względnej 50 ± 2%.

Do naczynek pomiarowych nalano wody destylowanej w takiej ilości, aby lustro wody znajdowało się w odległości 19 mm od badanej folii. Naczynka z wodą zamykano metalową pokrywką z gumową uszczelką. Następnie naczynka ważono z dokładnością do 0,0001 g i umieszczono w eksykatorze o RH 50 ± 2%. Eksykator wraz z naczynkami wstawiono do cieplarki powietrznej o temperaturze 25 ± 2°C. Ubytek masy naczynek określano co godzinę przez 8h. Pomiary każdej próby wykonano w trzech powtórzeniach.

Z zależności ubytku masy od czasu sporządzono krzywe. Współczynnik nachylenia krzywych obliczono metodą najmniejszych kwadratów z równania regresji liniowej (współczynnik korelacji > 0,989)

Stały przepływ pary wodnej w jednostce czasu przez jednostkową powierzchnię folii (WVTR) obliczono ze wzoru:

$$WVTR = Z/A \qquad [g \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}]$$

gdzie:

Z – współczynnik nachylenia prostej [g/h]

A – powierzchnia folii, przez którą przenikała para wodna [$m^2$]

WVP wyrażono jako szybkość przenikania 1 g pary wodnej przez folię o grubości 1 mm i powierzchni 1 $m^2$ w ciągu 1h wywołaną różnicą ciśnień po obu stronach folii w temperaturze 25°C.

$$WVP = WVTR \cdot L/3{,}168 \cdot (RH_1 - RH_2) \quad [g \cdot mm \cdot (kPa \cdot h \cdot m^2)^{-1}]$$

gdzie:

L – grubość folii [mm]

3,168 – prężność pary wodnej nad czystą wodą w temperaturze 25°C [kPa]

$RH_1$ – wilgotność względna wewnątrz naczynka pomiarowego wyrażona jako ułamek

$RH_2$ – wilgotność względna na zewnątrz folii wyrażona jako ułamek

Wilgotność względną wewnątrz naczynka przyjęto jako 1, a wilgotność względną na zewnątrz naczynka wynosiła 0,5289 i odpowiadała wilgotności względnej powietrza nad nasyconym roztworem azotanu(V) magnezu w stanie równowagi (PN-EN ISO 12571).

### 6.3.5 **Określenie właściwości fizykochemicznych folii**

Określenie oddziaływań pomiędzy polimerami o różnej budowie chemicznej oraz rodzaj wiązań powstających w wyniku modyfikacji przeprowadzono przy wykorzystaniu spektroskopii w podczerwieni. Strukturę nanokompozytowych folii opisano na podstawie analizy rentgenograficznej. Właściwości termiczne folii oceniono na podstawie analizy termograwimetrycznej oraz skaningowej kalorymetrii różnicowej. Wszystkie próbki kondycjonowano przed analizą przez 7 dni w eksykatorze zawierającym żel krzemionkowy.

**Rozpuszczalność folii**

Przed pomiarem z folii wycięto kwadraty o wymiarach 30x30 mm. Kwadraty o znanej masie zawieszono w 10 $cm^3$ wody destylowanej. Całość wstrząsano w łaźni wodnej o temperaturze 25°C przy 40 obr/min przez 24 h. Następnie roztwór przesączono przez watę. Z przesączu pobrano 5 $cm^3$ roztworu do krystalizatora o znanej masie i zważono. Tak przygotowaną próbkę

suszono przez 24 h w temperaturze 105°C, ważno, ponownie suszono przez 24 h i ponownie ważono. Rozpuszczalność folii (%) została obliczona na podstawie wzoru

$$R = [(m_f - m_n)/m_f] \times 100\%$$

gdzie:

R - rozpuszczalność foli [%]

$m_f$ - masa foli [mg];

$m_n$ - masa foli, która nie uległa rozpuszczeniu w 10 ml wody, podczas 24 godzin w 25°C [mg].

*Analiza FT-IR*

Absorpcję promieniowania w zakresie 500-4000 $cm^{-1}$ przez badane próbki folii, ekstraktów owocowych i nanonapełniaczy wyznaczono z rozdzielczością 4 $cm^{-1}$ przy ilości skanów 128. Spektometr i przystawkę ATR czyszczono przed pomiarem suchym azotem w celu usunięcia pary wodnej.

*Analiza X-ray*

Obrazy defrakcyjne próbek folii polimerowych przed i po modyfikacji nanonapełniaczami oraz samych nanonapełniaczy zarejestrowano w przedziale kątów $2\theta$ 0° - 60° w odstępach co 0,02°.

*Analiza TGA*

Termogramy TGA uzyskano ogrzewając w otwartych tygielkach korundowych próbki folii o masie 100 mg w temperaturze od 20 do 500ºC z pędkością 10º/min. Jako standard stosowano korund o Φ = 8 mm.

*Analiza DSC*

Termogramy DSC wyznaczono ogrzewając w szczelnie zamkniętych, aluminiowych tygielkach próbki folii o masie 3-7 mg, w zakresie temperatur 20-260°C z prędkością 10°C/min. Analizy przeprowadzono w 3-6 powtórzeniach.

### 6.3.6 **Określenie właściwości przeciwutleniających folii**

**Oznaczenie całkowitej aktywności przeciwutleniającej ekstraktów związków fenolowych z wytłoków powstających podczas prod**ukcji soków owocowych

Całkowitą aktywność soków i ekstraktów z wytłoków oznaczono za pomocą trzech

standardowych testów spektrofotometrycznych: dwóch wykorzystujących rodniki ABTS i DPPH oraz trzeciego - odczynnik Folina-Ciocalteu'a (F-C). Ilościowo całkowitą aktywność przeciwutleniającą próbek przeliczano korzystając z krzywych kalibracyjnych sporządzonych dla wzorcowego przeciwutleniacza – Troloxu (zakres stężeń 0,05-0,4 mg/mL) i wyrażano jako stężenie równoważników Troloxu (TE, mg/mL soku lub ekstraktu).

*Test F-C*

Zasada tej metody opiera się na spektrofotometrycznym pomiarze wzrostu absorbancji odczynnika F-C pod wpływem działania przeciwutleniacza. Odczynnik F-C zawiera wolframian sodu, molibdenian sodu, siarczan(VI) litu, wodę bromową oraz kwasy: solny i fosforowy. W wyniku działania przeciwutleniaczy następuje redukcja odczynnika F-C. Tym samym tworzy się $(PMoW_{11}O_{40})^{4-}$ o niebieskiej barwie, którego absorbancję oznacza się przy długości fali 750 nm (Cybul i in., 2008).

Handlowo dostępny odczynnik F-C bezpośrednio przed doświadczeniem rozcieńczano wodą w stosunku 1:9 (v/v). Mieszaninę reakcyjną stanowił rozcieńczony reagent (2 mL) oraz próbki soków, ekstraktów bądź roztworów Troloxu (0,2 mL). Pomiary absorbancji roztworów wykonywano przy długości fali równej 750 nm po 15 min od momentu zmieszania odczynnika F-C i próbek.

*Test DPPH*

Oznaczenie zdolności przeciwutleniającej danych próbek określa się na podstawie spadku absorbancji barwnego rodnika azowego DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylu). Roztwory DPPH charakteryzują się purpurową barwą oraz wykazują maksimum absorbancji przy 515 nm. W miarę postępu reakcji z przeciwutleniaczem następuje redukcja barwy roztworu z purpurowej na żółtą. Zmianę zabarwienia monitoruje się przy długości fali 515 nm (Cybul i in., 2008).

Bezpośrednio przed użyciem, 10 mg DPPH rozcieńczano za pomocą metanolu do uzyskania absorbancji roztworu równej 1,0 przy długości fali 515 nm. Do tak rozcieńczonego roztworu rodnika (2 mL) dodawano po 60 µL próbek soków, ekstraktów lub roztworów Troloxu. Po 15 min inkubacji absorbancję roztworów mierzono przy 515 nm.

*Test ABTS*

Zasadą tego testu jest pomiar spadku absorbancji barwnego kationorodnika ABTS wywołanego działaniem przeciwutleniacza, zawartego w próbce. Główny odczynnik - rodnik ABTS powstaje podczas reakcji z nadsiarczanem sodu tworząc niebieskozielony kationorodnik, który wykazuje maksimum absorbancji przy kilku długościach fal: 417, 645, 734 oraz 815 nm (Cybul i in., 2008).

Roztwór wyjściowy rodnika ABTS (7 mM) sporządzano w wodnym roztworze

nadsiarczanu sodu (2,45 mM) co najmniej 24 h przed planowanymi doświadczeniami. Bezpośrednio przed doświadczeniem roztwór wyjściowy ABTS rozcieńczano za pomocą wody tak by uzyskać absorbancję roztworu równą 0,7 przy długości fali 734 nm. Mieszaninę reakcyjną sporządzano poprzez zmieszanie 2 mL odpowiednio rozcieńczonego rodnika i 20 µL próbek soków, ekstraktów bądź roztworów Troloxu. Po 15 min inkubacji mierzono absorbancję roztworów przy 734 nm.

**Zbadanie właściwości przeciwutleniających folii**

Analizie poddano folie z żelatyny wieprzowej z dodatkiem soków z jarzębiny, jagody kamczackiej i aronii oraz folie z żelatyny rybnej, chitozanu i skrobi z dodatkiem ekstraktów wodnych z wytłoków jarzębiny, jagody kamczackiej i aronii.

Całkowitą aktywność badanych folii oznaczono za pomocą testu spektrofotometrycznego wykorzystującego rodnik ABTS. Aktywność przeciwutleniającą próbek obliczano korzystając z krzywych kalibracyjnych sporządzonych dla wzorcowego przeciwutleniacza – Troloxu (zakres stężeń 0,1-1,0 mg/mL) i wyrażano jako stężenie równoważników Troloxu (TE, mg/g folii). Roztwór wyjściowy rodnika ABTS (7 mM) sporządzano w wodnym roztworze nadsiarczanu sodu (2,45 mM) co najmniej 24 h przed planowanymi doświadczeniami. Bezpośrednio przed doświadczeniem roztwór wyjściowy ABTS rozcieńczano za pomocą wody tak by uzyskać absorbancję roztworu równą 0,7 przy długości fali 734 nm. Mieszaninę reakcyjną sporządzano poprzez zmieszanie 4,5 mL odpowiednio rozcieńczonego ABTS i około 10 mg próbek folii. Po 15 min inkubacji próby odwirowano w temperaturze 4$^{o}$C, a następnie mierzono absorbancję roztworów przy 734 nm.

### 6.3.7 **Określenie właściwości przeciwdrobnoustrojowych** folii

*Przygotowywanie zawiesin bakteryjnych*

50 µL 24-godzinnej hodowli bakterii *E. coli*, *P. fluorescens*, *S. aureus* i *L. innocua* przenoszono jałowo do 50 mL bulionu kazeinowo-sojowego i prowadzono hodowlę wstrząsaną przez 24 h w temperaturze 37°C i 30°C (w przypadku *P. fluorescens*). Po tym czasie komórki znajdowały się w stacjonarnej fazie wzrostu.

***Określenie przeciwdrobnoustrojowych właściwości folii metodą dyfuzyjną z wykorzystaniem krążków folii***

100 µL zawiesiny bakterii zawierającej $10^{4}$ komórek/ml posiewano powierzchniowo na podłoże agarowe kazeinowo-sojowe. Na posianym podłożu umieszczono krążki badanych folii o średnicy

2,2 cm. Następnie płytki inkubowano przez 24 h w temperaturze 37 i 30 °C (w przypadku *P. fluorescens*). Po inkubacji liczono kolonie obecne pod powierzchnią folii.

***Określenie przeciwdrobnoustrojowych właściwości folii metodą** wg Ko i in. (2001)*

Hodowlę bakterii – 50 µL (o stężeniu $10^5$ komórek/ml) nanoszono na badane krążki z folii (o średnicy 2,2 cm i masie ok. 0,02 g) i inkubowano przez 1 i 24 h w temperaturze pokojowej. Po tym czasie folię przenoszono ilościowo do 0,98 mL 1 % wody peptonowej i dokładnie mieszano. Z przygotowanych rozcieńczeń dziesiętnych wykonywano posiew powierzchniowy. Płytki inkubowano przez 24 h w temperaturze 37 °C i 30 °C (w przypadku *P. fluorescens*). Po inkubacji liczono kolonie i obliczano średnią liczbę bakterii w 1 mL próby z trzech równoległych doświadczeń.

Wyniki przedstawione w tabelach są wartościami średnimi z trzech równoległych doświadczeń.

### 6.3.8 Opracowanie statystyczne wyników

Wyniki doświadczalne opracowano z użyciem programu Statgraphics 2.1 (Statistical Graphics Corporation, USA) za pomocą analizy wariancji z klasyfikacją jednoczynnikową dla poziomu istotności $p<0,05$.

# 7 Wyniki

## 7.1 **Folie jednoskładnikowe**

### 7.1.1 **Właściwości mechaniczne**

W Tabeli 6 zestawiono właściwości mechaniczne jednoskładnikowych folii na bazie żelatyny, skrobi i chitozanu – polimerów, które w kolejnym etapie badań wykorzystano do formowania folii dwuskładnikowych. Spośród otrzymanych jednoskładnikowych folii najlepsze właściwości mechaniczne wykazywały folie chitozanowe. Naprężenie przy zerwaniu tych folii było o 220 i 72% wyższe, odpowiednio, od folii ze skrobi i żelatyny. Natomiast maksymalne wydłużenie względne przy zerwaniu było co prawda wyższe o 97 i 134% w stosunku do folii skrobiowych i żelatynowych, jednak według Krochty i De Mulder-Johnston (1997) nadal nie mieściło się w zakresie folii o umiarkowanych właściwościach mechanicznych.

Rodriguez i in. (2006), stosując skrobię ziemniaczaną otrzymali folie o wartościach $\sigma$ i $\varepsilon$ wynoszące odpowiednio 44,1 MPa i 5,9 %. Obie wartości były wyższe o ok. 50% od uzyskanych w pracy, co mogło być spowodowane zastosowaniem innych warunków kondycjonowania prób oraz większej prędkości przesuwu głowicy podczas oznaczania właściwości mechanicznych. Szczególnie trudne jest porównanie wyników uzyskanych dla folii chitozanowych z danymi literaturowymi, gdyż na wartości te wpływa stężenie i stopień deacetylacji polimeru. Stosowane są też odmienne sposoby rozpuszczania polimeru i warunki przygotowania folii. Wartości $\sigma$ i $\varepsilon$ folii chitozanowych zamieszczone w dostępnym piśmiennictwie mieszczą się w zakresach, odpowiednio, 13 – 95 MPa i 4 – 21% (Rivero i in., 2009, Kerch i Korkhov, 2011). Uzyskane przez Chiou i in. (2009) wartości $\sigma$ i $\varepsilon$ dla folii żelatynowej z łososia atlantyckiego, wynoszą , odpowiednio, 51 MPa i 3,5%, i są porównywalne z otrzymanymi w pracy.

Tabela 6. Właściwości mechaniczne jednoskładnikowych folii.

| Folia | $\sigma$ [MPa][1] | $\varepsilon$ [%][1] |
|---|---|---|
| skrobiowa | $30,2^{A}$ | $3,8^{A}$ |
| żelatynowa | $56,0^{B}$ | $3,2^{A}$ |
| chitozanowa | $96,7^{C}$ | $7,5^{B}$ |

[1] Różne indeksy w kolumnie (A-C) oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$).

Modyfikacja skrobi solą sodową kwasu metakrzemowego i tetrahydroksocynkanem(II) sodu spowodowała pogorszenie właściwości mechanicznych otrzymanych z niej folii, w stosunku do folii ze skrobi niemodyfikowanej. Ze względu na nadmierną kruchość folii ze skrobi $S_{Si(kwas)}$

zbadanie właściwości mechanicznych tej folii nie było możliwe (Tabela 7). W dostępnym pismiennictwie brak jest danych o właściwościach tak modyfikowanych folii, dlatego niemozliwe jest porównanie otrzymanych wyników.

Tabela 7. Właściwości mechaniczne jednoskładnikowych folii na bazie skrobi modyfikowanej.

| Folia | **σ [MPa]**[1] | **ε [%]**[1] |
|---|---|---|
| skrobiowa | 30,2$^{A}$ | 3,8$^{A}$ |
| skrobiowa $S_{Si(sól)}$ | 10,9$^{B}$ | 2,0$^{B}$ |
| skrobiowa $S_{Si(kwas)}$ | nk | nk |
| skrobiowa $S_{Zn}$ | 23,4$^{A}$ | 2,8$^{AB}$ |

[1] Różne indeksy w kolumnie (A-B) oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$).
nk – nadmierna kruchość folii

### 7.1.2 **Właściwości barierowe**

W Tabeli 8 porównano WVP jednoskładnikowych folii na bazie skrobi, żelatyny i chitozanu. Największą barierowość wobec pary wodnej wykazywały te otrzymane ze skrobi, mimo, że były grubsze od folii żelatynowych. Grubość folii skrobiowych i chitozanowych była zbliżona. Rodríguez i in. (2006), otrzymali folie skrobiowe o WVP równej 1,5 g·mm/kPa·h·m$^2$, co jest wartością 3,5-krotnie większą od uzyskanej w pracy. Z kolei Chiou i in. (2009) otrzymali 2-krotnie wyższą wartości WVP dla folii żelatynowych, a Kołodziejska i Piotrowska (2007) 4-krotnie wyższą dla folii chitozanowych. Różnice w wartościach mogły wynikać z odmiennych stężeń roztworów foliotwórczych, sposobu ich przygotowania, a także grubości uzyskanych folii i wilgotności względnej, w której kondycjonowano próby.

Tabela 8. Właściwości barierowe jednoskładnikowych folii.

| Folia | Grubość folii [mm] | WVP [g·mm/kPa·h·m$^2$][1] |
|---|---|---|
| skrobiowa | 0,033-0,035 | 0,43$^{A}$ |
| żelatynowa | 0,026-0,028 | 0,52$^{B}$ |
| chitozanowa | 0,031-0,033 | 0,59$^{C}$ |

[1] Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy w kolumnie (A-C) oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$).

Chemiczna modyfikacja skrobi zwiększyła WVP otrzymanych folii o 30%, w stosunku do folii ze skrobi niemodyfikowanej (Tabela 9). Mogło to być spowodowane anionowym charakterem

wprowadzonych podstawników, łatwo wiążących wodę. Jednak López i in. (2008) wykazali, iż wprowadzenie podstawników acetylowych, nie wykazujących ładunku ujemnego, do skrobi kukurydzianej również pogorsza właściwości barierowe folii. Wartości WVP tych folii, kondycjonowanych przed pomiarem przy 75% RH wynosiły, w zależności od stopnia estryfikacji, 0,45÷0,61 g·mm/kPa·h·m$^2$. Zatem wprowadzenie nowych podstawników do łańcuchów polisacharydowych skrobi, bez względu na ich wypadkowy ładunek elektryczny, prawdopodobnie osłabia jej wewnętrzną strukturę, powodując lepsze wnikanie wody do jej wnętrza.

Tabela 9. Właściwości barierowe jednoskładnikowych folii na bazie skrobi modyfikowanej.

| Folia | Grubość folii [mm] | WVP [g·mm/kPa·h·m$^2$][1] |
|---|---|---|
| skrobiowa | 0,033 – 0,035 | 0,43$^A$ |
| skrobiowa $S_{Si(sól)}$ | 0,034 – 0,041 | 0,55$^B$ |
| skrobiowa $S_{Si(kwas)}$ | 0,040 | 0,61$^B$ |
| skrobiowa $S_{Zn}$ | 0,030 – 0,040 | 0,55$^B$ |

[1] Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy w kolumnie (A-B) oznaczają różnice istotne statystycznie (p<0,05).

### 7.1.3 **Rozpuszczalność**

Wśród niemodyfikowanych folii jednoskładnikowych, najmniejszą rozpuszczalnością w wodzie charakteryzowała się folia skrobiowa (Tabela 10). Podobne wyniki rozpuszczalności dla folii skrobiowej otrzymali Bertuzzi i in. (2007). Folia żelatynowa wykazywała 2-krotnie większą rozpuszczalność niż folia skrobiowa. Zbliżoną rozpuszczalność folii żelatynowych wykazali Carvalho i Grosso (2004) oraz Piotrowska i in. (2008). Folie chitozanowe rozpuszczały się niemal całkowicie z powodu kwaśnego środowiska. Piotrowska i in. (2008) wykazali, że w buforze o pH 6 folie chitozanowe rozpuszczają się już tylko w kilku procentach.

Tabela 10. Rozpuszczalność w wodzie niemodyfikowanych folii jednoskładnikowych.

| Folia | pH | R [%][1] |
|---|---|---|
| skrobiowa | 6,3 | 40,1 ± 0,53$^A$ |
| żelatynowa | 6,8 | 87,9 ± 0,81$^B$ |
| chitozanowa | 4,7 | 94,4 ± 3,03$^C$ |

[1]Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy w kolumnie (A-C) oznaczają różnice istotne statystycznie (p<0,05)

W wyniku modyfikacji skrobi, zarówno metakrzemianem, jak i tetrahydroksocynkanem(II) sodu, rozpuszczalność folii skrobiowej wzrosła o ok. 20-30% (Tabela 11). Najprawdopodobniej spowodowały to anionowe podstawniki w skrobi, które zwiększyły jej hydrofilowość. Ze względu na nadmierną kruchość folii ze skrobi $S_{Si(kwas)}$ zbadanie rozpuszczalności tej folii nie było

możliwe. W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych o rozpuszczalności folii ze skrobi modyfikowanej zastosowanymi metodami.

Tabela 11. Rozpuszczalność w wodzie jednoskładnikowych folii na bazie skrobi modyfikowanej.

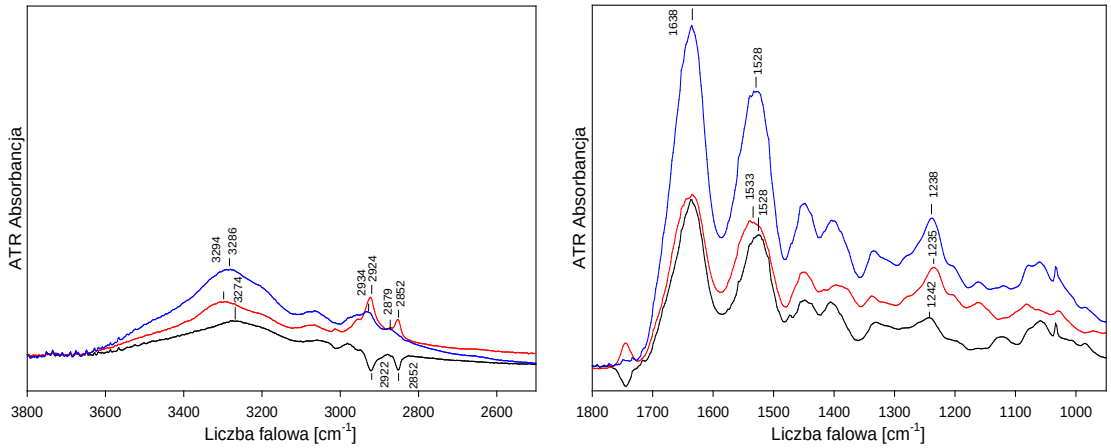
| Folia | pH | R [%][1] |
|---|---|---|
| skrobiowa | 6,3 | $40,1 \pm 0,53^{A}$ |
| skrobiowa $S_{Si(sól)}$ | 11,4 | $52,0 \pm 3,21^{B}$ |
| skrobiowa $S_{Si(kwas)}$ | 7,0 | nk |
| skrobiowa $S_{Zn}$ | 11,8 | $49,7 \pm 2,76^{B}$ |

[1]Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy w kolumnie (A-B) oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$)
nk – nadmierna kruchość folii

### 7.1.4 Analiza widm FT-IR

**Widmo jednoskładnikowej folii żelatynowej**

Jak wskazują dane literaturowe widma FT-IR żelatyny wyekstrahowanej ze zwierząt różnego pochodzenia są podobne i cechują się pasmami absorpcyjnymi charakterystycznymi dla wiązań peptydowych: pasmem amidowym A w zakresie liczb falowych 3600-3100 $cm^{-1}$, które odpowiada głównie drganiom rozciągającym wiązania N–H, ale też O–H, oraz pasmami amidowym I, amidowym II i amidowym III, o liczbach falowych odpowiednio przy ok. 1638, 1533 i 1235 $cm^{-1}$. Pasmo amidowe I przypisywane jest głównie drganiom rozciągającym wiązania C=O, pasmo amidowe II odpowiada sprzężonym drganiom zginającym wiązania N–H i rozciągającym wiązania C–N, a pasmo amidowe III pochodzi głównie od drgań rozciągającym wiązania C–N i drgań zginających wiązania N–H (Kong i Yu, 2007; Li i in., 2006; Muyonga i in., 2004). Na Rysunku 4, w widmie żelatyny rybnej wykorzystanej do formowania folii, poza pasmami amidowymi występowało dodatkowe pasmo odpowiedzialne za asymetryczne i symetryczne drgania rozciągające wiązania C–H w grupach $CH_2$. Pojawiło się ono przy liczbach falowych 2924 i 2852 $cm^{-1}$.




Rysunek 4. Różnicowe widmo FT-IR (—) powstałe po odjęciu od widma folii żelatynowej (—) widma żelatyny (—).

Widmo folii żelatynowej, w stosunku do widma żelatyny, charakteryzowało się zwiększoną intensywnością wszystkich pasm amidowych oraz obniżoną intensywnością pasma odpowiadającego drganiom C–H w grupach $CH_2$ (Rysunek 4). Zwiększonej intensywności pasm amidowych towarzyszyły w widmie różnicowym dodatnie piki. W paśmie amidowym A, które w widmie folii było ponadto przesunięte o 3 $cm^{-1}$ w kierunku niższych liczb falowych, był to pik przy 3274 $cm^{-1}$. W paśmie amidowym I, które nie zmieniło swojego położenia na skutek formowania z żelatyny folii, był to pik 1638 $cm^{-1}$, a w paśmie amidowym II i amidowym III, które uległy przesunięciu, odpowiednio, o 5 $cm^{-1}$ w kierunku niższych i o 3 $cm^{-1}$ w kierunku wyższych liczb falowych, były to piki przy, kolejno, 1528 i 1242 $cm^{-1}$.

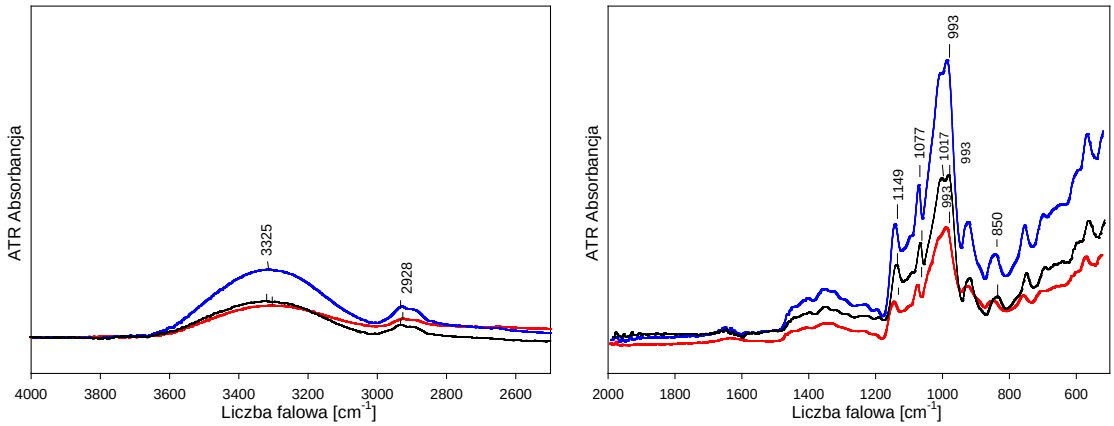
Według Yakimets'a i in. (2007) oraz Silva i in. (2008) zwiększona intensywność pasma amidowego A wskazuje na tworzenie się sieci wiązań wodorowych pomiędzy polipeptydowymi łańcuchami żelatyny po uformowaniu z niej folii. Mogły się one tworzyć zarówno między dwiema grupami aminowymi i między dwiema grupami hydroksylowymi, jak również między grupami aminowymi i hydroksylowymi. Yakimets i in. (2007) oraz Silva i in. (2008) wykazali, że w wiązaniach tych pośredniczą cząsteczki wody. Zwiększoną intensywność pasma amidowego I Payne i Vies (1988) tłumaczą przyłączaniem się, za pomocą wiązań wodorowych, cząsteczek wody do grup karboksylowych w łańcuchu polimeru. Także zwiększona intensywność pasma amidowego II i amidowego III oraz ich przesunięcia świadczą o hydratacji łańcuchów polipeptydowych żelatyny. Podobne zmiany obserwowali Yakimets i in. (2005) w foliach z żelatyny wołowej.

Z kolei obniżenie intensywności dwóch pików w paśmie odpowiadającym asymetrycznym i symetrycznym draganiom rozciągającym wiązania C–H oraz przesunięcie tych pików w widmie folii żelatynowej o 10 i 27 $cm^{-1}$ w kierunku wyższych liczb falowych towarzyszyły dwa ujemne piki

w widmie różnicowym, występujące przy 2922 i 2852 $cm^{-1}$. Obserwowane zmiany mogą wskazywać na zmianę struktury przestrzennej łańcuchów polipeptydowych żelatyny, jaka nastąpiła na skutek formowania folii, a którą mogła spowodować tworząca się sieć wiązań wodorowych pomiędzy tymi łańcuchami.

### Widmo jednoskładnikowej folii skrobiowej

W widmie FT-IR skrobi ziemniaczanej występowały dwa charakterystyczne pasma absorpcyjne (Rysunek 5). Pierwsze z nich, pojawiające się w zakresie liczb falowych 3600-3100 $cm^{-1}$, odpowiada drganiom rozciągającym wiązania O–H. Maksimum tego pasma przy 3325 $cm^{-1}$ świadczy o powiązaniu grup hydroksylowych wiązaniami wodorowymi. Drugie charakterystyczne pasmo to pasmo sacharydowe, występujące w zakresie 1200-800 $cm^{-1}$, z maksimami znajdującymi się przy liczbach falowych: 1149, 1077, 993 oraz 852 $cm^{-1}$. Odpowiadają one drganiom, odpowiednio, rozciągającym wiązania C–O, zginającym wiązania C–O–H, zginającym wiązania C–O oraz symetrycznym drganiom rozciągającym ugrupowania C–O–C (van Soest i in., 1995; van Soest, 2004).



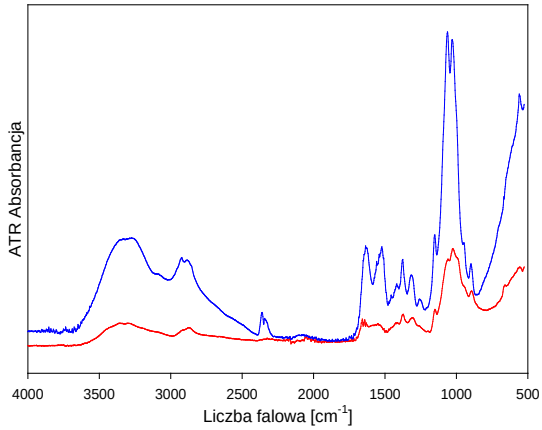

Rysunek 5. Różnicowe widmo FT-IR (—) powstałe po odjęciu od widma folii skrobiowej (—) widma skrobi (—).

Po utworzeniu ze skrobi folii żadne z charakterystycznych pasm w jej widmie nie zmieniło swojego położenia, ale cechowały się one znacznie większą intensywnością (Rysunek 5). Obserwacje te potwierdziły dodatnie piki w widmie różnicowym, występujące przy tych samych, co w widmie skrobi i folii skrobiowej, liczbach falowych (Rysunek 5). Według Liu i in. (2002) zwiększona intensywność pasm absorpcyjnych w widmie skrobi jest wynikiem powstawania dodatkowych wiązań wodorowych, za pomocą których do łańcuchów polisacharydowych polimeru przyłączone zostają cząsteczki wody. Inną, obserwowaną na Rysunku 5, różnicą świadczącą o zmianach w strukturze polimeru po utworzeniu z niego folii, była zmiana kształtu

pasma sacharydowego. W widmie różnicowym przejawiło się to rozszczepieniem jego maksimum, występującym w widmie skrobi przy 993 $cm^{-1}$, na dwa piki przy liczbach falowych 993 i 1017 $cm^{-1}$. Pierwszy z pików, związany z drganiami zginającymi wiązania C–O, jest bardzo wrażliwy na zawartość wody w skrobi i może świadczyć o przyłączeniu się jej cząsteczek do łańcuchów polisacharydowych polimeru za pomocą wiązań wodorowych (van Soest i in., 1994). Drugi pik, pojawiający się przy 1017 $cm^{-1}$, według Liu i in. (2002) oraz Sevenous i in. (2002) jest związany z amorficzną strukturą skrobi. Jego pojawienie się świadczy o zwiększeniu się udziału tej struktury po utworzeniu folii.

**Widmo jednoskładnikowej** folii chitozanowej

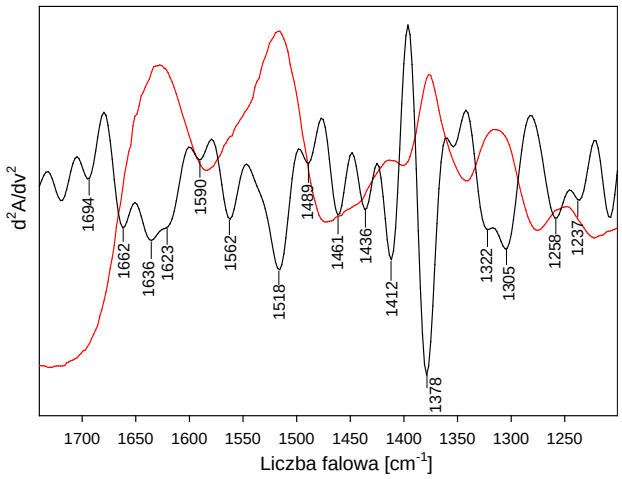
W widmie FT-IR chitozanu o stopniu SD 73% można było zaobserwować szerokie pasmo w zakresie liczb falowych 3600-3100 $cm^{-1}$, które jest charakterystyczne dla drgań rozciągających wiązań N–H i O–H (Rysunek 6). Ponadto, pasma widoczne przy liczbach falowych 1635, 1522 i 1315 $cm^{-1}$, przypisywane odpowiednio pasmom amidowemu I, amidowemu II i amidowemu III potwierdziły, że chitozan był produktem tylko częściowej deacetylacji chityny (Kumirska i in., 2010). Świadczy o tym szczególnie pasmo amidowe I, obecne w widmie na skutek drgań rozciągających wiązania C=O, ponieważ wskazuje ono na obecność ugrupowania $CH_3$–C=O w chitozanie. Według Kasaai (2008) podczas postępującej N-deacetylacji chityny intensywność tego pasma stopniowo się zmniejsza, a aminowego, występującego zwykle przy 1590 $cm^{-1}$, zwiększa, wskazując na rosnącą przewagę grup $NH_2$ nad ugrupowaniem $CH_3$–C=O. Na Rysunku 6 można zaobserwować, że pasmo przy 1522 $cm^{-1}$, odpowiedzialne za drgania rozciągające wiązania N–H, wykazuje nieco większą intensywność niż pasmo amidowe I, jednak występuje ono przy niższej liczbie falowej niż ma to zwykle miejsce w przypadku drgań rozciągających w grupach $NH_2$ chitozanu. Poza pasmami amidowymi, widmo chitozanu charakteryzowało się również wyraźnym pasmem sacharydowym występującym, tak jak w przypadku widma skrobi, w zakresie liczb falowych 1200-800 $cm^{-1}$ (Rysunek 6).




Rysunek 6. Widmo FT-IR chitozanu (—) i folii chitozanowej (—).

Podobnie jak w przypadku widm folii żelatynowej i skrobiowej, widmo folii chitozanowej różniło się od widma chitozanu większą intensywnością poszczególnych pasm, które nie zmieniały swojego położenia po uformowaniu z polimeru folii (Rysunek 6). Przyjeto więc, że także w tym przypadku świadczy to o hydratacji polimeru wskutek tworzenia się folii.

Zastosowanie procedury drugiej pochodnej do widma folii chitozanowej umożliwiło ponadto rozwinięcie pasma amidowego II w jego trzy składowe (Rysunek 7). Ich minima pojawiły się w drugiej pochodnej widma przy liczbach falowych 1590, 1562 i 1518 $cm^{-1}$. Według Osman'a i Arof'a (2003) oraz Ritthidej'a i in. (2002) pierwsze i trzecie z tych minimów są związane z drganiami rozciągającymi wiązania N–H w grupach aminowych, występujących odpowiednio w wolnej $–NH_2$ i protonowanej $–NH_3^+$ formie, natomiast drugie jest odpowiedzialne za drgania zginające wiązania N–H i rozciągające wiązania C–N w ugrupowaniu acetamidowym. Według Mathew i in. (2006) jonizacja pierwszorzędowych grup aminowych w kwaśnym środowisku umożliwia rozpuszczanie chitozaniu.




Rysunek 7. Widmo FT-IR chitozanu (—) oraz jego druga pochodna (—) zarejestrowane w zakresie 1750 – 1200 $cm^{-1}$.

Inną różnicą obserwowaną pomiędzy widmem folii i widmem polimeru było rozszczepienie maksimum pasma sacharydowego, widocznego w widmie chitozanu przy liczbie falowej 1025 $cm^{-1}$, na dwa piki widoczne w widmie folii chitozanowej przy 1063 i 1030 $cm^{-1}$. Podobnie jak w przypadku folii skrobiowej, rozszczepienie to może świadczyć o zmianie struktury krystalicznej polimeru po utworzeniu z niego folii.

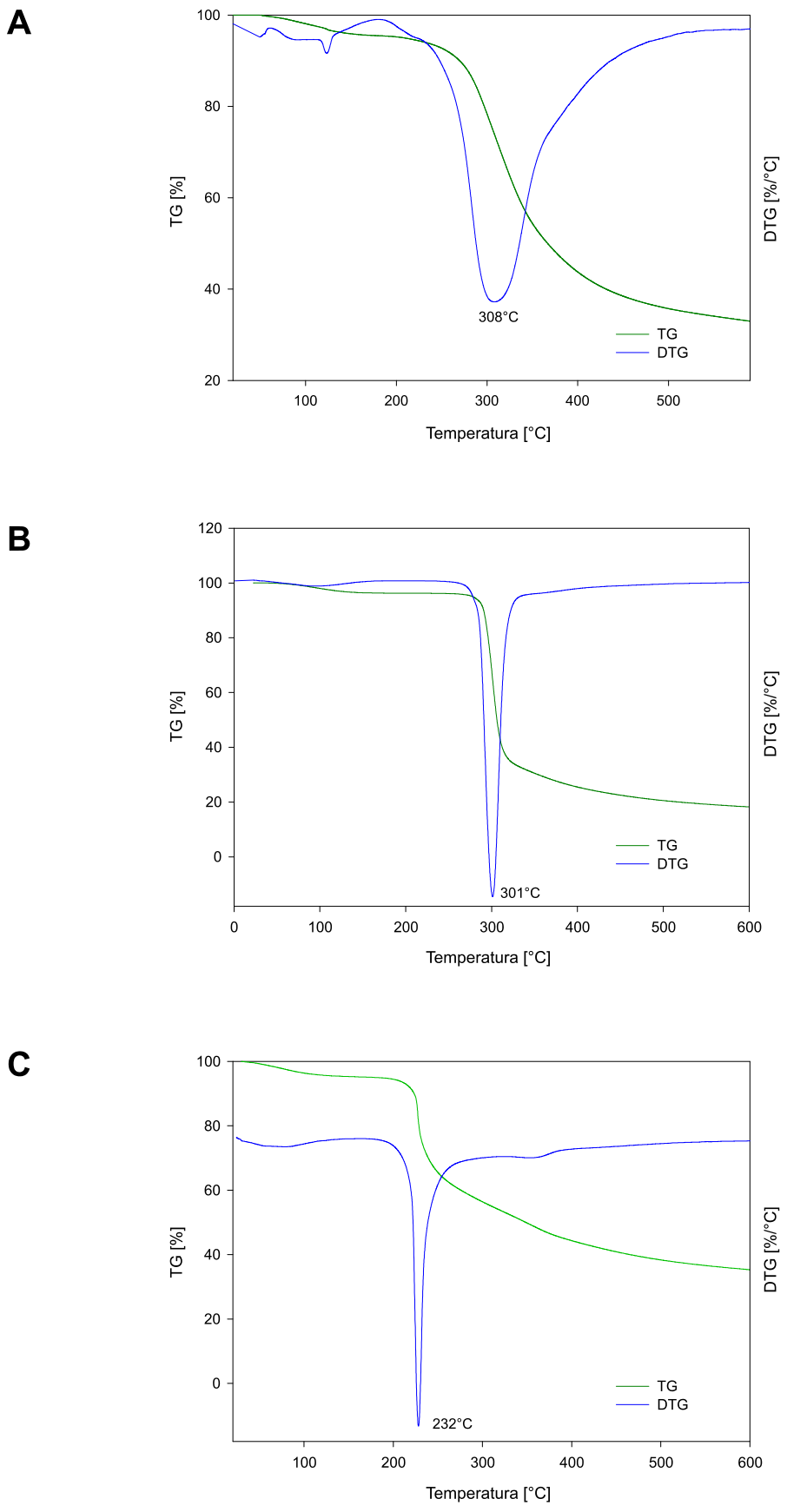
### 7.1.5 **Właściwości termiczne** folii (TGA i DSC)

Podczas ogrzewania wszystkie badane folie charakteryzowały się stopniowym ubytkiem masy (Tabela 12). Folia żelatynowa w zakresie temperatur 25-150°C i 200-500°C traciła odpowiednio ok. 5 i 60% masy, i wykazywały w tych zakresach endotermiczne piki, pierwszy przy 123°C, a drugi przy 308ºC (Tabela 12, Rysunek 8a). Podobny ubytek masy w zakresie temperaturowym 20-150ºC i 200-400ºC wykazywały folie skrobiowe i chitozanowe. W pierwszym zakresie temperatur obie traciły 5% masy poczatkowej, natomiast w drugim 66% (folia skrobiowa) i 50% (folia chitozanowa) (Tabela 12). Krzywe DTG folii skrobiowej i chitozanowej w pierwszym zakresie temperaturowym miały endotermiczny pik przy, odpowiednio, 96 i 80ºC, następnie w drugim zakresie – endotermiczny pik przy odpowiednio 301 i 232% (Rysunek 8b,c).

Pierwsze endotermiczne piki krzywych DTG odzwierciedlają stan wody utrzymywanej przez folie, najprawdopodobniej zaadsorbowanej na ich hydrofilowej powierzchni, natomiast drugie – są temperaturami rozkładu tych folii. Spośród jednoskładnikowych folii najbardziej stabilną termicznie i najsilniej utrzymującą wodę była folia żelatynowa, natomiast najmniej stabilną i najsłabiej utrzymującą wodę – folia chitozanowa. Martins i in. (2012), badając folie chitozanowe na bazie chitozanu o SD 95%, poza obserwowanymi na Rysunku 8c pikami, wykazali ponadto obecność piku, leżącego w zakresie 140-220°C. Według autorów związany był on z uwalnianiem amoniaku pochodzącego od grup $NH_2$ chitozanu. Brak takiego piku na termogramie przedstawionym na Rysunku 8c może wynikać z uzycia chitozanu o mniejszym stopniu deacetylacji (SD 73%), stąd zawierającego mniejszą ilość grup $NH_2$, zdolnych do uwolnienia amoniaku.

Tabela 12. Właściwości termiczne jednoskładnikowych folii z polimerów naturalnych, wyznaczona na podstawie termogramów TGA.

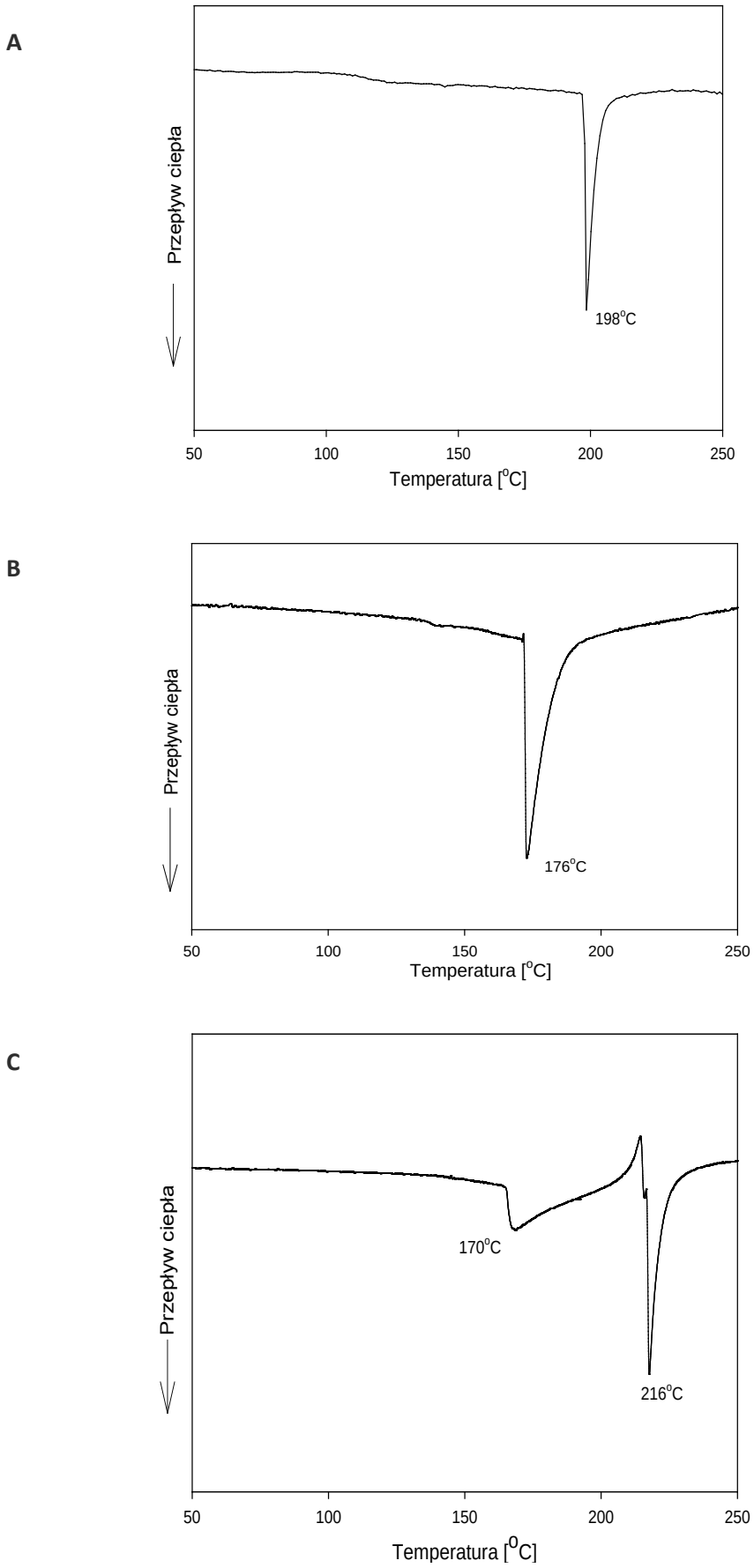
| Folia | Zakres temperatur [°C] | Ubytek masy [%] | DTG [°C] |
|---|---|---|---|
| żelatynowa | 25 – 150 | 6 | 123 |
| | 200 – 500 | 60 | 308 |
| skrobiowa | 20 – 150 | 5 | 96 |
| | 200 – 400 | 66 | 301 |
| chitozanowa | 20 – 150 | 5 | 80 |
| | 200 – 400 | 50 | 232 |




Rysunek 8. Termogram TGA folii (A) żelatynowaj, (B) skrobiowej i (C) chitozanowej. Krzywa: TG (—), wskazuje na zmianę masy w funkcji temperatury, a krzywa DTG (—), jest pochodną krzywej TG.

Na termogramie DSC folii żelatynowej zaobserwowano dwie przemiany jakim folia ta uległa podczas ogrzewania do 260°C. Pierwsza z nich, której temperaturę wyznaczono z punktu przegięcia krzywej termicznej po zawężeniu temperatury do 80-150ºC, zachodziła w temperaturze ok. 116°C i określała $T_g$ folii, a druga, która wyznaczono na podstawie endotermicznego piku krzywej termicznej, następowała w temperaturze ok. 198°C i określała jej temperaturę topnienia ($T_m$) (Rysunek 9a). Procesowi topnienia folii żelatynowej, charakteryzującemu przejście fazowe heliks-kłębek statystyczny, towarzyszyło wydzielanie ciepła $\Delta H_m$ równe 59 J/g. Jego ilość wyznaczono graficznie jako pole powierzchni pod pikiem. Wyznaczone $T_g$ i $T_m$ folii żelatynowej były o 62 i 121°C wyższe niż wykazali to Chiou i in. (2009) dla folii z żelatyny ze skór łososia, natomiast $\Delta H_m$ wyższe o 38 J/g. Tak duże różnice wynikają z różnego sposobu kondycjonowania prób. Chiou i in. (2009) kondycjonowali próby przed analizą przy RH 50%, natomiast próby, których wyniki prezentuje Tabela 13, kondycjonowano przed analizą tak, aby uzyskać wartość RH zbliżoną do 0%. Według Sobral i Habitane (2001) $T_g$ mieści się w zakresie 50-100°C, gdy folie charakteryzują się wysoką zawartością wody, a wrasta nawet do 220°C, w przypadku folii wysuszonych w temperaturze 105°C.

Podczas ogrzewania folii skrobiowej w zakresie temperatur 50-300°C zachodziła przemiana endotermiczna, o czym na termogramie DSC świadczy wyraźny pik w 176°C, określający $T_m$ folii (Tabela 13, Rysunek 9b). Przemianie tej towarzyszyło ciepło ($\Delta H_m$) równe 73 J/g. Talja i in. (2006), dla folii ze skrobi ziemniaczanej, odnotowali $T_m$ równe 170°C lecz nie wyznaczyli $\Delta H_m$. $T_g$ folii skrobiowej badanej w pracy wynosiła 155°C (Tabela 13) i była o 65°C wyższa od $T_g$ wyznaczonej przez Lourdin i in. (1997), którzy kondycjonowali folie przed pomiarem przy RH 57%. Z kolei Mali i in. (2006) wykazali, że $T_g$ folii ze skrobi kukurydzianej i manioku, kondycjonowanej przed pomiarem przy RH 64%, wynosi, odpowiednio, 54 i 56ºC. Różne wartości $T_g$ wyznaczone przez różnych autorów wynikają nie tylko z innych warunków kondycjonowania prób przed analizą, $T_g$ skrobi wzrasta, gdy zawartość wody w niej maleje (Tseretely i in., 2004), ale też z różnej zawartości amylozy w skrobiach różnego, botanicznego pochodzenia.




Rysunek 9. Termogramy DSC folii: (A) żelatynowej, (B) skrobiowej, (C) chitozanowej.

Podczas ogrzewania folii chitozanowej w zakresie temperaturowym 50-300°C zaobserwowano trzy przemiany. Dwie z nich, zachodzące w temperaturze 170°C i 216°C, miały charakter endotermiczny i były, podobnie jak w przypadku folii skrobiowej czy żelatynowej, związane z procesem topnienia, zaś trzecia, o charakterze egzotermicznym związana była z relaksacją entalpową i prawdopodobnie dotyczyła procesu krystalizacji. Na krzywej nie zaobserwowano natomiast przemiany, którą można by uznać za przejście szkliste i wyznaczyć $T_g$ folii chitozanowej. Prawdopodobnie temperatura ta znajduje się w zakresie temperatur ujemnych (Sorbal i in., 2001). Ponadto, w dostępnym piśmiennictwie dotyczącym folii na bazie chitozanu, rezultaty badań DSC prezentowane są zwykle do temperatury 150°C, dlatego otrzymane wyniki trudno jest przedyskutować.

Tabela 13. Właściwości termiczne jednoskładnikowych folii z polimerów naturalnych, wyznaczone na podstawie termogramów DSC.

| Folia | Parametry topnienia[1] | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $T_g$ [°C] | $\Delta H_g$ [J/g] | $T_{m1}$ [°C] | $\Delta H_{m1}$ [J/g] | $T_{m2}$ [°C] | $\Delta H_{m2}$ [J/g] |
| żelatynowa | $116^A$ | - | $198^A$ | $59^A$ | - | - |
| skrobiowa | $155^B$ | - | $176^B$ | $73^B$ | - | - |
| chitozanowa | - | - | $170^C$ | $57^A$ | 216 | 77 |

[1]Wyniki są średnią z 3-6 powtórzeń. Różne indeksy w kolumnach oznaczają różnice istotne statystycznie $p<0,05$

### 7.1.6 Podsumowanie

Spośród zbadanych jednoskładnikowych folii bazie żelatyny, skrobi i chitozanu najlepsze właściwości mechaniczne wykazywały folie chitozanowe, najmniejszą przepuszczalność pary wodnej i rozpuszczalność folie skrobiowe, natomiast najbardziej stabilne termicznie były folie żelatynowe. Chemiczna modyfikacja skrobi pogorszyła właściwości mechaniczne i barierowe folii oraz zwiększyła ich rozpuszczalność.

## 7.2 Folie skrobiowo-**żelatynowe**

### 7.2.1 **Właściwości mechaniczne**

Tabela 14 przedstawia wartości σ i ε dwuskładnikowych folii skrobiowo-żelatynowych. Połączenie skrobi z żelatyną w stosunkach 1:1 i 1:2 (w/w), poprawiło wytrzymałość mechaniczną dwuskładnikowych folii w porównaniu do jednoskładnikowych, zarówno tych z żelatyny, jak i ze skrobi (Tabela 6). Wzrost udziału żelatyny w foliach (stosunek skrobi do żelatyny 1:2) skutkował ok. 40% wzrostem wartości σ w porównaniu z foliami o stosunku polimerów 1:1. Zwiększenie σ mogło być spowodowane lepszym oddziaływaniem żelatyny ze skrobią, gdy skrobia występowała w mniejszym stężeniu.

Dodatek plastyfikatora do folii wywołał stopniowe obniżenie wartości σ folii skrobiowo-żelatynowych (1:2, 1:1, w/w) oraz stopniowy wzrost wartości ε, przy czym przy większym udziale żelatyny tendencja ta miała miejsce powyżej 10% stężenia glicerolu (Tabela 14). Zastosowanie plastyfikacji folii skrobiowo-żelatynowej (1:2) glicerolem już w stężeniu 20% pozwoliło otrzymać wg Krochty i De Mulder-Johnston (1997) materiał o dobrych właściwościach mechanicznych. Natomiast w przypadku połączenia tych polimerów w stosunku 1:1 należało zwiększyć stężenie plastyfikatora do 30%.

Arvanitoyannis i in., (1997) dla plastyfikowanych 25% dodatkiem glicerolu folii skrobiowo-żelatynowych o stosunku polimerów 1:1, otrzymali σ równe 61 MPa i ε równe 2%. Wartość σ była wyższa, natomiast ε niższa, od wartości uzyskanych w pracy dla folii skrobiowo-żelatynowych plastyfikowanych glicerolem w zakresie 20-30%.

Tabela 14. Właściwości mechaniczne folii skrobiowo-żelatynowych o stosunku wagowym 1:1 i 1:2.

| Folia | Stężenie glicerolu[2] [%] | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | | 10 | | 20 | | 30 | |
| | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] |
| skrobiowo-żelatynowa (1:1) | 65,6 $^{aA}$ | 3,3 $^{aA}$ | 66,4 $^{aA}$ | 3,7 $^{aA}$ | 55,7 $^{bA}$ | 5,2 $^{aA}$ | 30,5 $^{cA}$ | 18,0 $^{bA}$ |
| skrobiowo-żelatynowa (1:2) | 89,9 $^{aB}$ | 3,2 $^{aA}$ | 68,4 $^{bA}$ | 5,3 $^{aA}$ | 30,9 $^{cB}$ | 34,9 $^{bB}$ | 21,0 $^{dB}$ | 34,0 $^{bB}$ |

[1] Różne indeksy oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$): w kolumnach (A-B) w zależności od stosunku polimerów, w wierszach (a-d) w zależności od stężenia plastyfikatora

[2] Stężenie w stosunku do suchej masy polimerów (w/w)

Wytłuszczone dane mieszczą się wg Krochty i De Mulder-Johnston (1997) w zakresie folii o umiarkowanych właściwościach mechanicznych.

Chemiczna modyfikacja skrobi pogorszyła właściwości mechaniczne folii skrobiowo-żelatynowych w stosunku do tych na bazie skrobi niemodyfikowanej. Obserwowane obniżenie wartości σ i ε było mniejsze w przypadku użycia skrobi cynkanowanej, a większe w przypadku skrobi krzemianowanej, z najniższymi wartościami obserwowanymi dla folii żelatynowej

połączonej ze skrobią $Si_{(kwas)}$ (Tabela 15). Powodem obniżenia obu wartości w przypadku tych ostatnich folii mógła być niejednorodność wytworzonego materiału.

Plastyfikacja folii skrobiowo-żelatynowych, w których użyto modyfikowanej skrobi, wywołała stopniowy spadek wartości $\sigma$, największy w przypadku folii ze skrobi $Si_{(sól)}$ oraz stopniowy wzrost wartości $\varepsilon$. Umiarkowane właściwości mechaniczne, jednocześnie $\sigma$ i $\varepsilon$, otrzymano dla folii na bazie skrobi modyfikowanej kwasem krzemowym i plastyfikowanej glicerolem w stężeniu 20%.

Tabela 15. Właściwości mechaniczne folii ze skrobi modyfikowanej w połączeniu z żelatyną (1:2).

| Folia | Stężenie glicerolu[2] [%] | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | | 10 | | 20 | | 30 | |
| | $\sigma$ [MPa][1] | $\varepsilon$ [%][1] | $\sigma$ [MPa][1] | $\varepsilon$ [%][1] | $\sigma$ [MPa][1] | $\varepsilon$ [%][1] | $\sigma$ [MPa][1] | $\varepsilon$ [%][1] |
| skrobiowo-żelatynowa | $89,9^{aA}$ | $3,2^{aA}$ | $68,4^{bA}$ | $5,3^{aA}$ | $30,9^{cA}$ | $34,9^{bA}$ | $21,0^{dA}$ | $34,0^{bA}$ |
| skrobiowo $S_{Si(sól)}$-żelatynowa | $38,8^{aB}$ | $1,8^{aB}$ | $25,1^{bB}$ | $3,8^{aB}$ | $3,6^{cB}$ | $130,2^{bB}$ | $3,0^{cB}$ | $88,7^{cB}$ |
| skrobiowo $S_{Si(kwas)}$-żelatynowa | $16,2^{aC}$ | $1,6^{aB}$ | $26,7^{bB}$ | $2,7^{aB}$ | $14,2^{aC}$ | $43,5^{bA}$ | $7,7^{cC}$ | $62,9^{cC}$ |
| skrobiowo $S_{Zn}$-żelatynowa | $47,4^{aB}$ | $3,0^{aA}$ | $25,5^{bB}$ | $3,3^{aB}$ | $7,5^{cD}$ | $33,0^{bA}$ | $7,8^{cC}$ | $98,8^{cB}$ |

[1] Różne indeksy oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$): w kolumnach (A-D) w zależności od rodzaju polimerów, w wierszach (a-d) w zależności od stężenia plastyfikatora
[2] Stężenie w stosunku do suchej masy polimerów (w/w)
Wytłuszczone dane mieszczą się wg. Krochty i De Mulder-Johnston (1997) w zakresie folii o umiarkowanych właściwościach mechanicznych

### 7.2.2 **Właściwości b**arierowe

Tabela 16 zawiera wartości WVP dwuskładnikowych folii skrobiowo-żelatynowych. Dodanie żelatyny do skrobi zwiększyło WVP nieplastyfikowanych folii skrobiowo-żelatynowych, w porównaniu z jednoskładnikową folią skrobiową (Tabela 8) z 0,43 do 0,52 i 0,66 g·mm/kPa·h·m$^2$, odpowiednio, dla połączeń skrobia-żelatyna 1:1 i 1:2 (Tabela 16). Plastyfikacja folii zwiększyła WVP dla połączeń składników 1:1 i z reguły nie wpłynęła znacząco na tę wartość po zwiększeniu udziału żelatyny w folii. Arvanitoyannis i in., (1997) otrzymali WVP równą 0,69 g·mm/kPa·h·m$^2$ dla folii skrobiowo-żelatynowej o stosunku polimerów 1:1, plastyfikowanych 25% glicerolem.

Tabela 16. Właściwości barierowe dwuskładnikowych folii skrobiowo-żelatynowych.

| Folia | WVP [g·mm/kPa·h·m$^2$][1] | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Stężenie glicerolu [%][2] | | | |
| | 0 | 10 | 20 | 30 |
| skrobiowo-żelatynowa (1:1) | $0,52^{aA}$ | $0,69^{cA}$ | $0,58^{bAB}$ | $0,64^{bcA}$ |
| skrobiowo-żelatynowa (1:2) | $0,66^{aB}$ | $0,64^{abA}$ | $0,52^{bA}$ | $0,66^{aA}$ |
| skrobiowo $S_{Zn}$-żelatynowa (1:2) | $0,50^{aA}$ | $0,65^{bA}$ | $0,56^{abAB}$ | $0,60^{abA}$ |
| skrobiowo $S_{Si(sól)}$-żelatynowa (1:2) | $0,60^{aAB}$ | $0,64^{abA}$ | $0,70^{bB}$ | $0,57^{aAB}$ |
| skrobiowo $S_{Si(kwas)}$- żelatynowa (1:2) | $0,56^{aAB}$ | $0,51^{bB}$ | $0,51^{bA}$ | $0,48^{bB}$ |

[1] Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$): w kolumnach (A-B) w zależności od połączeń polimerów, w wierszach (a-c) w zależności od stężenia plastyfikatora
[2] Stężenie w stosunku do suchej masy polimerów (w/w)

Cynkanowanie skrobi powodowało obniżenie WVP dwuskładnikowych folii skrobiowo-żelatynowych (1:2) o ok. 25% w stosunku do folii dwuskładnikowych na bazie skrobi niemodyfikowanej (Tabela 16), podczas gdy zastosowana modyfikacja chemiczna powodowała wzrost WVP jednoskładnikowych folii skrobiowych (Tabela 8 i 9). Dlatego zaobserwowane zmniejszenie WVP w foliach dwuskładnikowych może wskazywać na oddziaływania pomiędzy skrobią modyfikowaną, a żelatyną. Wpływ tych oddziaływań był na tyle silny, że przepuszczalność dwuskładnikowych folii na bazie skrobi cynkanowanej była nawet mniejsza niż jednoskładnikowej folii żelatynowej (Tabela 16 i 8). Krzemianowanie polimeru nie wpłynęło natomiast istotnie na barierowość tych folii (Tabela 16).

Plastyfikacja folii 10-30% (w/w) z żelatyny i skrobi modyfikowanej nie wpływała lub pogarszała właściwości barierowe otrzymanych folii. Wyjątek stanowiły folie na bazie skrobi modyfikowanej kwasem metakrzemowym i żelatyny, gdzie w zakresie badanych stężeń glicerolu uzyskano niewielkie polepszenie właściwości barierowych (Tabela 16).

### 7.2.3 **Rozpuszczalność**

Połączenie żelatyny ze skrobią zarówno w stosunku 1:1, jak i 1:2 wywołało obniżenie rozpuszczalności folii w wodzie odpowiednio o 45 i 24% w porównaniu z jednoskładnikową folią żelatynową (Tabela 10 i 17). Jest to prawdopodobnie spowodowane jedynie wiązaniami wodorowymi między składnikami folii, gdyż przy pH 6,6, jakie wykazywały roztwory folio twórcze, żelatyna ma wypadkowy ładunek zero, a cząsteczki skrobi są neutralne.

Wprowadzenie grup krzemianowych do struktury natywnej skrobi spowodowało podwyższenie pH roztworu foliotwórczego z 6,6 do 9,8 oraz zwiększenie rozpuszczalności wytworzonej folii skrobiowo-żelatynowej (Tabela 17). W tak wysokim pH zarówno cząsteczki skrobi, jak i żelatyny (pH>pI) miały wypadkowy ładunek ujemny, co prawdopodobnie wpływało na lepszą rozpuszczalność, a nie na łączenie się jej składników. Natomiast chemiczna modyfikacja skrobi tertahydroksocynkanem(II) sodu nie spowodowała zmiany rozpuszczalności dwuskładnikowych folii skrobiowo-żelatynowych (1:2), pomimo zwiększenia pH roztworu foliotwórczego do około 11.

W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych o rozpuszczalności folii ze skrobi modyfikowanej i żelatyny.

Tabela 17. Rozpuszczalność w wodzie folii skrobiowo-żelatynowych.

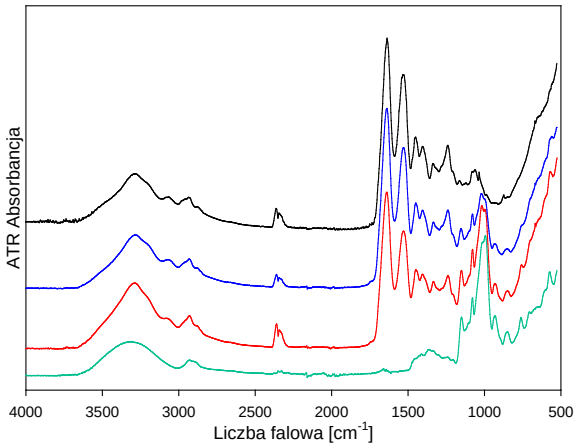
| Folia | pH | R [%][1] |
|---|---|---|
| skrobiowo-żelatynowa (1:1) | 6,6 | $48,7 \pm 2,46^{A}$ |
| skrobiowo – żelatynowa (1:2) | 6,6 | $66,4 \pm 0,90^{B}$ |
| skrobiowo $S_{Si(sól)}$ – żelatynowa (1:2) | 9,8 | $80,8 \pm 4,27^{C}$ |
| skrobiowo $S_{Zn}$ – żelatynowa (1:2) | 10,9 | $65,4 \pm 1,43^{B}$ |

[1]Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy w kolumnie (A-C) oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$).

### 7.2.4 Analiza widm FT-IR

Widma dwuskładnikowych folii ze skrobi i żelatyny wykazywały podobieństwo do widm poszczególnych składników folii (Rysunek 10, Tabela 18). Nie zaobserwowano w nich ani przesunięć poszczególnych pasm, ani też utworzenia nowego pasma. Jedyną różnicą w widmach folii o różnym udziale obu polimerów była zmiana intensywności pasm amidowego I i amidowego II w stosunku do intensywności pasma sacharydowego. Wraz ze wzrostem zawartości żelatyny w folii, intensywność pasm amidowych wzrosła, a pasma sacharydowego malała. W widmach różnicowych, zaprezentowanych na Rysunkach 11A i 12A, potwierdziły to ujemne piki w zakresie pasma amidowego I i amidowego II oraz dodatnie w zakresie pasma sacharydowego, a w widmach prezentowanych na Rysunkach 11B i 12B, wskazały na to dodatnie piki w zakresie pasm amidowych oraz ujemny w zakresie pasma sacharydowego. Podobne zależności w zmianie intensywności pasm amidowych i sacharydowych zaobserwowali Zhang i in. (2013), badając dwuskładnikową folię na bazie wysokoamylozowej skrobi kukurydzianej i żelatyny, o stosunku polimerów 2:1. Brak dodatkowych

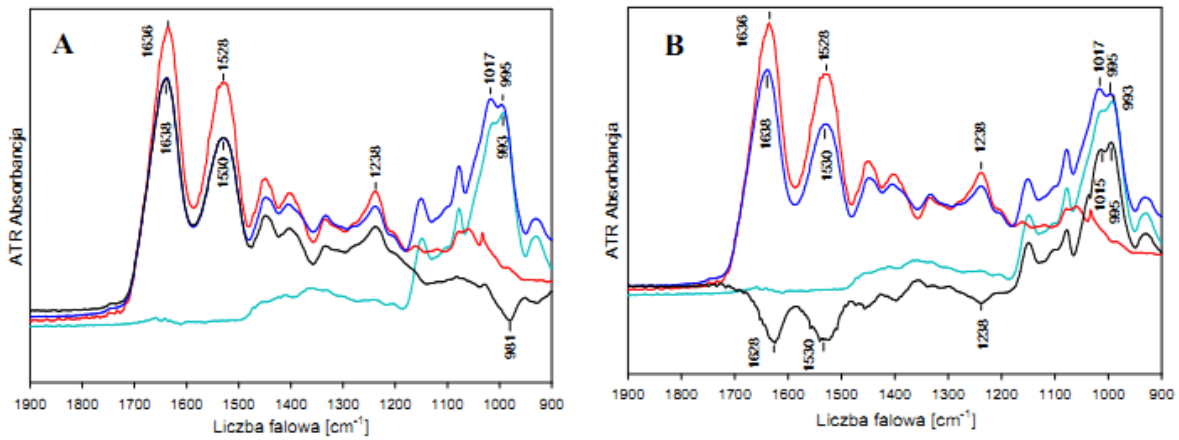
pasm oraz przesunięć autorzy tłumaczyli brakiem połączeń pomiędzy polimerami. Z kolei według Horn i in. (2011) oznacza to, że pomiędzy nimi występują oddziaływania elektrostatyczne.



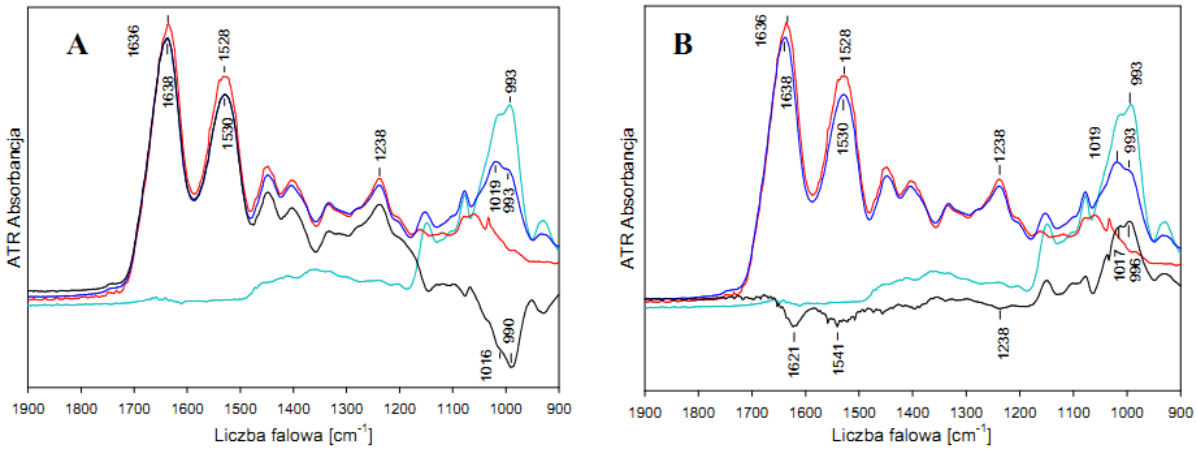

Rysunek 10. Widmo FT-IR folii skrobiowo-żelatynowej o stosunku polimerów 1:1 (—) i 1:2 (—). Dla porównania przedstawiono widma folii żelatynowej (—) i skrobiowej (—).

Tabela 18. Wpływ modyfikacji skrobi na charakterystykę pasm absorpcyjnych w widmach dwuskładnikowych folii skrobiowo-żelatynowych.

| Folia | Pozycja pasm [$cm^{-1}$] | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Amidowe A | Grup $CH_2$ | Amidowe I | Amidowe II | Amidowe III | Sacharydowe |
| żelatynowa | 3286 | 2955 | 1636 | 1528 | 1238 | - |
| skrobiowa | 3325 | 2928 | - | - | - | 993, 1077 |
| skrobiowo-żelatynowa (1:1) | 3289 | 2930 | 1638 | 1530 | 1238 | 995, 1017 |
| skrobiowo – żelatynowa (1:2) | 3282 | 2926 | 1638 | 1530 | 1238 | 993, 1019 |
| skrobiowa $S_{Si(kwas)}$ | 3316 | 2926 | - | - | - | 993,1013 |
| skrobiowa $S_{Si(sól)}$ | 3312 | 2926 | - | - | - | 993 |
| skrobiowa $S_{Zn}$ | 3290 | 2926 | - | - | - | 993 |
| skrobiowo $S_{Si(kwas)}$ – żelatynowa (1:2) | 3285 | 2933 | 1638 | 1528 | 1237 | 997,1020 |
| skrobiowo $S_{Si(sól)}$ – żelatynowa (1:2) | 3270 | 2926 | 1637 | 1523 | 1236 | 997,1024 |
| skrobiowo $S_{Zn}$ – żelatynowa (1:2) | 3281 | 2932 | 1646 | 1536 | 1242 | 994,1014 |

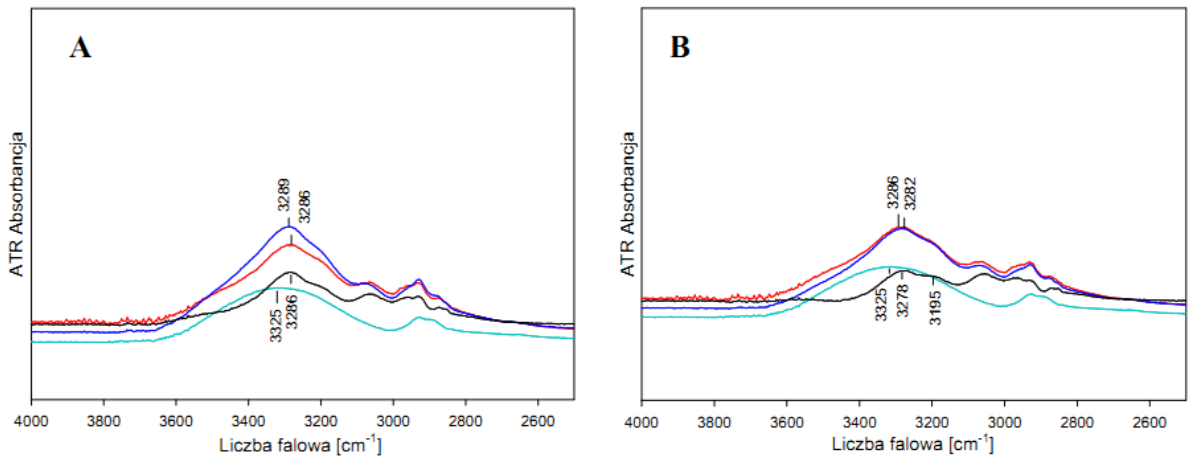



Rysunek 11. Różnicowe widmo FT-IR (—) w zakresie 1900 – 900 $cm^{-1}$ powstałe po odjęciu od widma dwuskładnikowej folii skrobiowo-żelatynowej (1:1) (—) widma jednoskładnikowej folii (A) skrobiowej (—), (B) żelatynowej (—).



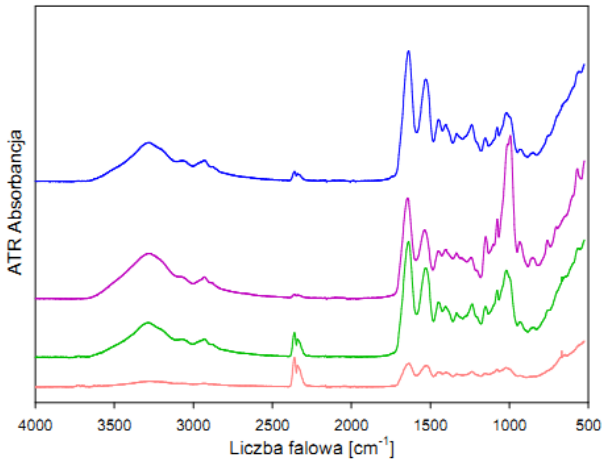

Rysunek 12. Różnicowe widmo FT-IR (—) w zakresie 1900 – 900 $cm^{-1}$ powstałe po odjęciu od widma dwuskładnikowej folii skrobiowo-żelatynowej (1:2) (—) widma jednoskładnikowej folii (A) skrobiowej (—), (B) żelatynowej (—).

Zwiększony udział żelatyny w folii powodował, że w widmie różnicowym w zakresie pasma amidowego A (Rysunek 13) wykształcił się dodatkowy pik przy liczbie falowej 3195 $cm^{-1}$. Jest on odpowiedzialny za drgania rozciągające wiązania O–H oraz N–H, które są powiązane wiązaniami wodorowymi (Szczepaniak, 2004). Prawdopodobnie wiązania te tworzyły się między atomami tlenu hydroksylowego, występującego w łańcuchach polisacharydowych skrobi, a atomem wodoru grupy aminowej, występującej w łańcuchach polipeptydowych żelatyny.

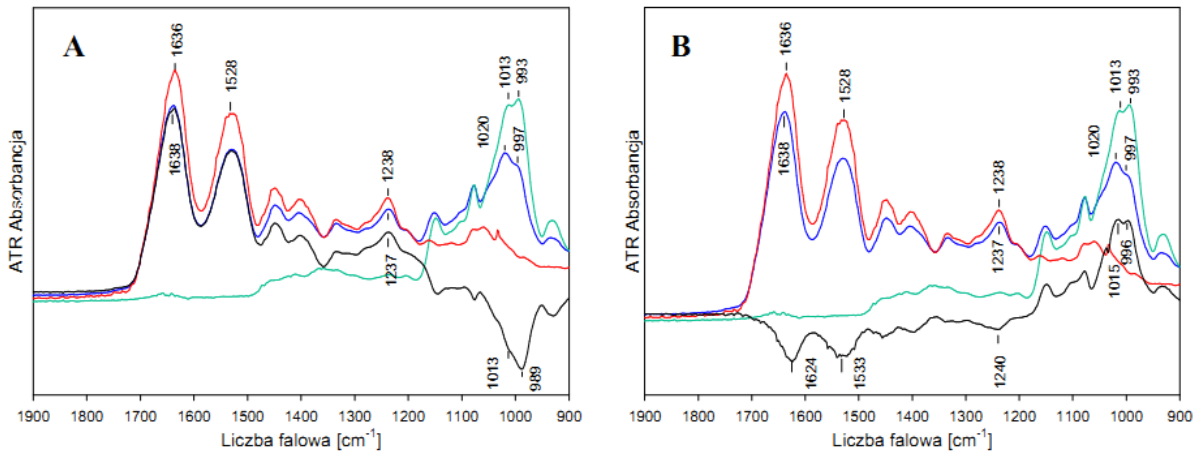



Rysunek 13. Różnicowe widmo FT-IR (—) w zakresie 4000 – 2500 $cm^{-1}$ powstałe po odjęciu widma jednoskładnikowej folii skrobiowej (—) od widma dwuskładnikowej folii skrobiowo-żelatynowej (—) o stosunku polimerów (A) 1:1, (B) 1:2. Dla porównania przedstawiono widmo folii żelatynowej (—).

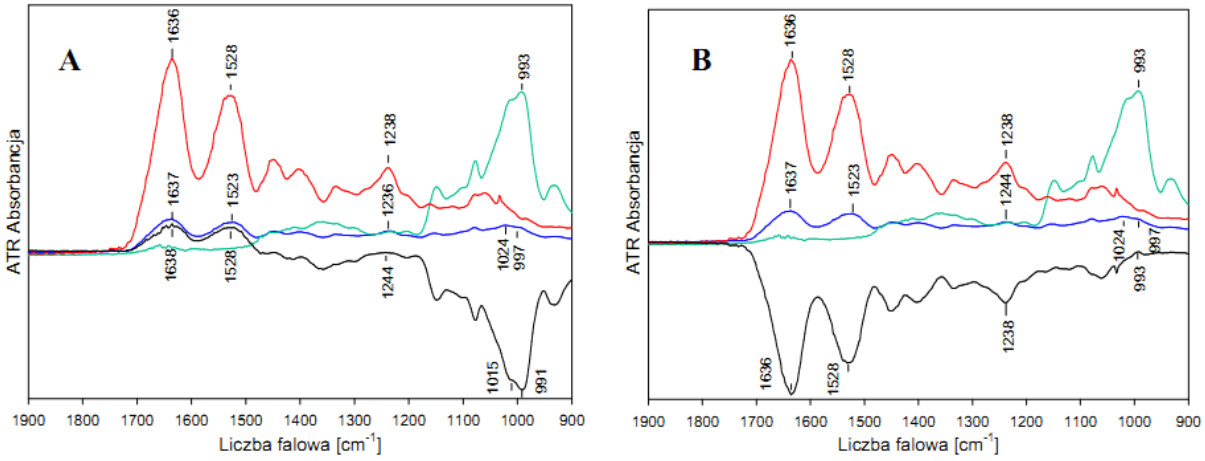
Modyfikacja skrobi kwasem metakrzemowym nie wywołała istotnych zmian w widmie dwuskładnikowej folii skrobiowo-żelatynowej (Rysunek 12, 14, 15). Natomiast w przypadku modyfikacji skrobi metakrzemianem sodu, minima, pojawiające się w widmie różnicowym w zakresie pasma amidowego I, amidowego II i amidowego III oraz sacharydowego (Rysunek 16), charakteryzowały się znacznie większą intensywnością niż te, które pojawiły się w widmach różnicowych folii na bazie skrobi niemodyfikowanej (Rysunek 12). Pasma amidowe I i amidowe II były ponadto przesunięte w stosunku do ich położenia w widmie folii na bazie skrobi niemodyfikowanej w kierunku niższych liczb falowych (Tabela 18). Obniżenie energii wiązań aminowych może wskazywać na osłabienie oddziaływań pomiędzy żelatyną a skrobią, jakie nastąpiło w wyniku modyfikacji polisacharydu metakrzemianem sodu.




Rysunek 14. Widmo FT-IR folii skrobiowo-żelatynowej (1:2) na bazie skrobi modyfikowanej kwasem krzemowym (—), metakrzemianem sodu (—) i tetrahydroksocynkanem (II) sodu (—). Dla porównania przedstawiono widma folii skrobiowo-żelatynowej (1:2) na bazie skrobi modyfikowanej (—).

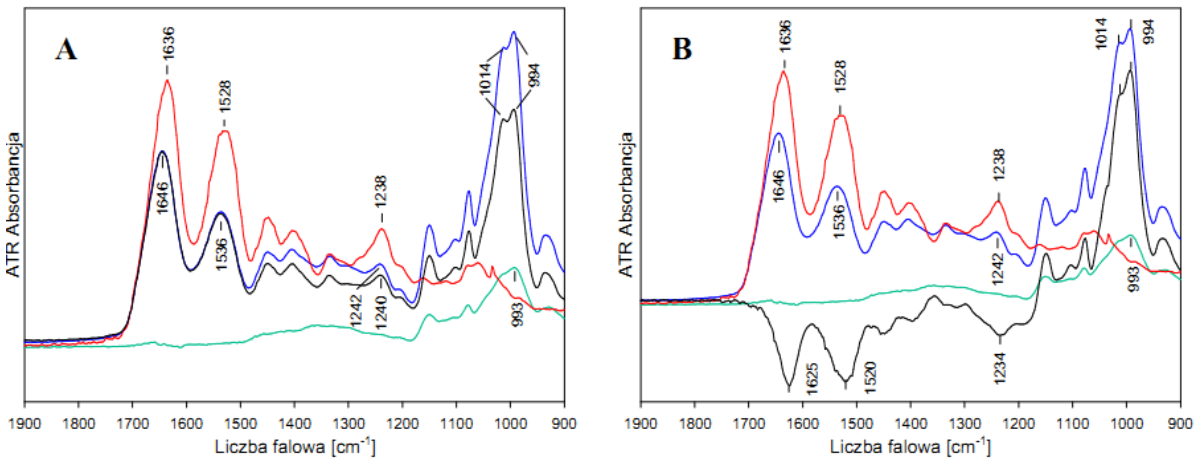



Rysunek 15. Różnicowe widmo FT-IR (—) w zakresie 1900 – 900 $cm^{-1}$ powstałe po odjęciu od widma dwuskładnikowej folii skrobiowo-żelatynowej (1:2) wykonanej na bazie skrobi modyfikowanej $S_{Si(kwas)}$ (—) widma jednoskładnikowej folii: (A) skrobiowej $S_{Si(kwas)}$ (—), (B) żelatynowej (—).




Rysunek 16. Różnicowe widmo FT-IR (—) w zakresie 1900 – 900 $cm^{-1}$ powstałe po odjęciu od widma dwuskładnikowej folii skrobiowo-żelatynowej (1:2) wykonanej na bazie skrobi modyfikowanej $S_{Si(sól)}$ (—) widma jednoskładnikowej folii: (A) skrobiowej $S_{Si(sól)}$ (—), (B) żelatynowej (—).

Różnice w widmach folii dwuskładnikowych wywołała również modyfikacja skrobi tetrahydroksocynkanem(II) sodu (Rysunek 17). W jej wyniku zwiększyła się w widmach intensywność pasma sacharydowego w stosunku do intensywności pasm amidowego I i amidowego II. W widmie różnicowym folii na bazie skrobi modyfikowanej potwierdza to maksimum w zakresie pasma sacharydowego (Rysunek 17A), w odróżnieniu od minimum występującego w tym paśmie w widmie folii na bazie skrobi niemodyfikowanej (Rysunek 12A). Przesunięcie pasma amidowego I i amidowego II w kierunku wyższych liczb falowych (Tabela 18), oznaczające podwyższenie energii wiązań aminowych, wskazuje ponadto na wzmocnienie oddziaływań pomiędzy żelatyną i skrobią w wyniku modyfikacji skrobi tetrahydroksocynkanem(II) sodu.




Rysunek 17. Różnicowe widmo FT-IR (—) w zakresie 1900 – 900 $cm^{-1}$ powstałe po odjęciu od widma dwuskładnikowej folii skrobiowo-żelatynowej (1:2) wykonanej na bazie skrobi modyfikowanej $S_{Zn}$ (—) widma jednoskładnikowej folii: (A) skrobiowej $S_{Zn}$ (—), (B) żelatynowej (—).

### 7.2.5 **Właściwości termiczne** folii (DSC)

Termogramy DSC dwuskładnikowych folii skrobiowo-żelatynowych nie różniły się między sobą. Ich krzywe termiczne przebiegały w ten sam sposób, co krzywe termiczne folii jednoskładnikowych, a jedynie ich minima przesuwały się w kierunku niższych temperatur (Tabela 19). Porównując właściwości termiczne dwuskładnikowych folii skrobiowo-żelatynowych o różnych stosunkach polimerów można było zaobserwować, iż większą stabilnością termiczną charakteryzowały się folie o stosunku polimerów 1:1, niż te o stosunku polimerów 1:2, co przejawiało się wyższą o 15°C temperaturą topnienia tych folii (Rysunek 19). Ponadto $T_m$ folii skrobiowo-żelatynowej o stosunku 1:1 była podobna do $T_m$ folii skrobiowej i o 21°C niższa od $T_m$ folii żelatynowej. $\Delta H_m$ folii dwuskładnikowych były wyższe od $\Delta H_m$ jednoskładnikowych folii zarówno żelatynowej, jak i skrobiowej, jednak różnice te nie były istotne statystycznie. Ponieważ $T_m$ folii żelatynowych po ich chemicznym usieciowaniu zwykle wzrasta, a $\Delta H_m$ obniża się, przy czym obniżenie $\Delta H_m$ tłumaczy się tworzeniem nowych wiązań kowalencyjnych, których rozpad jest procesem egzotermicznym, a nie endotermicznym, jak w przypadku wiązań wodorowych (Bigi i in., 2001; Bigi i in. 2004; de Carvalho i Grosso, 2004), wzrost $\Delta H_m$ w przypadku dwuskładnikowych folii skrobiowo-żelatynowych w stosunku do jednoskładnikowej folii żelatynowej może wskazywać na tworzenie się wiązań wodorowych pomiedzy skrobią i żelatyną, jednak nie na tyle silnych, by znacząco zwiększyć $T_m$ folii. Wiązania te tworzyły się bez względu na to czy folie były sporządzone na bazie skrobi niemodyfikowanej, czy modyfikowanej.

Tabela 19. Wpływ modyfikacji skrobi na właściwości termiczne folii skrobiowo-żelatynowej[1].

| Folia | Parametry topnienia | |
|---|---|---|
| | $T_m$ [ºC] | $\Delta H_m$ [J/g] |
| żelatynowa | $198 \pm 2,6^{C}$ | $59 \pm 2,8^{A}$ |
| skrobiowa | $176 \pm 9,0^{B}$ | $73 \pm 7,7^{B}$ |
| skrobiowo-żelatynowa (1:1) | $177 \pm 3,0^{B}$ | $69 \pm 6,4^{AB}$ |
| skrobiowo-żelatynowa (1:2) | $162 \pm 6,2^{A}$ | $64 \pm 9,4^{AB}$ |
| skrobiowa $S_{Si(kwas)}$ | $173 \pm 5,4^{B}$ | $67 \pm 7,3^{AB}$ |
| skrobiowo $S_{Si(kwas)}$-żelatynowa (1:2) | $163 \pm 5,1^{A}$ | $59 \pm 2,9^{A}$ |
| skrobiowa $S_{Si(sól)}$ | $156 \pm 2,7^{A}$ | $82 \pm 5,4^{B}$ |
| skrobiowo $S_{Si(sól)}$-żelatynowa (1:2) | $170 \pm 14,0^{AB}$ | $63 \pm 1,9^{AB}$ |
| skrobiowa $S_{Zn}$ | $154 \pm 6,0^{A}$ | $74 \pm 6,6^{B}$ |
| skrobiowo $S_{zn}$-żelatynowa (1:2) | $166 \pm 6,6^{A}$ | $64 \pm 9,4^{AB}$ |

[1] Wyniki są średnią z 3-6 powtórzeń. Różne indeksy w klumnach oznaczają różnice istotne statystycznie $p<0,05$

### 7.2.6 Podsumowanie

Połączenie dwóch polimerów: skrobi i żelatyny w stosunku 1:1 i 1:2 (w/w) poprawiło wytrzymałość mechaniczną folii dwuskładnikowych w porównaniu z jednoskładnikową folią żelatynową i skrobiową, przy czym w większym stopniu w przypadku połączenia 1:2. Wiązania wodorowe pomiedzy skrobią i żelatyną, jak wykazała analiza widm FT-IR tworzące się w większym stopniu w przypadku folii o większym udziale żelatyny, przyczyniły się przypuszczalnie także do ograniczenia ich rozpuszczalności w stosunku do jednoskładnikowej folii żelatynowej. Nie odnotowano jednak poprawy właściwości barierowych folii wobec pary wodnej.

Chemiczna modyfikacja skrobi pogorszyła wytrzymałość mechaniczną folii skrobiowo-żelatynowych, w mniejszym stopniu skrobią cynkanowaną niż krzemianowaną, jednak ograniczyła też jej przepuszczalność pary wodnej, zwłaszcza skrobia cynkanowana. Chociaż analiza widm FT-IR wskazywała na wzmocnienie oddziaływań pomiędzy skrobią i żelatyną w wyniku modyfikacji skrobi tetrahydroksocynkanem(II) sodu, to jednak wyniki uzyskane z analizy termicznej folii wykluczyły tworzenie się wiązań innych niż wodorowe.

## 7.3 Folie skrobiowo-chitozanowe

### 7.3.1 **Właściwości mechaniczne**

Tabela 20 zawiera wartości σ i ε dwuskładnikowych folii skrobiowo -chitozanowych. Spośród wszystkich tych folii, najlepszymi właściwościami mechanicznymi charakteryzowały się folie o stosunku polimerów 1:2 i 1:1 (w/w). Wartości σ i ε tych folii chociaż niższe, odpowiednio, o 15 i 20%, od wartości uzyskanych dla folii chitozanowej, były o 170 i 50% wyższe od wartości uzyskanych dla folii skrobiowej (Tabela 6 i 20).

Xu i in. (2005) badając folie skrobiowo-chitozanowe zaobserwowali, że wartość σ rośnie ze zwiększającym się udziałem skrobi w foliach, osiągając maksimum dla stosunku polimerów 1:1, a następnie spada, gdy udział skrobi w foliach jest większy. Obserwowany trend tłumaczyli tworzeniem się międzycząsteczkowych wiązań wodorowych pomiędzy sprotonowanymi grupami aminowymi chitozanu i hydroksylowymi skrobi, które dla stosunku polimerów 1:1 zapewniają najlepszą integralność składników folii. Zwiększenie udziału skrobi w folii powodowało obiżenie wartości σ, ponieważ pomiędzy łańcuchami skrobi zaczynały się tworzyć wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe, ograniczające dostępność wolnych grup hydroksylowych dla grup $NH_3^+$ chitozanu.

Plastyfikacja folii skrobiowo-chitozanowych glicerolem wywołała wzrost ε dopiero w obecności glicerolu w stężeniu 30%, natomiast w zakresie stężeń 10-30% tego plastyfikatora następowało pogorszenie wytrzymałości mechanicznej (Tabela 20).

Tabela 20. Właściwości mechaniczne dwuskładnikowych folii skrobiowo-chitozanowych.

| Folia | Stężenie glicerolu[2] [%] | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | | 10 | | 20 | | 30 | |
| | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] |
| skrobiowo-chitozanowe (1:2) | 80,5 $^{aA}$ | 5,0 $^{aAB}$ | 64,0 $^{bA}$ | 5,0 $^{aA}$ | 58,3 $^{bA}$ | 5,9 $^{aA}$ | 40,3 $^{cA}$ | 13,2 $^{bAB}$ |
| skrobiowo-chitozanowe (1:1) | 82,5 $^{aA}$ | 5,7 $^{aA}$ | 70,9 $^{bB}$ | 4,0 $^{aAB}$ | 57,5 $^{cA}$ | 5,8 $^{aA}$ | 44,9 $^{dB}$ | 6,6 $^{aA}$ |
| skrobiowo-chitozanowe (2:1) | 67,6 $^{aB}$ | 4,2 $^{aB}$ | 54,2 $^{bC}$ | 4,0 $^{aAB}$ | 47,2 $^{cB}$ | 4,7 $^{aA}$ | 32,1 $^{dC}$ | 40,7 $^{bB}$ |
| skrobiowo-chitozanowe (4:1) | 66,4 $^{aB}$ | 4,0 $^{aB}$ | 51,3 $^{bC}$ | 3,7 $^{aB}$ | 39,1 $^{cC}$ | 4,3 $^{aA}$ | 17,1 $^{dD}$ | 36,9 $^{bC}$ |

[1] Różne indeksy oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$): w kolumnach (A-D) w zależności od stosunku polimerów, w wierszach (a-d) w zależności od stężenia plastyfikatora

[2] Stężenie w stosunku do suchej masy polimerów (w/w)

Wytłuszczone dane mieszczą się wg. Krochty i De Mulder-Johnston (1997) w zakresie folii o umiarkowanych właściwościach mechanicznych.

W celu zbadania wpływu modyfikacji chemicznej skrobi na właściwości mechaniczne dwuskładnikowych folii skrobiowo-chitozanowych, w przypadku skrobi $S_{Si(sól)}$ i $S_{Si(kwas)}$ wykorzystano stosunek biopolimerów 2:1, a w przypadku skrobi $S_{Zn}$ stosunek 1:1. Wybór stosunku 2:1 w pierwszych wymienionych foliach podyktowany był uzyskaniem materiału o wystarczająco dobrych właściwościach mechanicznych wymaganych dla opakowań do żywności. Ze względu na stosunkowo wysoką cenę chitozanu korzystny jest jego zmniejszony udział. W przypadku skrobi $S_{Zn}$ niemożliwe było uformowanie folii o stosunku polimerów 2:1 w związku z czym wpływ modyfikacji skrobi tetrahydrocynkanem(II) sodu na połączenie skrobia-chitozan zbadano dla stosunku 1:1.

Krzemianowanie skrobi, zarówno solą jak i kwasem, pogorszyło właściwości mechaniczne dwuskładnikowych folii skrobiowo-chitozanowych w stosunku do tych na bazie skrobi niemodyfikowanej (Tabela 21a). Największe obniżenie wartości $\sigma$ i $\varepsilon$, odpowiednio o 77 i 50%, wykazywała folia chitozanowa połączona ze skrobią $S_{Si(kwas)}$. Plastyfikacja krzemianowanych folii skrobiowo-chitozanowych w zakresie stężeń 20-30% pozwoliła otrzymać folie o umiarkowanych właściwościach użytkowych, tylko w przypadku modyfikacji skrobi metakrzemianem sodu. Folie te wykazywały jednakże gorsze właściwości użytkowe niż ich odpowiedniki otrzymane ze skrobi niemodyfikowanej.

Modyfikacja skrobi tetrahydroksocynkanem(II) sodu, podobnie jak krzemianowanie, pogorszyła wytrzymałość na rozciąganie dwuskładnikowych folii skrobiowo-chitozanowych (o 40%), lecz polepszyła ich rozciągliwość (o 70%) w porównaniu z foliami ze skrobi niemodyfikowanej (Tabela 21b).

Rosnący udział glicerolu w foliach wywoływał stopniowy spadek wartości $\sigma$, natomiast, począwszy od 20% dodatku glicerolu, wzrost wartości $\varepsilon$ (Tabela 21b).

Tabela 21. Właściwości mechaniczne

a) Folii skrobiowo-chitozanowych (2:1) ze skrobi modyfikowanej.

| Folia | Stężenie glicerolu[2] [%] | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | | 10 | | 20 | | 30 | |
| | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] |
| skrobiowo-chitozanowa | 67,6 $^{aA}$ | 4,2 $^{aA}$ | 54,2 $^{bA}$ | 3,9 $^{aA}$ | 47,2 $^{cA}$ | 4,7 $^{aA}$ | 32,1$^{dA}$ | 40,7 $^{bA}$ |
| skrobiowo $S_{Si(sól)}$-chitozanowa | 54,6 $^{a\,B}$ | 5,2 $^{aB}$ | 37,0 $^{bB}$ | 4,0 $^{aA}$ | 19,7 $^{cB}$ | 39,7 $^{bB}$ | 14,2$^{dB}$ | 50,5 $^{cB}$ |
| skrobiowo $S_{Si(kwas)}$-chitozanowa | 15,8 $^{aC}$ | 2,1 $^{aC}$ | 13,1$^{bC}$ | 2,0 $^{aB}$ | 6,2 $^{cC}$ | 3,6 $^{aA}$ | 2,2$^{dC}$ | 95,8 $^{bC}$ |

b) Folii skrobiowo-chitozanowych (1:1) ze skrobi modyfikowanej.

| Folia | Stężenie glicerolu[2] [%] | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | | 10 | | 20 | | 30 | |
| | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] |
| skrobiowo-chitozanowa | 82,5 $^{aA}$ | 5,7 $^{aA}$ | 70,9 $^{bA}$ | 4,0 $^{aA}$ | 57,5 $^{cA}$ | 5,8 $^{aA}$ | 44,9 $^{dA}$ | 6,6 $^{aA}$ |
| skrobiowo $S_{Zn}$-chitozanowa | 46,5 $^{aB}$ | 9,8 $^{aA}$ | 27,7 $^{bB}$ | 3,2 $^{aA}$ | 18,8 $^{cB}$ | 51,4 $^{bB}$ | 7,8 $^{dB}$ | 98,7 $^{cB}$ |

[1] Różne indeksy oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$): w kolumnach (A-B) w zależności od modyfikacji skrobi, w wierszach (a-d) w zależności od stężenia plastyfikatora.
[2] Stężenie w stosunku do suchej masy polimerów (w/w).
Pomiary wytłuszczone mieszczą się wg. Krochty i De Mulder-Johnston (1997) w zakresie folii o umiarkowanych właściwościach mechanicznych.

### 7.3.2 **Właściwości barierowe**

Dodanie chitozanu do skrobi zwiększyło WVP folii w porównaniu z jednoskładnikową folią skrobiową, szczególnie przy dużym udziale chitozanu (Tabela 8, 22). Plastyfikacja folii skrobiowo-chitozanowych nie wpływała na ich WVP lub tylko nieznacznie ją pogorszyła (Tabela 22). Z kolei Garcia i in., (2006) dla nieplastyfikowanej dwuskładnikowej folii skrobiowo-chitozanowej o stosunku polimerów 1:5 (w/w) otrzymali wartość WVP 2-krotnie niższą niż dla folii plastyfikowanej. Według autorów niższa wartość WVP nieplastyfikowanej folii, może być skutkiem bardziej zwartej struktury folii, którą zaobserwowano w elektronowym mikroskopie skaningowym.

Tabela 22. Właściwości barierowe dwuskładnikowych folii skrobiowo-chitozanowych.

| Folia | WVP [g·mm/kPa·h·m²][1] | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Stężenie glicerolu [%][2] | | | |
| | 0 | 10 | 20 | 30 |
| skrobiowo-chitozanowa (4:1) | 0,59 aAB | 0,73 bA | 0,61 aAB | 0,64 bAB |
| skrobiowo-chitozanowa (2:1) | 0,59 aAB | 0,63 aA | 0,59 aAB | 0,74 bB |
| skrobiowo-chitozanowa (1:1) | 0,55 aB | 0,69 aA | 0,52 aB | 0,56 aA |
| skrobiowo-chitozanowa (1:2) | 0,66 aA | 0,68 aA | 0,63 aA | 0,63 aAB |

[1] Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy oznaczają różnice istotne statystycznie (p<0,05): w kolumnach (A-B) w zależności od modyfikacji, w wierszach (a-b) w zależności od stężenia plastyfikatora
[2]Stężenie w stosunku do suchej masy polimerów (w/w)

Wszystkie zastosowane modyfikacje chemiczne skrobi nie wpływały na WVP nieplastyfikowanych dwuskładnikowych folii skrobiowo-chitozanowych w stosunku do tych samych połączeń na bazie skrobi niemodyfikowanej (Tabela 23). Świadczyć to może o braku wpływu modyfikacji skrobi na jej wzajemne oddziaływania z chitozanem.

Plastyfikacja folii z chitozanem i modyfikowaną skrobią nie powodowała istotnych statystycznie różnic w WVP, za wyjątkiem folii ze skrobi $S_{Si(sól)}$ z 30% dodatkiem glicerolu, gdzie obserwowano wzrost tej wartości (Tabela 23).

Tabela 23. Właściwości barierowe folii skrobiowo-chitozanowych.

| Folia | WVP [g·mm/kPa·h·m²][1] | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Stężenie glicerolu [%][2] | | | |
| | 0 | 10 | 20 | 30 |
| skrobiowo-chitozanowa (2:1) | 0,59 aA | 0,63 aA | 0,59 aA | 0,74 bA |
| skrobiowo $S_{Si(sól)}$-chitozanowa (2:1) | 0,60 abA | 0,54 aB | 0,55 aA | 0,64 bB |
| skrobiowo $S_{Si(kwas)}$-chitozanowa (2:1) | 0,59 aA | 0,55 aB | 0,59 aA | 0,59 aB |
| skrobiowo-chitozanowa (1:1) | 0,55 aA | 0,69 aA | 0,52 aA | 0,56 aA |
| skrobiowo $S_{Zn}$-chitozanowa (1:1) | 0,55 aA | 0,46 aA | 0,50 aA | 0,57 aA |

[1] Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy oznaczają różnice istotne statystycznie (p<0,05): w kolumnach (A-B) w zależności od modyfikacji, w wierszach (a-b) w zależności od stężenia plastyfikatora.
[2] Stężenie w stosunku do suchej masy polimerów (w/w)

### 7.3.3 Rozpus**zczalność**

Rozpuszczalność folii skrobiowo-chitozanowych (1:2) wynosiła 78%. Zwiększenie zawartości skrobi w foliach do 1:1 spowodowało jej zmniejszenie do około 50%. Dalszy wzrost

udziału skrobi w foliach skrobiowo-chitozanowych nie prowadził już do ograniczenia rozpuszczalności otrzymanych materiałów (Tabela 24).

Zastosowana modyfikacja skrobi, zarówno krzemianem sodu, jak i tetrahydroksocynkanem(II) sodu wywołała dalsze ograniczenie rozpuszczalności dwuskładnikowych folii, odpowiednio o 70 i 60% (Tabela 24). Może mieć to jednak związek nie z modyfikacją skrobi, a pH roztworu foliotwórczego. W środowisku o pH powyżej 6 folie chitozanowe się nie rozpuszczają (Piotrowska i in., 2008).

Tabela 24. Rozpuszczalność w wodzie folii skrobiowo-chitozanowych.

| Folia | pH | R[%][1] |
|---|---|---|
| skrobiowo-chitozanowa (1:2) | 4,8 | $77,6 \pm 1,05^{A}$ |
| skrobiowo-chitozanowa (1:1) | 4,9 | $51,2 \pm 5,27^{B}$ |
| skrobiowo-chitozanowa (2:1) | 4,9 | $46,6 \pm 5,20^{B}$ |
| skrobiowo-chitozanowa (4:1) | 4,9 | $48,7 \pm 2,46^{B}$ |
| skrobiowo-chitozanowa (2:1) | 4,9 | $46,6 \pm 5,20^{A}$ |
| skrobiowo $S_{Si(sól)}$-chitozanowa (2:1) | 7,4 | $14,2 \pm 1,97^{B}$ |
| skrobiowo-chitozanowa (1:1) | 4,9 | $51,2 \pm 5,27^{A}$ |
| skrobiowo $S_{Zn}$-chitozanowa (1:1) | 10,2 | $20,3 \pm 3,61^{B}$ |

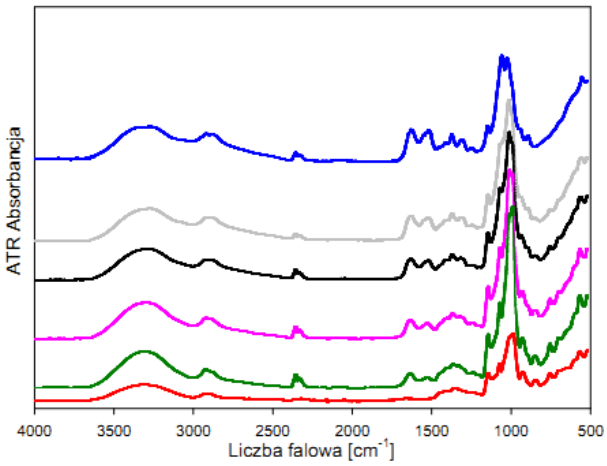
[1]Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy w kolumnie (A-B) w poszczególnych częściach tabeli oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$)

### 7.3.4 Analiza widm FT-IR

Widma dwuskładnikowych folii skrobiowo-chitozanowych, podobnie jak widma dwuskładnikowych folii skrobiowo-żelatynowych, wykazywały duże podobieństwo do widm poszczególnych składników folii (Rysunek 18). Nie pojawiało się w nich żadne nowe pasma, ani żadne nie uległo zanikowi. Można było w nich natomiast zauważyć niewielkie przesunięcia (Tabela 25) oraz zmiany intensywności niektórych pasm. Największe przesunięcia zaobserwowano w paśmie 3600-3000 $cm^{-1}$. Wraz ze wzrostem zawartości skrobi w folii jego maksimum przesuwało się w kierunku wyższych liczb falowych. Podobną zależność można było zauważyć w paśmie 3000-2800 $cm^{-1}$. Maksimum tego pasma w widmie folii chitozanowej występowało przy 2883 $cm^{-1}$, natomiast w widmach dwuskładnikowych folii o stosunku polimerów 1:1 i 2:1 przesunęło się w kierunku wyższych liczb falowych, a w widmie dwuskładnikowej folii o stosunku polimerów 4:1 i w widmie folii skrobiowej było niezauważalne. Przesunięcia w położeniu

pasm amidowych, w tym pasma amidowego A, chitozanu obserwowali też Mathew i in. (2006) oraz Bourtoom i Chinnan (2008) analizując widma FT-IR dwuskładnikowych folii skrobiowo-chitozanowych. Według autorów są one spowodowane interakcją grup aminowych chitozanu z grupami hydroksylowymi skrobi, jednak charakteru tych interakcji autorzy nie wyjaśniają.

Dodatkowo w widmie folii chitozanowej w paśmie sacharydowym występowały dwa maksima przy 1063 i 1030 $cm^{-1}$, natomiast w widmie folii skrobiowej widoczne było tylko jedno, przy 993 $cm^{-1}$. W widmach folii dwuskładnikowych o stosunkach polimerów 1:2 i 1:1 również występowało tylko jedno maksimum w tym zakresie. Było ono przesunięte o 35 $cm^{-1}$ w kierunku wyższych liczb falowych w porównaniu z położeniem w widmie folii skrobiowej i o 15 $cm^{-1}$ w kierunku niższych liczb falowych w porównaniu z położeniem w widmie folii chitozanowej.

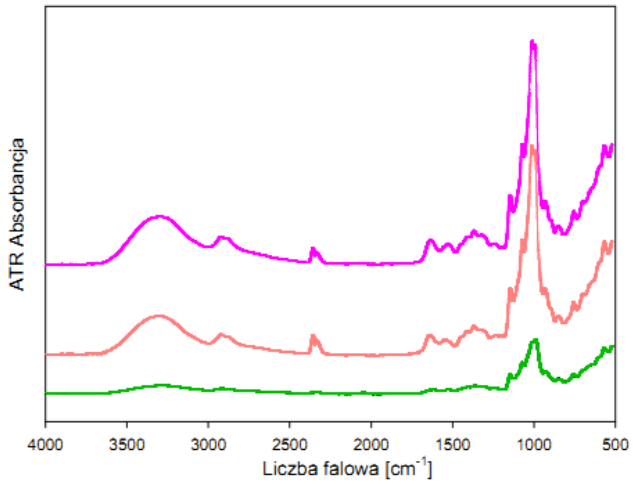



Rysunek 18. Widmo FT-IR folii skrobiowo-chitozanowej o stosunkach polimerów: 1:2 (—), 1:1 (—), 2:1 (—), 4:1 (—). Dla porównania przedstawiono widmo folii skrobiowej (—) i chitozanowej (—).

Tabela 25. Wpływ modyfikacji skrobi na charakterystykę pasm absorpcyjnych w widmach dwuskładnikowych folii skrobiowo-chitozanowych.

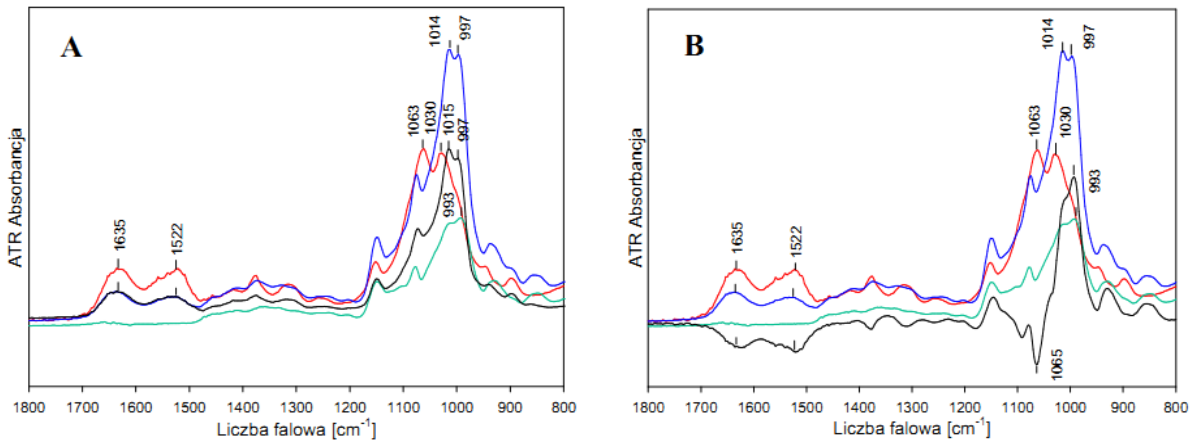
| Folia | Pozycja pasm [$cm^{-1}$] | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Amidowe A | Grup $CH_2$ | Amidowe I | Amidowe II | Sacharydowe |
| chitozanowa | 3275 | 2926 | 1635 | 1522 | 1063, 1030 |
| skrobiowa | 3325 | 2928 | - | - | 1077, 993 |
| skrobiowo-chitozanowa (2:1) | 3290 | 2926 | 1635 | 1522 | 1014, 993 |
| skrobiowa $S_{Si(kwas)}$ | 3316 | 2926 | - | - | 1013, 993 |
| skrobiowo $S_{Si(kwas)}$-chitozanowa(2:1) | 3290 | 2926 | 1642 | 1528 | 1013, 993 |
| skrobiowa $S_{Si(sól)}$ | 3312 | 2926 | - | - | 993 |
| skrobiowo $S_{Si(sól)}$-chitozanowa (2:1) | 3290 | 2926 | 1646 | 1540 | 1015, 993 |
| skrobiowa $S_{Zn}$ | 3283 | 2926 | 1635 | 1522 | 1017 |
| skrobiowo-chitozanowa (1:1) | 3290 | 2926 | - | - | 993 |
| skrobiowo $S_{zn}$-chitozanowa (1:1) | 3290 | 2926 | 1635 | 1540 | 1015, 993 |

Modyfikacja skrobi kwasem metakrzemowym oraz metakrzemianem sodu spowodowała, że w widmie dwuskładnikowej folii skrobiowo-chitozanowej pasma amidowe I i amidowe II, pochodzące od chitozanu, uległy przesunięciu w kierunku wyższych liczb falowych, w stosunku do położenia jakie zajmowały one w widmie dwuskładnikowej folii wykonanej na bazie skrobi niemodyfikowanej (Rysunek 19, Tabela 25). W przypadku skrobi modyfikowanej kwasem krzemowym przesunięcia te wyniosły, odpowiednio, 7 i 6 $cm^{-1}$, a w przypadku skrobi modyfikowanej metakrzemianem sodu, 11 i 18 $cm^{-1}$. Intensywność pasma amidowego II uległa ponadto obniżeniu na skutek modyfikacji skrobi związkami krzemianowymi. Pasmo amidowe I jest związane z obecnością ugrupowania $CH_3$–C=O w chitozanie, a pasmo amidowe II z obecnością w jego łańcuchach grup aminowych, zarówno w ich wolnej jak i protonowanej formie. Przesunięcia obu pasm sugerują, że energia wiązań C=O i N–H podwyższyła się, ponieważ grupy te wzięły udział w formowaniu nowych, silniejszych wiązań. Intensywność pasma amidowego II wskazywała ponadto, że w wiązaniach tych wzięły udział grupy $NH_2$ (lub $NH_3^+$), dlatego zmniejsza się ona w widmie dwuskładnikowej folii wykonanej na bazie skrobi modyfikowanej.

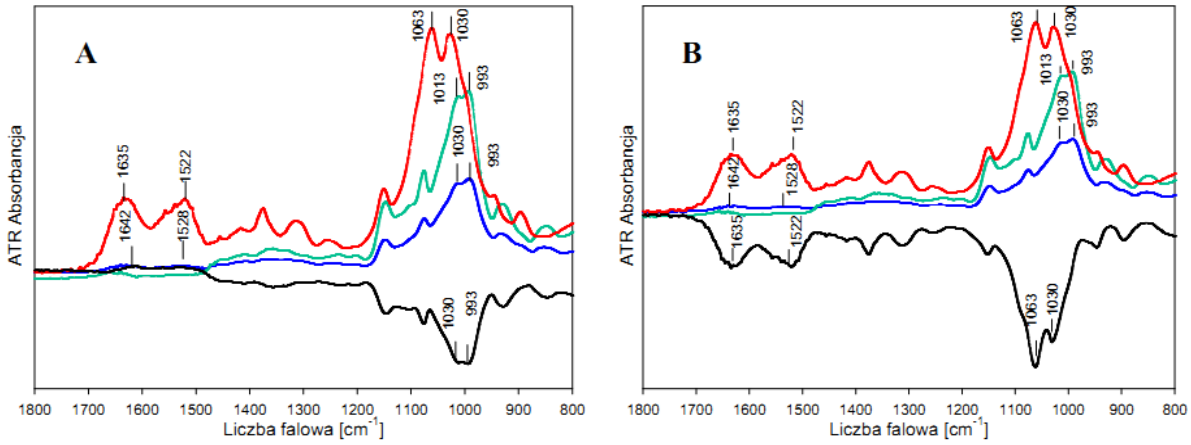



Rysunek 19. Widmo FT-IR folii skrobiowo-chitozanowej (2:1) na bazie skrobi modyfikowanej kwasem krzemowym (—) i metakrzemianem sodu (—). Dla porównania przedstawiono widmo folii skrobiowo-chitozanowej (2:1) na bazie skrobi niemodyfikowanej (—).

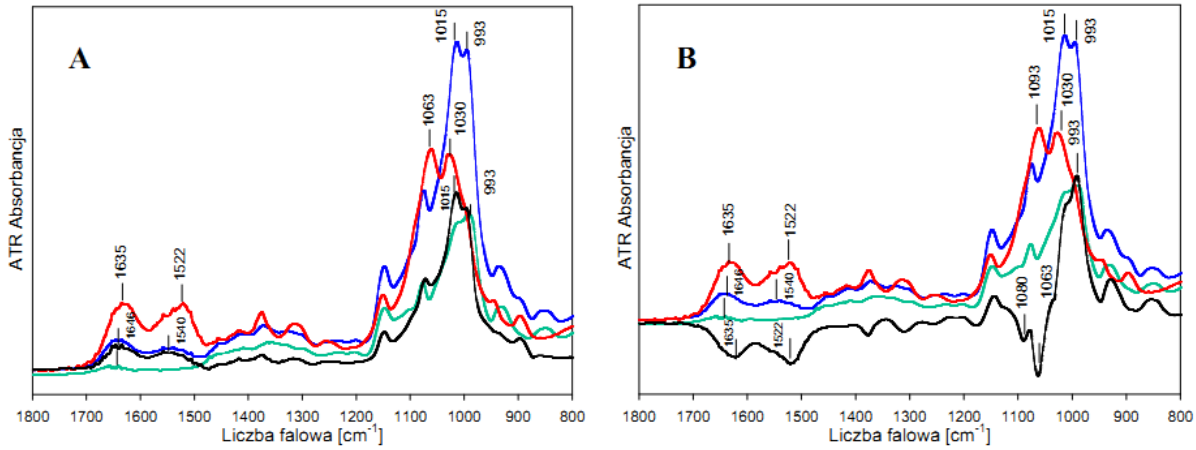
Porównując widmo różnicowe dwuskładnikowej folii na bazie skrobi niemodyfikowanej (Rysunek 20) i modyfikowanej kwasem metakrzemowym (Rysunek 21) widać było ponadto istotną różnicę w zakresie pasma sacharydowego (1200-800 $cm^{-1}$). W widmach różnicowych folii wykonanej na bazie skrobi $S_{Si(kwas)}$ pojawiły się piki z minimami przy 1030 i 993 $cm^{-1}$ (Rysunek 21A) oraz z minimami przy 1063 i 1030 $cm^{-1}$ (Rysunek 21B), natomiast w widmach różnicowych folii na bazie skrobi niemodyfikowanej występiły piki z maksimami przy 1015 i 997 $cm^{-1}$ (Rysunek 20A) oraz z minimum przy 1065 $cm^{-1}$ i maksimum przy 993 $cm^{-1}$ (Rysunek 20B). Z kolei widma różnicowe dwuskładnikowej folii na bazie skrobi modyfikowanej metakrzemianem sodu (Rysunek 22) nie różniły się od tych zarejestrowanych dla dwuskładnikowej folii na bazie skrobi niemodyfikowanej (Rysunek 21). Obserwowane różnice w kształcie pasma sacharydowego wskazują wyraźnie na odmienny sposób połączenia skrobi z chitozanem po modyfikacji skrobi kwasem metakrzemowym.



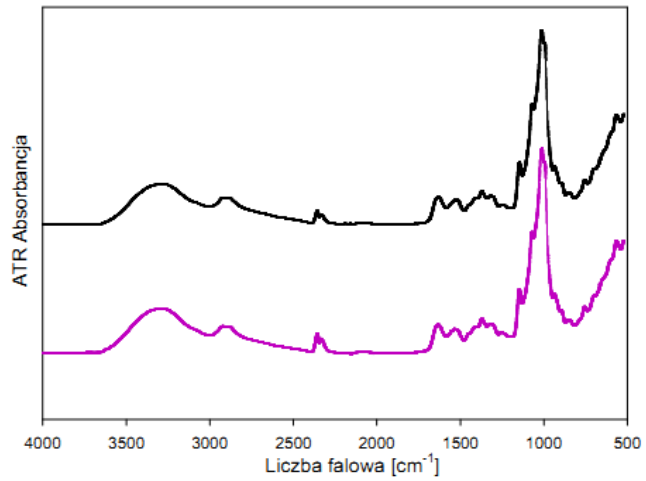
Rysunek 20. Różnicowe widmo FT-IR (—) w zakresie 1800-800 $cm^{-1}$ powstałe po odjęciu od widma dwuskładnikowej folii skrobiowo-chitozanowej (2:1), wykonanej na bazie skrobi niemodyfikowanej (—) widma jednoskładnikowej folii: (A) skrobiowej (—), (B) chitozanowej (—).




Rysunek 21. Różnicowe widma FT-IR (—) w zakresie 1800-800 $cm^{-1}$ powstałe po odjęciu od widma dwuskładnikowej folii skrobiowo-chitozanowej (2:1), wykonanej na bazie skrobi modyfikowanej $S_{Si(kwas)}$ (—), widma jednoskładnikowej folii: (A) skrobiowej $S_{Si(kwas)}$ (—), (B) chitozanowej (—).

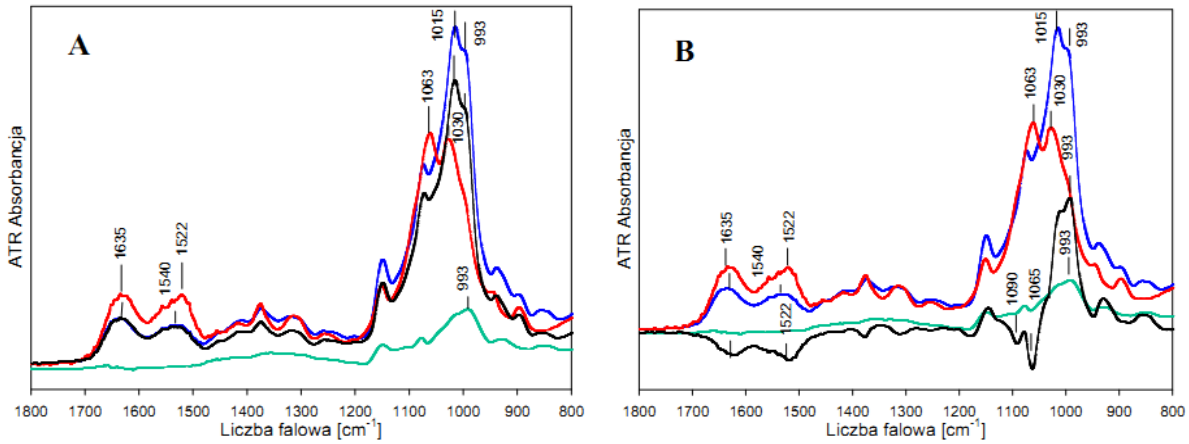



Rysunek 22. Różnicowe widma FT-IR (—) w zakresie 1800-800 $cm^{-1}$ powstałe po odjęciu od widma dwuskładnikowej folii skrobiowo-chitozanowej (2:1), wykonanej na bazie skrobi modyfikowanej $S_{Si(sól)}$ (—), widma jednoskładnikowej folii: (A) skrobiowej $S_{Si(sól)}$ (—), (B) chitozanowej (—).



Rysunek 23. Widmo FT-IR folii skrobiowo-chitozanowej (1:1) na bazie skrobi modyfikowanej tertahydroksocynkanem(II) sodu (—). Dla porównania przedstawiono widmo folii skrobiowo-chitozanowej (1:1) na bazie skrobi niemodyfikowanej (—).

Modyfikacja skrobi tetrahydroksocynkanem(II) sodu, podobnie jak modyfikacja kwasem metakrzemowym i metakrzemianem sodu, spowodowała, że w widmie dwuskładnikowej folii skrobiowo-chitozanowej pasmo amidowe II uległo przesunięciu w kierunku wyższych liczb falowych, w stosunku do położenia, jakie zajmowało ono w dwuskładnikowej folii wykonanej na bazie skrobi niemodyfikowanej (Rysunek 23, Tabela 25). Przesunięcie to wyniosło 18 $cm^{-1}$ i może świadczyć o zmianie struktury przestrzennej łańcuchów polisacharydowych. Pasmo sacharydowe natomiast, charakteryzowało się takim samym kształtem zarówno w widmie różnicowym dwuskładnikowej folii na bazie skrobi niemodyfikowanej, jak i modyfikowanej $S_{Zn}$ (Rysunek 24). Wskazuje to na to, iż sposób połączenia polimerów przed i po modyfikacji skrobi nie uległ zmianie.




Rysunek 24. Różnicowe widma FT-IR (—) w zakresie 1800-800 cm1 powstałe po odjęciu od widma dwuskładnikowej folii skrobiowo-chitozanowej (2:1), wykonanej na bazie skrobi modyfikowanej $S_{Zn}$ (—), widma jednoskładnikowej folii: (A) skrobiowej $S_{Zn}$ (—), (B) chitozanowej (—).

### 7.3.5 **Właściwości termiczne** folii (DSC)

Porównując właściwości termiczne dwuskładnikowych folii skrobiowo-chitozanowych (Tabela 26) można było zaobserwować, że poza $T_{m1}$ folii o stosunku polimerów 4:1, która była niższa o 14˚C od $T_{m1}$ folii skrobiowej i o˚8 od $T_{m1}$ folii chitozanowej, wszystkie inne folie o zmiennych stosunkach polimerów nie wykazywały różnic istotnych statystycznie w $T_{m1}$. Dodatek skrobi podwyższył natomiast nieznacznie $T_{m2}$ folii dwuskładnikowych w porównaniu z jednoskładnikową folią chitozanową (Tabela 26). Mathew i in. (2006) zaobserwowali natomiast wzrost $T_{m1}$ plastyfikowanej folii skrobiowo-chitozanowej o stosunku polimerów 1:1 zarówno w porównaniu do

folii skrobiowej, o ok. 10˚C, jak i chitozanowej, o ok. 5˚C, jednak autorzy nie tłumaczą tego zjawiska. W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych na temat $T_{m2}$, dlatego otrzymane wyniki trudno jest przedyskutować.

Tabela 26. Właściwości termiczne dwuskładnikowych folii skrobiowo-chitozanowych[1].

| Folia | Parametry topnienia[1] | | | |
|---|---|---|---|---|
| | $T_{m1}$ [ºC] | $\Delta H_{m1}$ [J/g] | $T_{m2}$ [ºC] | $\Delta H_{m2}$ [J/g] |
| chitozanowa | $170 \pm 14,9^{BC}$ | $57 \pm 16,2^{BC}$ | $216 \pm 1,6^{A}$ | $77 \pm 11,5^{AB}$ |
| skrobiowo-chitozanowa (1:2) | $170 \pm 0,8^{AB}$ | $61 \pm 1,1^{AB}$ | $217 \pm 0,6^{A}$ | $29 \pm 6,5^{AB}$ |
| skrobiowo-chitozanowa (1:1) | $181 \pm 3,0^{CD}$ | $56 \pm 13,5^{AB}$ | $218 \pm 0,2^{B}$ | $34 \pm 4,1^{A}$ |
| skrobiowo-chitozanowa (2:1) | $172 \pm 9,2^{ABC}$ | $54 \pm 0,5^{AB}$ | $218 \pm 0,2^{B}$ | $45 \pm 4,1^{A}$ |
| skrobiowo-chitozanowa (4:1) | $162 \pm 7,6^{A}$ | $61 \pm 17,9^{AB}$ | $221 \pm 0,7^{B}$ | $89 \pm 24,4^{BC}$ |
| skrobiowa | $176 \pm 9,0^{BC}$ | $73 \pm 7,7^{ABC}$ | - | - |

[1]Wyniki są średnią z 3-6 powtórzeń. Różne indeksy w kolumnach oznaczają różnice istotne statystycznie $p<0,05$.

Modyfikacja skrobi nie wpłynęła znacząco na zmianę $T_{m1}$ otrzymanych folii skrobiowo-chitozanowych (Tabela 27). Modyfikacje skrobi kwasem metakrzemowym oraz metakrzemianem sodu spowodowały istotne zmiany w $T_{m2}$ i $\Delta H_{m2}$ dwuskładnikowych folii skrobiowo-chitozanowych. W przypadku modyfikacji kwasem krzemowym $T_{m2}$ obniżyła o 3˚C, a $\Delta H_{m2}$ podwyższyło o 58 J/g. Natomiast po zastosowaniu metakrzemianu sodu $T_{m2}$ podwyższyła się o 21˚C, a $\Delta H_{m2}$ obniżyła się o 13 J/g (Tabela 27). Podwyższenie $T_{m2}$ i odniżenie $\Delta H_{m2}$ może świadczyc o wytworzeniu bardziej stabilnej struktury w przypadku zastosowania modyfikacji skrobi metakrzemianem sodu. Zastosowanie modyfikacji tertahydrosocynkanem(II) sodu nie wpłynęło na zmianę parametrów termicznych otrzymanych folii.

Tabela 27. Wpływ modyfikacji skrobi na właściwości termiczne folii skrobiowo-chitozanowych[1].

| Folia | Parametry topnienia[1] | | | |
|---|---|---|---|---|
| | $T_{m1}$ [°C] | $\Delta H_{m1}$ [J/g] | $T_{m2}$ [°C] | $\Delta H_{m2}$ [J/g] |
| chitozanowa | $170 \pm 14,9^{BC}$ | $57 \pm 16,2^{BC}$ | $216 \pm 1,6^{B}$ | $77 \pm 11,5^{B}$ |
| skrobiowa | $176 \pm 9,0^{BC}$ | $73 \pm 7,7^{ABC}$ | - | - |
| skrobiowo-chitozanowa (2:1) | $172 \pm 9,2^{ABC}$ | $54 \pm 0,5^{AB}$ | $218 \pm 0,2^{B}$ | $45 \pm 4,1^{A}$ |
| skrobiowa $S_{Si(kwas)}$ | $173 \pm 5,4^{C}$ | $67 \pm 7,3^{AB}$ | - | - |
| skrobiowo $S_{Si(kwas)}$-chitozanowa(2:1) | $171 \pm 3,1^{ABC}$ | $55 \pm 2,3^{AB}$ | $187 \pm 5,4^{A}$ | $103 \pm 4,3^{C}$ |
| skrobiowa $S_{Si(sól)}$ | $156 \pm 2,7^{AB}$ | $82 \pm 5,4^{AB}$ | - | - |
| skrobiowo $S_{Si(sól)}$-chitozanowa (2:1) | $161 \pm 7,6^{A}$ | $73 \pm 4,8^{ABC}$ | $239 \pm 0,4^{C}$ | $32 \pm 1,0^{A}$ |
| skrobiowa $S_{Zn}$ | $154 \pm 6,0^{A}$ | $74 \pm 6,6^{AB}$ | - | - |
| skrobiowo S-chitozanowa (1:1) | $181 \pm 3,0^{BC}$ | $56 \pm 13,5^{AB}$ | $218 \pm 0,2^{B}$ | $34 \pm 4,1^{A}$ |
| skrobiowo $S_{zn}$-chitozanowa (1:1) | $171 \pm 11,9^{ABC}$ | $50 \pm 6,8^{A}$ | $222 \pm 1,3^{B}$ | $38 \pm 4,3^{A}$ |

[1]Wyniki są średnią z 3-6 powtórzeń. Różne indeksy w kolumnach oznaczają różnice istotne statystycznie $p<0,05$

### 7.3.6 Podsumowanie

Połączenie skrobi i chitozanu, zwłaszcza w stosunku 1:2 i 1:1, polepszyło właściwości mechaniczne folii dwuskładnikowych w porównaniu do jednoskładnikowej folii skrobiowej, jednak zmniejszyło jej właściwości barierowe wobec wody, nie wpływając z reguły na właściwości termiczne. Analiza FT-IR tych folii wskazywała na interakcje pomiędzy grupami aminowymi chitozanu, a grupami hydroksylowymi skrobi, jednak charakteru tych interakcji nie udało się ustalić.

Modyfikacja chemiczna skrobi pogorszyła wytrzymałość mechaniczną folii skrobiowo-chitozanowych, ale w przypadku użycia $S_{Zn}$ polepszyła jej rozciągliwość. Modyfikacja skrobi nie wpłynęła natomiast na przepuszczalność pary wodnej dwuskładnikowych folii skrobiowo-chitozanowych, lecz zmniejszyła ich rozpuszczalność. Ta ograniczona rozpuszczalność folii wynikała przypuszczalnie raczej z zasadowego pH roztworu foliotwórczego, w którym chitozan jest nierozpuszczalny, niż z istnienia mocniejszych wiązań wykazanych przy użyciu techniki FT-IR.

## 7.4 Folie nanokompozytowe

Jedną z dróg polepszenia właściwości użytkowych opakowań jest otrzymanie nanokompozytów, które można uzyskać poprzez wprowadzenie do matrycy polimerowej nanonapełniaczy – warstwowych glinokrzemianów takich jak MMT oraz bentonitów (zawierających ok. 80% MMT) o zróżnicowanej hydrofobowości (Malesa, 2004; Rhim i Ng, 2007; Silvestre i in., 2011, Pagacz i Pielichowski, 2007).

### 7.4.1 **Nanokompozyty żelatynowe**

#### *7.4.1.1 **Właściwości mechaniczne***

W Tabeli 28 przedstawiono wpływ różnych rodzajów i stężeń nanonapełniaczy na σ i ε nanokompozytów żelatynowych. Dodatek hydrofilowego Closite®$Na^+$ w stężeniu 5% zwiększył σ folii żelatynowych. Polepszenie właściwości mechanicznych nieplastyfikowanych folii żelatynowych z dodatkiem Cloisite®$Na^+$ zaobserwował także Rao (2007). Z drugiej strony dodatek hydrofilowego Nanomer®PGV w stężeniu 5-10 %, w przeciwieństwie do Closite®$Na^+$, powodował nieznaczne obniżenie wartości σ (Tabela 28). Było to prawdopodobnie spowodowane różnym składem nanonapełniaczy, co wpłynęło na stopień kompatybilności matrycy polimerowej z nanonapełniaczem. Przeprowadzone badania wykazały, że wzrost σ ma miejsce również w nanokompozytach żelatynowych zawierających 5-10% modyfikowanego nanonapełniacza NanoBent ZR-1 o zwiększonej hydrofobowej powierzchni. W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych dotyczących nieplastyfikowanych nanokompozytów zawierających organicznie modyfikowany montmorylonit. Jednakże poprawę wytrzymałości mechanicznej folii zaobserwowano w przypadku plastyfikowanych białkowych nanokompozytów zawierających nanonapełniacze modyfikowane czwartorzędowymi solami amoniowymi (Nanomeru 1.34TCN, Closite®30B) o zwiększonej hydrofobowości powierzchni w porównaniu do MMT (Rhim i in., 2005; Kanmani i Rhim, 2014). Z kolei Sothornvit i in. (2009) wykazali obniżenie wytrzymałości mechanicznej folii nanokompozytowych przy zastosowaniu znacznie bardziej hydrofobowego Cloisite®20A. Badany w pracy nanonapełnicz Nanofil®2 nie wpłynął na właściwości mechaniczne nanokompozytów żelatynowych (Tabela 28). Uzyskane przeze mnie oraz przez innych autorów wyniki pokazują, że wiele czynników, związanych ze strukturą białka i modyfikacjami chemicznymi nanonapełniaczy może mieć wpływ na wzajemne oddziaływania pomiędzy składnikami nanokompozytowych folii.

W foliach zawierających badane nanonapełniacze powyżej 10% (z wyjątkiem Nanofil®2) zaobserwowano zmniejszenie σ (Tabela 28). Mogło to wynikać z agregacji cząstek

nanonapełniacza i przejście od struktury nano- do mikrokompozytu (Zheng i in., 2002; Martucci i in., 2007). Wszystkie kompozyty zawierające 5-10% nanonapełniacza wykazywały niskie (Tabela 28), dlatego niezbędna była plastyfikacja materiału.

Tabela 28. Wpływ nanonapełniaczy na właściwości mechaniczne nieplastyfikowanych folii żelatynowych.

| Stężenie nanonapełniacza [%][2] | Rodzaj nanonapełniacza | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Hydrofilowy | | | | Hydrofobowy | | | |
| | Cloisite®Na$^+$ | | Nanomer®PGV | | Nanofil®2 | | NanoBent ZR-1 | |
| | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] |
| 0 | 55,4$^B$ | 2,1$^A$ | 55,4$^B$ | 2,1$^C$ | 55,4$^B$ | 2,1$^A$ | 55,4$^A$ | 2,1$^A$ |
| 5 | 77,1$^C$ | 2,4$^A$ | 42,9$^A$ | 1,5$^A$ | 57,1$^B$ | 1,9$^A$ | 88,2$^C$ | 3,7$^C$ |
| 10 | 43,7$^B$ | 1,5$^B$ | 71,9$^C$ | 1,8$^B$ | 57,2$^B$ | 2,0$^A$ | 62,3$^B$ | 2,5$^B$ |
| 15 | 22,8$^A$ | 0,6$^C$ | 52,0$^B$ | 1,2$^A$ | 54,4$^B$ | 2,3$^A$ | 56,4$^A$ | 2,5$^B$ |

[1] Wartość średnia z 14 prób, różne indeksy w kolumnach oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$)
[2] Stężenie w stosunku do masy polimeru (w/w)

W plastyfikowanych foliach z dodatkiem 5% nanonapełniczy polepszenie wytrzymałości mechanicznej nie było tak wyraźne jak w foliach nieplastyfikowanych (Tabela 28 i 29). W nanokompozycie zawierającym 5% Cloisite®Na$^+$ i 15% glicerolu σ było o 20% wyższe niż plastyfikowanej folii żelatynowej bez nanonapełniacza (Tabela 29), podczas gdy nieplastyfikowanej o 40% wyższe w stosunku do folii bez nanonapełniacza (Tabela 28). Po dodaniu hydrofilowego Nanomer®PGV σ folii uległo nawet znacznemu obniżeniu. Obecność hydrofobowego NanoBent ZR-1 w plastyfikowanej 15% glicerolem folii żelatynowej poprawiło σ, jednakże zwiększenie to było mniejsze niż w przypadku folii nieplastyfikowanych z dodatkiem tego nanonapełniacza (Tabela 29). Niewielki wzrost σ plastyfikowanych folii żelatynowych stwierdzono także w obecności hydrofobowego Nanofil®2, pomimo iż dodatek tego nanonapełniacza nie wpływał istotnie statystycznie na σ nieplastyfikowanych folii żelatynowych (Tabela 29). Dodatek 20% glicerolu zwiększył rozciągliwość folii żelatynowych bez oraz z dodatkiem hydrofilowych nanonapełniaczy do około 50%, jednakże znacznie obniżył ich σ. Ponadto, w obecności tych nanonapełniaczy σ nanokompozytowych folii żelatynowych było 2-4 razy mniejsze niż plastyfikowanych folii bez dodatku nanonapełniaczy (Tabela 29). Polepszenia σ wśród plastyfikowanych folii białkowych modyfikowanych MMT nie wykazali również Sothornvit i in. (2009) oraz Rhim i in. (2005). Wyniki uzyskane w pracy sugerują, iż dodatek glicerolu może zmieniać oddziaływania między polimerem a nanonapełniaczem. Tang i in. (2008) zabserwowali, iż w nanokompozytach na bazie skrobi modyfikowanych MMT, wraz ze wzrostem stężenia

glicerolu powyżej 5% obniżeniu ulega stopień eksfoliacji nanokompozytu. Podobne wyniki uzyskali Chiou i in. (2007). Według Tang i in. (2008) współzawodnictwo polarnych oddziaływań między polimerem, plastyfikatorem, a nanonapełniaczem ma znaczenie podczas tworzenia się struktury nanokompozytów, a następnie wpływa na właściwości otrzymanych folii. Folie nanokompozytowe otrzymane przez Tang i in. (2008) z dodatkiem 5% glicerolu charakteryzowały się najlepszymi właściwościami barierowymi i najwyższym σ, podczas gdy zwiększony dodatek glicerolu (15-20%) znacząco je obniżał. Z kolei Echeverria i in. (2014), Jorge i in. (2011), Kumar i in. (2010), Bae i in. (2009), a a także Tunc i in. (2007) obserwowali wzrost σ nanokompozytowych folii białkowych modyfikowanych MMT, chociaż w różnym stopniu. Te rozbieżności wyników pokazują, iż wiele czynników może mieć wpływ na wytworzenie odpowiedniaj struktury nanokompozytów oraz ich właściwości. Zaliczyć do nich można rodzaj białka, pH mieszaniny składników, jak również metody i warunki otrzymania folii.

Dane prezentowane w Tabeli 29 wskazują, że σ plastyfikowanych 20% glicerolem nanokompozytów zawierających hydrofobowe nanonapełniacze (Nanofil®2 oraz NanoBent ZR-1) jest znacznie wyższe w porównianiu z folią bez dodatku nanonapełniacza. Podobną poprawę σ po dodaniu do matrycy polimerowej hydrofobowych nanonapełniaczy zaobserwowali Rhim i in. (2005) oraz Kanmani i Rhim (2014). Wzrostowi σ nanokompozytów żelatynowych plastyfikowanych 20% glicerolem towarzyszył spadek ε. Taką zależność w przypadku nanokompozytów zawierających zarówno hydrofilowe, jak i hydrofobowe nanonapełniacze zaobserwowali inni autorzy (Bae i in., 2009; Echeverria i in., 2014; Rhim i in., 2005; Kanmani i Rhim, 2014; Tunc i in., 2007).

Tabela 29. Wpływ nanonapełniaczy w stężeniu 5% na właściwości mechaniczne plastyfikowanych folii żelatynowych.

| Folia | Zawartość glicerolu [%][2] | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | | 15 | | 20 | |
| | σ MPa][1] | ε [%][1] | σ MPa][1] | ε [%][1] | σ MPa][1] | ε [%][1] |
| Niemodyfikowana | 55,4$^{cB}$ | 2,1$^{aA}$ | 35,6$^{bAB}$ | 7,2$^{bB}$ | 7,2$^{cAB}$ | 49,8$^{cA}$ |
| z Cloisite®Na$^{+}$ | 77,1$^{aC}$ | 2,4$^{aA}$ | 42,8$^{bB}$ | 22,1$^{bC}$ | 1,7$^{cA}$ | 48,5$^{cA}$ |
| z Nanomer®PGV | 42,9$^{aA}$ | 1,5$^{aB}$ | 21,8$^{bA}$ | 4,4$^{bA}$ | 3,4$^{cA}$ | 48,5$^{cA}$ |
| z Nanofil®2 | 57,1$^{aB}$ | 1,9$^{aB}$ | 43,3$^{bB}$ | 2,4$^{bA}$ | 34,1$^{cC}$ | 5,5$^{cC}$ |
| z NanoBent ZR-1 | 88,2$^{aD}$ | 3,7$^{aC}$ | 59,7$^{bD}$ | 3,2$^{aA}$ | 13,0$^{cB}$ | 27,5$^{bB}$ |

[1] Wartość średnia z 14 prób, różne indeksy oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$): w kolumnach (A-D) w zależności od rodzaju nanonapełniacza, w wierszach (a-d) w zależnościom stężenia plastyfikatora

[2] Stężenie w stosunku do masy białka (w/w)

.

### *7.4.1.2 **Właściwości barierowe***

Wpływ nanonapełniaczy na właściwości barierowe nieplastyfikowanych nanokompozytów żelatynowych zestawiono w Tabeli 30. Folie z dodatkiem 10% hydrofilowego Closite®$Na^+$ wykazywały około 30% mniejsze WVP w porównaniu z niemodyfikowanymi foliami żelatynowymi. Efektu tego nie zaobserwowano po zastosowaniu hydrofilowego Nanomer®PGV. Z drugiej strony zmniejszenie WVP folii nanokompozytowych o około 22-27% miało miejsce po zastosowaniu hydrofobowego Nanofil®2 w stężeniu 5-15%. Polepszenie barierowości folii w obecności nanonapełniaczy może wynikać z wydłużenia drogi migracji cząsteczek wody w nanokompozycie (Echeverria i in., 2014; Kumar i in., 2010; Zeng i in., 2005) oraz z wzajemnego oddziaływania pomiędzy hydrofilowym białkiem, a nanonapełniaczem. Według Tunc i in. (2007) oraz Echeverria i in. (2014) nanonapełniacz ogranicza dostępność hydrofilowych miejsc polimeru do sorpcji cząsteczek wody. W przypadku hydrofobowych nanonapełniaczy może mieć miejsce przypuszczalnie pierwszy mechanizm.

Dane literaturowe wskazują, że obecność hydrofilowych nanonapełniczy w plastyfikowanych foliach powoduje ograniczenie WVP, chociaż w różnym stopniu (Echeverria i in., 2014; Kumar i in., 2010; Tunc i in., 2007; Bae i in., 2009; Sothornvit i in., 2009). Dodatkowo Kanmani i Rhim ( 2014 ) oraz Rhim i in. (2005) wykazali, iż poprawa właściwości barierowych ma miejsce również w przypadku zastosowania nanonapełniaczy hydrofobowych (Closite®30B i Nanomer 1.34TCN). Plastyfikowane 15% glicerolem folie z dodatkiem 5% Cloisite®$Na^+$ otrzymane w pracy wykazywały zmniejszenie WVP o 25%, w porównianiu z plastyfikowanymi foliami żelatynowymi. Takiego efektu nie obserwowano, jednak w przypadku folii plastyfikowanej 20% glicerolem (Tabela 31). Ograniczenie WVP, o 10 i 15%, stwierdzono również badając nanokompozyty z 5% dodatkiem Nanofil®2 plastyfikowane glicerolem w stężeniu odpowiednio 15 i 20% (Tabela 31), lecz było ono mniejsze niż w przypadku nieplastyfikowanego nanokompozytu.

Tabela 30. Wpływ nanonapełniaczy na właściwości barierowe nieplastyfikowanych folii żelatynowych:

| Stężenie nanonapełniacza [%][2] | Rodzaj nanonapełniacza | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Hydrofilowy | | Hydrofobowy | |
| | Cloisite®Na$^+$ | Nanomer®PGV | Nanofil®2 | NanoBent ZR-1 |
| | WVP [g·mm/kPa·h·m$^2$][1] | | | |
| 0 | 1,08$^{A}$ | 1,08$^{A}$ | 1,08$^{A}$ | 1,08$^{A}$ |
| 5 | 0,99$^{A}$ | 1,06$^{A}$ | 0,79$^{B}$ | 1,00$^{A}$ |
| 10 | 0,76$^{B}$ | 1,16$^{A}$ | 0,84$^{B}$ | 0,98$^{A}$ |
| 15 | 0,97$^{A}$ | 1,17$^{A}$ | 0,84$^{B}$ | 1,03$^{A}$ |

[1] Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy w kolumnach oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$).
[2] Stężenie w stosunku do masy polimeru (w/w).

Tabela 31. Wpływ 5% (w/w) nanonapełniaczy na właściwości barierowe plastyfikowanych folii żelatynowych.

| Folia | WVP [g·mm/kPa·h·m$^2$][1] | | |
|---|---|---|---|
| | Zawartość glicerolu [%][2] | | |
| | 0 | 15 | 20 |
| Niemodyfikowana | 1,08$^{aA}$ | 1,24$^{bA}$ | 1,26$^{bA}$ |
| z Cloisite®Na$^+$ | 0,99$^{aA}$ | 0,95$^{aB}$ | 1,31$^{bA}$ |
| z Nanomer®PGV | 1,06$^{aA}$ | 1,30$^{bA}$ | 1,33$^{bA}$ |
| z Nanofil®2 | 0,79$^{aA}$ | 1,12$^{bB}$ | 1,07$^{bB}$ |
| z NanoBent ZR-1 | 1,00$^{aAB}$ | 1,18$^{bB}$ | 1,11$^{bB}$ |

[1] Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$): w wierszach (a-b) w zależności od stężenia plastyfikatora, w kolumnach (A-B) w zależności od stężenia nanonapełniacza
[2] Stężenie w stosunku do masy białka (w/w)

#### *7.4.1.3 **Rozpuszczalność***

Na ograniczenie rozpuszczalności modyfikowanych folii żelatynowych wpływ miał charakter użytego nanonapełniacza (Tabela 32). Folie z dodatkiem nanonapełniaczy o charakterze hydrofilowym były mniej rozpuszczalne w wodzie niż folie z dodatkiem nanonapełniaczy hydrofobowych. Dodatek Cloisite®Na$^+$ oraz Nanomer®PGV ograniczył rozpuszczalność folii żelatynowych odpowiednio o 13 i 17%, natomiast dodatek Nanofil®2 i NanoBent ZR-1 w nieco mniejszym stopniu. Przyczyną takiego zróżnicowania może być kompatybilność hydrofilowej matrycy żelatynowej, lepsza z nanonapełniaczem hydrofilowym niż hydrofobowym (Bea i in., 2009; Zheng i in., 2002).

Tabela 32. Rozpuszczalność w wodzie folii żelatynowej z dodatkiem 5% nanonapełniacza.

| Folia | R [%][1] |
|---|---|
| Niemodyfikowana | 87,9 ± 0,8[d] |
| z Cloisite®Na$^+$ | 76,8 ± 0,4[b] |
| z Nanomer®PGV | 72,9 ± 2,6[a] |
| z Nanofil®2 | 81,4 ± 0,3[c] |
| z NanoBent ZR-1 | 76,6 ± 2,5[b] |

[1]Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy w wierszach oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$).

#### *7.4.1.4 Analiza FT-IR*

Widma FT-**IR nanonapełniaczy**

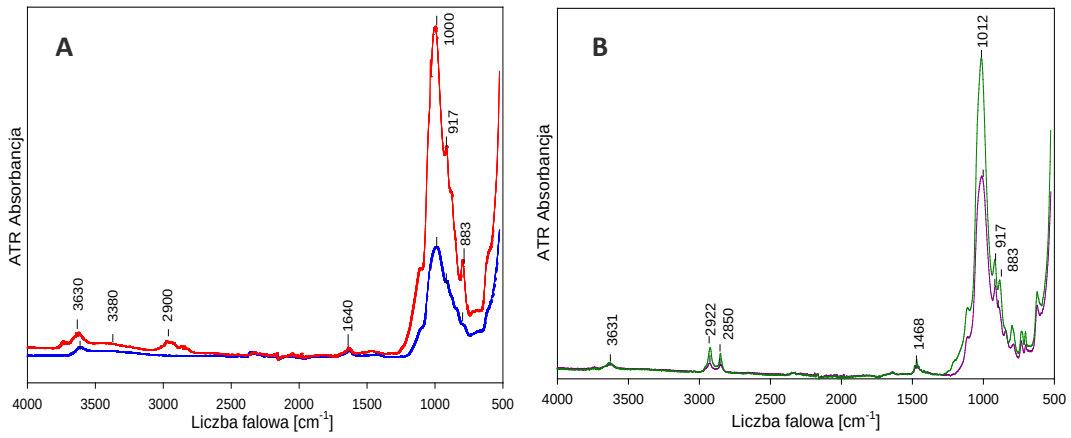
Przed przystąpieniem do analizy widm FT-IR folii nanokompozytowych wykonano analizę widm samych nanonapełniaczy.

W widmach Cloisite®Na$^+$ i Nanomer®PGV (Rysunek 25A), można było zaobserwować pasma absorpcyjne w zakresie liczb falowych 3700-3100 cm$^{-1}$, przy 1640 cm$^{-1}$ oraz w zakresie 1200-800 cm$^{-1}$. Maksima tych pasm przy 3630, 1640 oraz 1000 cm$^{-1}$ reprezentują, odpowiednio, drgania rozciągające wiązania O–H w niezwiązanych grupach hydroksylowych (Huang i in., 2004; Greesh i in., 2007; Mallakpour i Dinari, 2010), drgania zginające wiązania O–H w grupach hydroksylowych pochodzących od cząsteczek wody (Greesh i in., 2007; Mallakpour i Dinari, 2010) oraz drgania rozciągające wiązania Si–O w ugrupowaniu Si–O–Si (Uchino i in., 1991; Greesh i in., 2007). W przypadku ostatniego pasma, poza maksimum, występowały dodatkowo dwa piki, jeden przy 917 cm$^{-1}$, a drugi przy 883 cm$^{-1}$, oba odpowiadające drganiom rozciągającym wiązania Si–O w grupach silanolowych (Uchino i in., 1989).

Porównując widma obu nanonapełniaczy hydrofilowych można było zauważyć, że widmo Cloisite®Na$^+$ różniło się od widma Nanomer®PGV większą intensywnością pasm 3700-3100 cm$^{-1}$ i 1200-800 cm$^{-1}$. W widmie Cloisite®Na$^+$ można było ponadto zaobserwować dwa dodatkowe pasma, jedno słabo zarysowane przy ok. 3380 cm$^{-1}$, a drugie w zakresie 3000-2800 cm$^{-1}$. Pierwsze pasmo odpowiada drganiom rozciągającym wiązania O–H w grupach hydroksylowych powiązanych wiązaniami wodorowymi (Huang i in., 2004; Greesh i in., 2007; Mallakpour i Dinari, 2010), natomiast drugie, obserwowane również przez Kuczyńską i in. (2008) oraz przez Greesh i in. (2007), nie zostało dokładnie scharakteryzowane. Z kolei Liu i in. (2010) oraz Mallakpour i Dinari (2010), analizując widmo Cloisite®Na$^+$, w ogóle nie zaobserwowali pojawienia się takiego pasma.

W widmach NanoBent ZR-1 i Nanofil®2 (Rysunek 25B), występowały wszystkie pasma charakterystyczne dla widm nanonapełniaczy hydrofilowych, za wyjątkiem pasm przy liczbach falowych 3380 i 1640 $cm^{-1}$, co świadczy o większej hydrofobowości tych nanonapełniaczy niż Cloisite®$Na^+$ i Nanomer®PGV. W widmach tych można było ponadto zauważyć pasma przy 2922, 2850 oraz 1468 $cm^{-1}$, których w widmach nanonapełniaczy hydrofilowych nie obserwowano. Odpowiadają one, odpowiednio, asymetrycznym i symetrycznym drganiom rozciągającym wiązania C–H w grupach $CH_2$ oraz drganiom deformacyjnym wiązania O–H (Xu i in., 2006). Obecność tych pasm wynikała z modyfikacji nanonapełniaczy solami amoniowymi, zawierającymi łańcuchy alkilowe.

Porównując widma obu nanonapełniaczy hydrofobowych, można było zauważyć, że widmo Nanofil®2, w porównaniu z widmem NanoBent ZR-1, charakteryzuje się większą intensywnością wszystkich pasm absorpcyjnych.




Rysunek 25. Widma FT-IR nanonapełniaczy hydrofilowych (A): Cloisite®$Na^+$ (—) i Nanomer®PGV (—) oraz hydrofobowych (B): NanoBent ZR-1 (—) i Nanofil®2 (—).

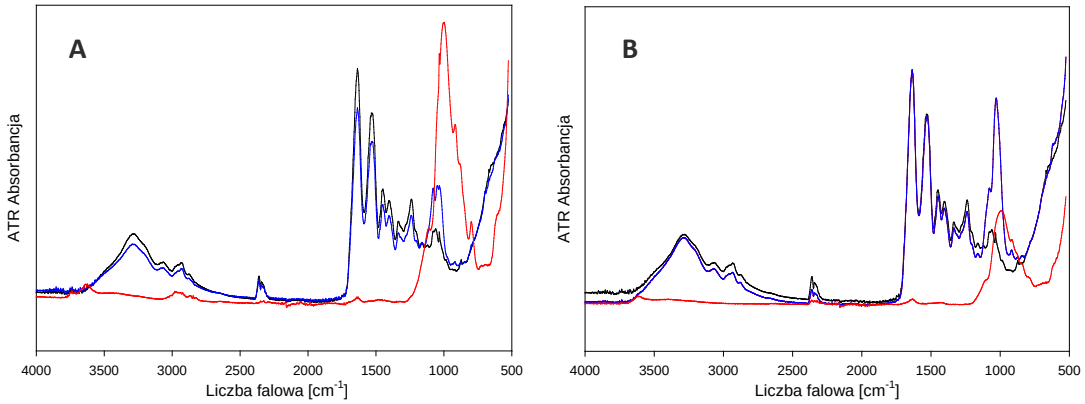
### Widma FT-**IR nanokompozytowych folii na bazie żelatyny**

W widmach nanokompozytowych folii żelatynowych, oprócz pasm charakterystycznych dla wiązań peptydowych żelatyny pojawiło się dodatkowe, intensywne pasmo, w zakresie 1200-800 $cm^{-1}$ pochodzące od nanonapełniaczy (Rysunek 26 i 27). W przypadku hydrofilowych nanonapełniaczy, było ono przesunięte w stosunku do położenia jakie zajmowało w widmach Cloisite®$Na^+$ i Nanomer®PGV średnio o ok. 35 $cm^{-1}$ w kierunku wyższych liczb falowych, bez względu na stężenie nanonapełniacza w folii (Tabela 33). W obecności nanonapełniaczy hydrofobowych, podobne przesunięcie, o ok. 21 $cm^{-1}$, powodował jedynie 5% dodatek NanoBent ZR-1 (Tabela 33). Ponieważ pasmo to odpowiada za drgania rozciągające wiązania Si–O w

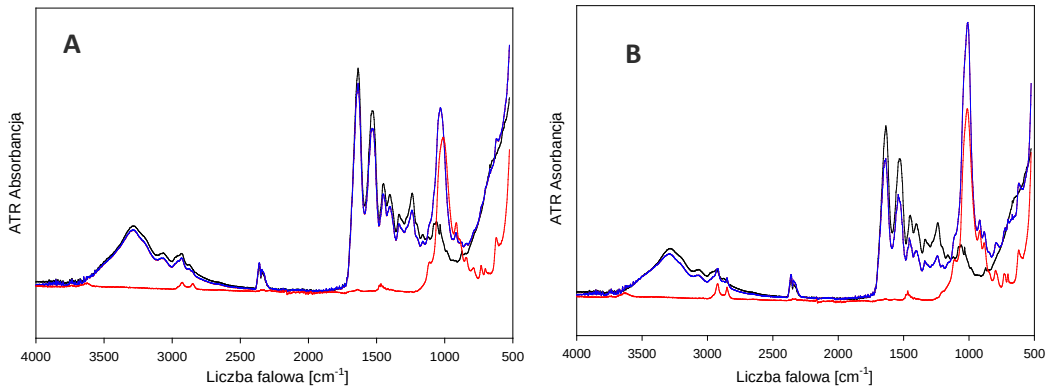
ugrupowaniu Si–O–Si, jego przesunięcie mogło świadczyć o zaangażowaniu ugrupowania Si–O–Si tych nanonapełniaczy w oddziaływania z matrycą żelatynową (Alshabant i Mekhamer, 2013; Deka i Karak, 2009).

Wszystkie widma nanokompozytowych folii żelatynowych, za wyjątkiem tej z dodatkiem Nanomer®PGV, miały ponadto obniżoną intensywność pasm amidowego I, amidowego II i amidowego III. W widmach różnicowych przejawiało się to pikami z odpowiednimi minimami (Rysunek 28 i 29). Payne i Veis (1988) porównując widmo folii żelatynowej z widmem żelatyny cielęcej zaobserwowali efekt odwrotny, a więc wzrost intensywności pasm amidowych. Autorzy tłumaczą to zwiększonym uwodnieniem żelatyny w folii i tworzeniem nowych wiązań wodorowych pomiędzy czasteczkami wody, a grupami karbonylowymi występującymi w żelatynie. Podobny efekt zaobserwowali Yakimes i in. (2005) porównując widma uwodnionych w różnym stopniu folii z żelatyny wołowej i także tłumaczą go zwiększonym uwodnieniem żelatyny. Dlatego obserwowane zmniejszenie intensywności pasm amidowych w widmach folii żelatynowych modyfikowanych hydrofobowymi NanoBent ZR-1 i Nanofil®2 oraz hydrofilowym Cloisite®$Na^+$ mogą wskazywać na zwiększoną hydrofobowość łańcuchów żelatynowych po modyfikacji tymi nanonapełniaczami. Najprawdopodobniej ograniczyły one dostępność hydrofilowych grup żelatyny do wiązania cząsteczek wody.

W widmach folii żelatynowych modyfikowanych hydrofobowymi nanonapełniaczami zaobserwowano także przesunięcie pasma amidowego A o ok. 5 $cm^{-1}$ w kierunku wyższych liczb falowych w porównaniu do jego położenia w widmie folii żelatynowej niemodyfikowanej (Tabela 33). Sionkowska i in. (2006) badając folie z kolagenu także wykazali przesunięcie pasma amidowego A (o 14 $cm^{-1}$), ale w kierunku niższych liczb falowych, po naświetlaniu folii światłem słonecznym. Autorzy obserwacje te tłumaczą zrywaniem wiązań wodorowych w strukturze kolagenu na skutek naświetlania folii. Zatem przesunięcie pasma amidowego A w widmie folii żelatynowych na skutek modyfikacji NanoBent ZR-1 i Nanofil®2 w kierunku przeciwnym może wskazywać na tworzenie się nowych wiązań wodorowych w łańcuchach żelatynowych tej folii (Tabela 33).




Rysunek 26. Widma FT-IR folii żelatynowych modyfikowanych 5% dodatkiem nanonapełniaczy hydrofilowych (—): (A) Cloisite®Na+, (B) Nanomer®PGV. Dla porównania przedstawiono widma folii żelatynowej niemodyfikowanej (—) oraz nanonapełniacza (—).

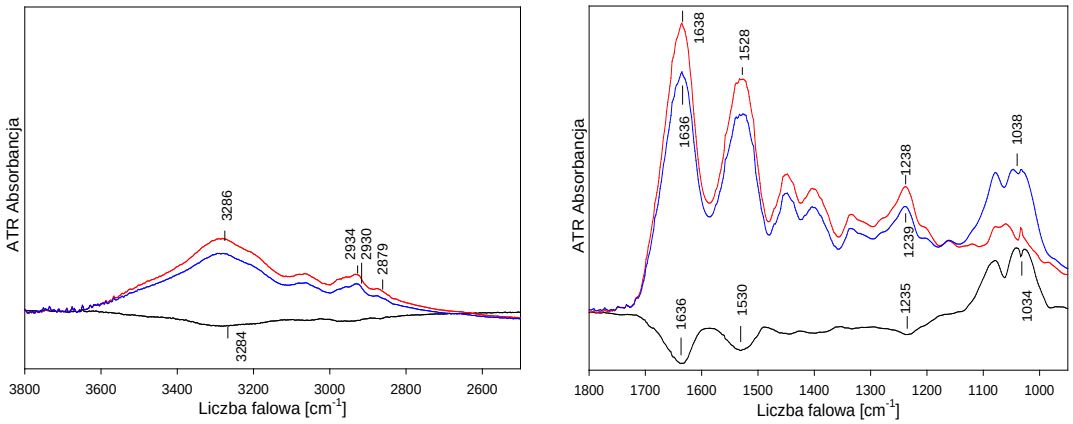



Rysunek 27. Widma FT-IR folii żelatynowych modyfikowanych 5% dodatkiem nanonapełniaczy hydrofobowych (—): (A) NanoBent ZR-1, (B) Nanofil® 2. Dla porównania przedstawiono widma folii żelatynowej niemodyfikowanej (—) oraz nanonapełniacza (—).

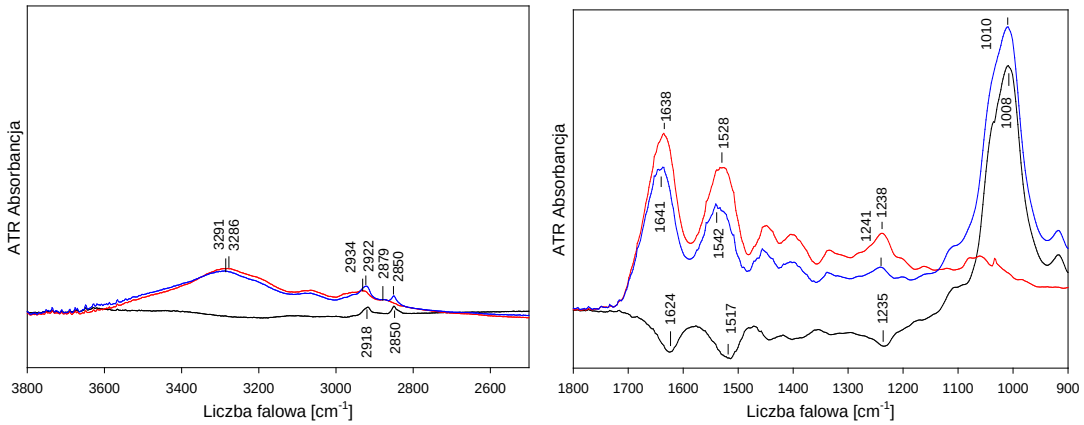
W widmach folii modyfikowanych NanoBent ZR-1 oraz Nanofil®2, pojawiło się też dodatkowe pasmo z maksimami przy 2922 i 2850 $cm^{-1}$, pochodzące od tych nanonapełniaczy. Ponieważ nakłada się ono z pasmem odpowiadającym drganiom wiązania C–H w grupach $CH_2$ żelatyny (Tabela 33), jest ono wyraźnie widoczne dopiero w widmie różnicowym (maksima przy 2918 i 2850 $cm^{-1}$, Rysunek 29). Obecność tego pasma wynika z modyfikacji nanonapełniaczy związkami organicznymi, mającej na celu rozsunięcie odległości pomiędzy pakietami nanonapełniacza i ułatwienie wniknięcia w nie łańcuchom żelatyny. Brak przesunięć w położeniu pasma sugeruje jednak, że po wprowadzeniu NanoBent ZR-1 oraz Nanofil®2 do żelatyny, żadna zmiana pomiędzy pakietami tych nanonapełniaczy nie zaszła.

Tabela 33. Wpływ rodzaju i stężenia nanonapełniacza na charakterystykę pasm absorpcyjnych w widmach folii żelatynowych.

| Folia | Pozycja pasm [$cm^{-1}$] | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Amidowe A | Grup $CH_2$ | Amidowe I | Amidowe II | Amidowe III | Dodatkowe |
| niemodyfikowana | 3286 | 2934, 2879 | 1638 | 1528 | 1238 | – |
| z 5% Cloisite®$Na^+$ | 3286 | 2930, 2879 | 1636 | 1528 | 1239 | 1038 |
| z 10% Cloisite®$Na^+$ | 3286 | 2930, 2879 | 1636 | 1528 | 1239 | 1038 |
| z 15% Cloisite®$Na^+$ | 3286 | 2935, 2879 | 1636 | 1528 | 1239 | 1038 |
| Cloisite®$Na^+$ | – | – | – | – | – | 1000 |
| z 5% Nanomer®PGV | 3286 | 2934, 2878 | 1636 | 1528 | 1239 | 1029 |
| z 10% Nanomer®PGV | 3288 | 2933, 2878 | 1637 | 1528 | 1239 | 1028 |
| z 15% Nanomer®PGV | 3288 | 2937, 2875 | 1637 | 1528 | 1240 | 1019 |
| Nanomer®PGV | – | – | – | – | – | 991 |
| z 5% NanoBent ZR-1 | 3287 | 2931, 2879 | 1636 | 1528 | 1239 | 1032 |
| z 10% NanoBent ZR-1 | 3290 | 2928, 2852 | 1639 | 1531 | 1239 | 1015 |
| z 15% NanoBent ZR-1 | 3290 | 2928, 2852 | 1639 | 1531 | 1239 | 1002 |
| NanoBent ZR-1 | – | 2928, 2850 | – | – | – | 1011 |
| z 5% Nanofil®2 | 3291 | 2922, 2850 | 1641 | 1542 | 1241 | 1010 |
| z 10% Nanofil®2 | 3291 | 2922, 2850 | 1641 | 1542 | 1241 | 1011 |
| z 15% Nanofil®2 | 3291 | 2922, 2850 | 1641 | 1542 | 1241 | 1009 |
| Nanofil®2 | – | 2922, 2850 | – | – | – | 1013 |




Rysunek 28. Różnicowe widmo FT-IR (—) powstałe po odjęciu od widma folii żelatynowej modyfikowanej dodatkiem 5% Cloisite®$Na^+$ (—) widma folii żelatynowej (—).

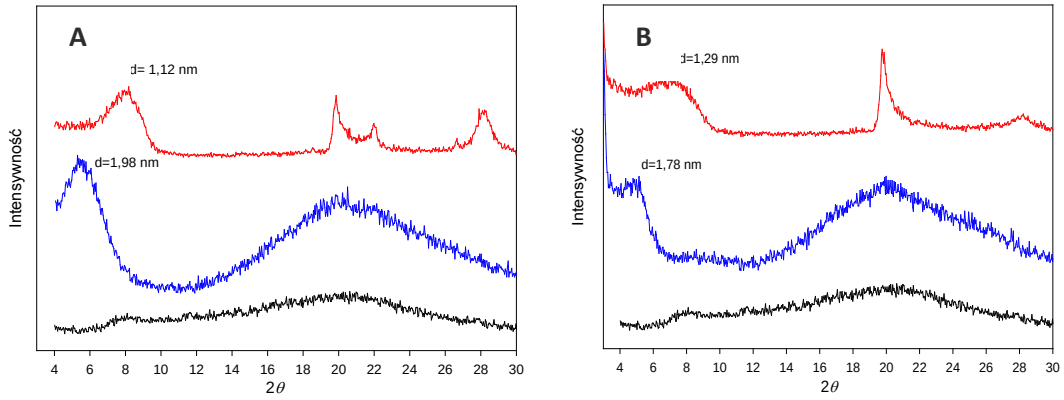



Rysunek 29. Różnicowe widmo FT-IR (—) powstałe po odjęciu od widma folii żelatynowej modyfikowanej dodatkiem 5% Nanofil®2 (—) widma folii żelatynowej (—).

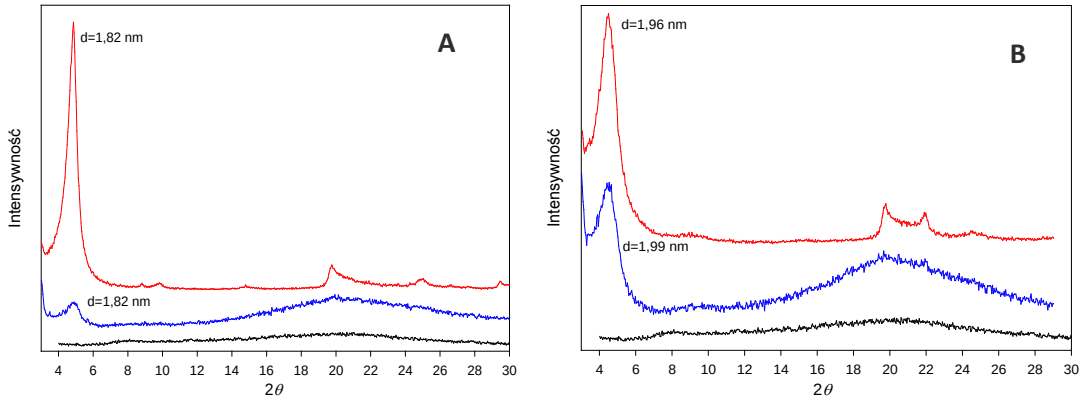
### *7.4.1.5 Rentgenowska analiza dyfrakcyjna*

Dodanie nanonapełniacza do matrycy polimerowej powoduje powstanie jednej z trzech struktur nanokompozytowych: interkalowanej, flokulowanej lub eksfoliowanej (Ray i Okamoto, 2003). Jak już wcześniej wspomniano, najbardziej pożądaną wśród nich, charakteryzującą się najwyższym stopniem rozproszenia nanonapełniacza w matrycy polimerowej, jest struktura eksfoliowana (Gołębiewski, 2003). W celu zidentyfikowania tworzącej się struktury wykonano najpierw dyfraktogramy samych nanonapełniaczy, a następnie dyfraktogramy folii przed i po modyfikacji tymi nanonapełniaczami.

W dyfraktogramach Cloisite®$Na^+$ i Nanomer®PGV (Rysunek 30), widoczne są piki przy kącie ugięcia $2\theta$ równym, odpowiednio, 7,87 i 6,83˚, natomiast w dyfraktogramach NanoBent ZR-1 i Nanofil®2 (Rysunek 31) piki, odpowiednio, przy $2\theta$ 4,85˚ i 4,51˚. Znając wartość tych kątów, z Prawa Bragg'a obliczono odległość międzypłaszczyznową d w nanonapełniaczach. W przypadku hydrofilowych nanonapełniaczy wynosiła ona 1,12 nm dla Cloisite®$Na^+$ i 1,29 nm dla Nanomer®PGV (Rysunek 30), a w przypadku hydrofobowych nanonapełniaczy – 1,82 nm dla NanoBent ZR-1 i 1,96 nm dla Nanofil®2 (Rysunek 31). Większa odległość międzypłaszczyznowa w nanonapełniaczach hydrofobowych, w porównaniu z hydrofilowymi, jest wynikiem modyfikacji NanoBent ZR-1 i Nanofil®2 czwartorzędowymi solami amoniowymi, zawierającymi łańcuchy alkilowe (Malesa, 2004; Rao, 2007). Wnikając pomiędzy pakiety nanonapełniacza powodują one rozsunięcie jego galerii i zwiększenie d.




Rysunek 30. Dyfraktogramy X-ray folii żelatynowych modyfikowanych 5% dodatkiem nanonapełniaczy hydrofilowych (—): (A) Cloisite®Na⁺, (B) Nanomer®PGV. Dla porównania przedstawiono dyfraktogramy folii żelatynowej niemodyfikowanej (—) oraz nanonapełniacza (—).




Rysunek 31. Dyfraktogramy X-ray folii żelatynowych modyfikowanych 5% dodatkiem nanonapełniaczy hydrofobowych (—): (A) NanoBent ZR-1, (B) Nanofil®2. Dla porównania przedstawiono dyfraktogramy folii żelatynowej niemodyfikowanej (—) oraz nanonapełniacza (—).

W dyfraktogramie folii żelatynowej (Rysunek 30 i 31) można zaobserwować szerokie pasmo z maksimum dla kąta odbłysku 2$\theta$ równego 20°, charakterystyczne dla materiałów o strukturze semikrystalicznej, oraz słabo zarysowany pik przy 2$\theta$ około 8°, świadczący o obecności w strukturze polimeru potrójnej helisy (Riverso i in., 2010).

Po dodaniu do matrycy żelatynowej nanonapełniacza, w dyfraktogramach utworzonych folii pojawił się pik pochodzący od samego nanonapełniacza (Rysunek 30 i 31), który w przypadku hydrofilowego charakteru Cloisite®Na⁺ i Nanomer®PGV był przesunięty w kierunku mniejszych kątów, odpowiednio z 7,87 i 6,83 do 4,47 i 4,96° (Rysunek 30). Obliczona z prawa Bragg'a dla tych wartości odległość międzypłaszczyznowa d wynosi, odpowiednio, 1,98 i 1,78 nm, co oznacza, że zwiększyła się ona o 78 nm w przypadku Cloisite®Na⁺ i o 49 nm w przypadku Nanomer®PGV. Podobne zmiany w dyfraktogramach folii żelatynowych obserwowali

Rao (2007) oraz Zheng i in. (2002) po dodaniu do matrycy żelatynowej hydrofilowego Cloisite®Na$^+$ oraz hydrofilowego MMT. Według autorów zwiększona odległość międzypłaszczyznowa d świadczy o wniknięciu łańcuchów polipeptydowych żelatyny w galerie pomiędzy pakiety nanonapełniacza i o utworzeniu struktury interkalowanej. W przypadku hydrofobowych nanonapełniaczy NanoBent ZR-1 i Nanofil®2 nie zaobserwowano w dyfraktogramach podobnych przesunięć pików, które świadczyłyby o wzroście wartości d (Rysunek 31). Oznacza to, że łańcuchy polipeptydowe żelatyny nie wniknęły między galerie tych nanonapełniaczy.

#### *7.4.1.6 **Właściwości termiczne** ( TGA i DSC)*

Termogramy TGA

Krzywe termiczne folii z nanonapełniaczami, jak i bez nanonapełniaczy, nie różniły się między sobą, dlatego ich charakterystykę, uwzględniającą parametry termiczne, przedstawiono jedynie w tabelach.

Nanokompozytowe folie na bazie żelatyny utrzymywały wodę w nieco mniejszym stopniu niż folie bez nanonapełniaczy, o czym świadczą mniejsze ubytki masy zarejestrowane podczas ogrzewania folii w zakresie temperatur 25-150ºC, oraz rozkładały się w wyższych temperaturach, zwłaszcza te modyfikowane Cloisite®Na$^+$ i Nanomer®PGV (Tabela 34). Wzrost stabilności termicznej folii żelatynowej, modyfikowanej Cloisite®Na$^+$, obserwowali również Martucci i in. (2007). Według autorów był on spowodowany utworzeniem eksfoliowanej lub częściowo eksfoliowanej i interkalowanej struktury. Dlatego obserwowane zwiększenie stabilności termicznej nanokompozytów żelatynowych modyfikowanych hydrofilowymi Cloisite®Na$^+$ i Nanomer®PGV wynikała z utworzenia przez nie struktury interkalowanej, co potwierdziła rentgenowska analiza dyfrakcyjna.

Tabela 34. Właściwości termiczne folii żelatynowych modyfikowanych nanonapełniaczami.

| Folia | Zakres temperatur [$^o$C] | Ubytek masy [%] | DTG [$^o$C] |
|---|---|---|---|
| niemodyfikowana | 25 – 150 | 6 | 123 |
| | 200 – 500 | 60 | 308 |
| z Cloisite®Na$^+$ | 25 – 150 | 4 | 98 |
| | 200 – 500 | 57 | 316 |
| z Nanomer®PGV | 25 – 150 | 4 | 91 |
| | 200 – 500 | 57 | 312 |
| z NanoBent ZR-1 | 25 – 150 | 4 | 118 |
| | 200 – 500 | 59 | 310 |
| z Nanofil®2 | 25 – 150 | 4 | 90 |
| | 200 – 500 | 59 | 308 |

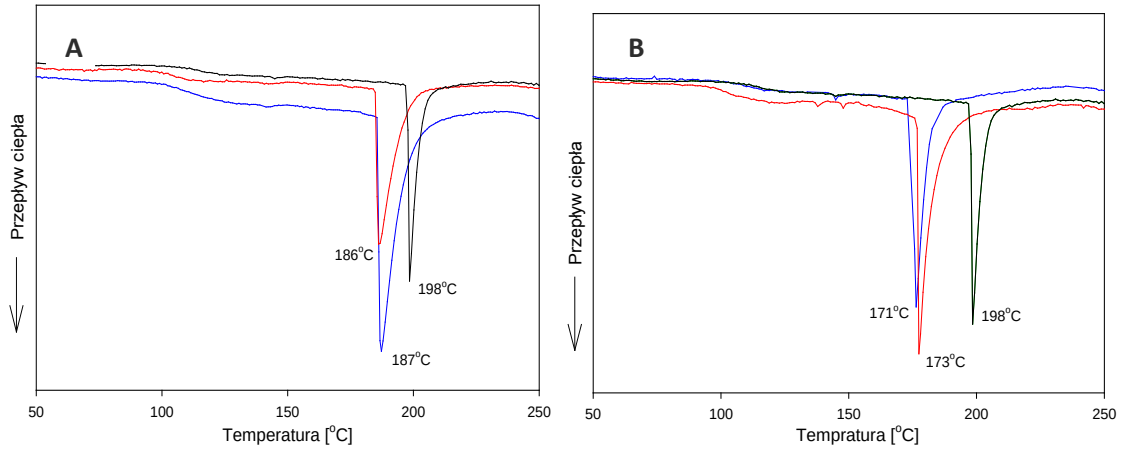
Termogramy DSC

5% dodatek nanonapełniacza powodował obniżenie temperatury topnienia folii żelatynowej o ok. 10 i 25°C odpowiednio, w przypadku hydrofilowych i hydrofobowych nananapełaniaczy (Rysunek 32). Zwiększenie stężenia Cloisite®$Na^+$ i Nanomer®PGV w folii skutkowało dalszym obniżeniem $T_m$, natomiast zwiększenie stężenia NanoBent ZR-1 – stopniowym jej wzrostem, jednak nie na tyle dużym, by przekroczyć $T_m$ charakterystyczną dla folii niemodyfikowanej nanonapełniaczem (Tabela 35). Zwiększenie stężenia Nanofil®2 w folii żelatynowej nie wywołało znaczących zmian $T_m$.

$T_g$ nanokompozytowych folii nie różniły się znacząco od $T_g$ folii żelatynowej. Jedynie w przypadku folii z 5% dodatkiem Cloisite®$Na^+$ można było zauważyć wzrost $T_g$ o 4°C, a w przypadku folii z 5% dodatkiem Nanofil®2, spadek $T_g$ o 7°C. Dodatek nanonapełniacza do folii żelatynowej powodował natomiast podwyższenie $\Delta H_m$. Jednak zarówno w przypadku $T_g$ jak i $\Delta H_m$ zaobserwowane różnice nie były istotne statystycznie (Tabela 35).

Rao (2007) badając folie żelatynowe modyfikowane hydrofilowym Cloisite®$Na^+$ odnotował niewielki wzrost $T_m$ i obniżenie $\Delta H_m$ folii oraz nie zaobserwował wyraźnych różnic pomiędzy $T_g$ niemodyfikowanej i modyfikowanej nanonapełniaczem folii. Obserwowane zmiany autor tłumaczył zmniejszeniem krystaliczności polimeru wskutek modyfikacji Cloisite®$Na^+$, pomimo utworzenia krystalitów o doskonalszej strukturze.

Z kolei Zheng i in. (2002) na podstawie $T_g$ stwierdzili, że wniknięcie żelatyny do wnętrza galerii hydrofilowego nanonapełniacza i tworzenie się pomiędzy łańcuchami polipeptydowymi polimeru, a nanonapełniaczem wiązań wodorowych i oddziaływań elektrostatycznych ogranicza jego ruchliwość i opóźnia termiczną degradację, co zwiększa termiczną stabilność utworzonego nanokompozytu.




Rysunek 32. Termogramy DSC folii żelatynowych modyfikowanych 5% dodatkiem nanonapełniaczy: (A) hydrofilowych Cloisite®Na⁺ (—) i Nanomer®PGV (—), (B) hydrofobowych NanoBent ZR-1 (—) i Nanofil®2 (—). Dla porównania przedstawiono termogram folii żelatynowej niemodyfikowanej (—).

Tabela 35. Wpływ nanonapełniaczy na właściwości termiczne folii żelatynowych

| Folia żelatynowa | | Parametry topnienia[1] | |
|---|---|---|---|
| | $T_g$ [°C] | $T_m$ [°C] | $\Delta H_m$ [J/g] |
| niemodyfikowana | 116 ± 1,7$^{b}$ | 198 ± 2,6$^{df}$ | 59 ± 2,8$^{ab}$ |
| z 5% Cloisite®Na⁺ | 120 ± 1,4$^{ab}$ | 186 ± 1,0$^{ab}$ | 74 ± 7,3$^{b}$ |
| z 10% Cloisite®Na⁺ | 112 ± 1,5$^{ab}$ | 179 ± 4,3$^{abc}$ | 65 ± 8,6$^{ab}$ |
| z 15% Cloisite®Na⁺ | 116 ± 1,4$^{ab}$ | 169 ± 8,6$^{ab}$ | 66 ± 5,1$^{ab}$ |
| z 5% Nanomer®PGV | 112 ± 5,0$^{ab}$ | 187 ± 3,5$^{ab}$ | 71 ± 3,8$^{ab}$ |
| z 10% Nanomer®PGV | 106 ± 7,8$^{ab}$ | 163 ± 5,8$^{bc}$ | 71 ± 16,3$^{b}$ |
| z 15% Nanomer®PGV | 109 ± 2,3$^{abc}$ | 173 ± 2,6$^{c}$ | 79 ± 2,0$^{ab}$ |
| z 5% NanoBent ZR-1 | 112 ± 4,7$^{ab}$ | 173 ± 6,9$^{cde}$ | 67 ± 8,4$^{b}$ |
| z 10% NanoBent ZR-1 | 109 ± 5,2$^{a}$ | 179 ± 2,0$^{a}$ | 74 ± 10,2$^{b}$ |
| z 15% NanoBent ZR-1 | 117 ± 5,7$^{b}$ | 185 ± 5,1$^{ab}$ | 64 ± 7,7$^{b}$ |
| z 5% Nanofil®2 | 109 ± 5,0$^{bc}$ | 171 ± 7,2$^{cd}$ | 73 ± 14,9$^{b}$ |
| z 10% Nanofil®2 | 112 ± 5,0$^{ab}$ | 174 ± 3,3$^{bc}$ | 65 ± 8,3$^{ab}$ |
| z 15% Nanofil®2 | 114 ± 5,7$^{abc}$ | 168 ± 3,4$^{ab}$ | 65 ± 1,5$^{ab}$ |

[1]Wyniki są średnią z 3-6 powtórzeń. Różne indeksy w kolumnach oznaczają różnice istotne statystycznie $p<0,05$.

## Podsumowanie

Nie stwierdzono wyraźnej zależności między hydrofilowością/hydrofobowością nanonapełniaczy, a właściwościami mechanicznymi i barierowymi wobec wody wytworzonych nanokompozytowych folii żelatynowych. Hydrofilowy Cloisite®Na⁺, użyty w stężeniu 5-10%, polepszył, a hydrofilowy Nanomer®PGV, użyty w tym samym stężeniu, pogorszył wytrzymałość mechaniczną folii żelatynowej. Dodatek 10% Cloisite®Na⁺, w przeciwieństwie do Nanomer®PGV, ograniczył też przepuszczalność pary wodnej folii żelatynowej. Z drugiej strony wytrzymałość mechaniczną folii polepszył też hydrofobowy NanoBent ZR-1, użyty w stężeniu 5-10%, jednak w przeciwieństwie do hydrofobowego Nanofil®2, nie ograniczył on WVP tej folii. Plastyfikacja nanokompozytów glicerolem osłabiła pozytywny efekt nanonapełniaczy na wytrzymałość mechaniczną i

właściwości barierowe wobec wody folii. Analiza widm FT-IR wykazała, iż wszystkie nanonapełniacze oddziaływają z matrycą żelatynową, jednak pożądaną interkalowaną strukturę, jak wykazała rentgenowska analiza dyfrakcyjna, tworzą z nią tylko nanonapełniacze hydrofilowe. Ograniczyło to prawdopodobnie ruchliwość łańcuchów żelatyny, wskutek czego zwiększyła się stabilność termiczna folii, ale obniżyła $T_m$ żelatyny.

### 7.4.2 Nanokompozyty skrobiowe

#### *7.4.2.1 **Właściwości mechaniczne***

Folie skrobiowe z dodatkiem hydrofilowego Cloisite®$Na^+$ wykazywały nadmierną kruchość i nie można było określić ich właściwości mechanicznych. Natomiast dodatek 5% hydrofilowego Nanomer®PGV wywołał 34% wzrost wytrzymałości folii skrobiowych. Dalszy wzrost stężenia tego nanonapełniacza (do 10%), podobnie jak w przypadku folii żelatynowych, nie miał już znaczącego wpływu na badanych folii, a w obecności 15% miało miejsce jej obniżenie (Tabela 36). Dodatek hydrofobowych nanonapełniaczy Nanofil®2 i NanoBent ZR-1 w stężeniach 5-15% do folii skrobiowych nie wywołał polepszenia wytrzymałości mechanicznej (Tabela 36), jednocześnie zaobserwowano istotny statystycznie spadek ich rozciągliwości. Według Cyrasa i in. (2008) brak poprawy właściwości mechanicznych może być spowodowany brakiem kompatybilności hydrofobowego nanonapełniacza z hydrofilowym polimerem oraz zmianą struktury skrobi. Park i in. (2002) badali folie otrzymane na bazie termoplastycznej skrobi ziemniaczanej (TPS) oraz Cloisite®$Na^+$ i modyfikowanych organicznie nanonapełniaczy o wzrastającej hydrofobowości: Closite®30B, Closite®10A, Closite®6A. Folie TPS/Cloisite®$Na^+$ i TPS/Closite®30B wykazywały wyższą wytrzymałość na rozciąganie i względne wydłużenie przy zerwaniu niż folie z bardziej hydrofobowymi nanonapełniaczami. $\sigma$ i $\varepsilon$ folii TPS/ Cloisite®$Na^+$ wzrastały odpowiednio o ok. 30% i 20% w porównaniu z foliami z TPS. Z kolei folie otrzymane na bazie skrobi z manioku z dodatkiem 5% MMT-$Na^+$ wykazywały jedynie niewielki wzrost $\sigma$ (Kampeerapappun i in., 2007), a przy wzroście stężenia nanonapełniacza do 15% miał miejsce spadek $\sigma$ o 45%.

Tabela 36. Wpływ nanonapełniaczy na właściwości mechaniczne nieplastyfikowanych folii

| Stężenie nanonapełniacza [%][2] | Rodzaj nanonapełniacza | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Hydrofilowy | | | | Hydrofobowy | | | |
| | Cloisite®Na⁺ | | Nanomer®PGV | | Nanofil®2 | | NanoBent ZR-1 | |
| | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] |
| 0 | $30,2^{A}$ | $3,8^{A}$ | $30,2^{A}$ | $3,8^{A}$ | $30,2^{A}$ | $3,8^{A}$ | $30,2^{A}$ | $3,8^{B}$ |
| 5 | nk | nk | $40,5^{BC}$ | $2,3^{B}$ | $27,0^{A}$ | $2,2^{A}$ | $23,2^{A}$ | $1,8^{A}$ |
| 10 | nk | nk | $42,6^{C}$ | $1,6^{BC}$ | $28,6^{A}$ | $1,8^{A}$ | $26,4^{A}$ | $1,5^{A}$ |
| 15 | nk | nk | $35,5^{AB}$ | $1,3^{C}$ | $21,8^{A}$ | $1,5^{A}$ | $23,0^{A}$ | $1,7^{A}$ |

[1] Wartość średnia z 14 prób, różne indeksy w kolumnach oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$)
[2] Stężenie w stosunku do masy polimeru (w/w)
nk – nadmierna kruchość folii

Dodatek 10% glicerolu do folii skrobiowych modyfikowanych nanonapełniaczem nie wpływał, bądź obniżał σ folii (Tabela 37). Z dostępnych danych literaturowych wynika, że obniżeniu wytrzymałości mechanicznej plastyfikowanych folii towarzyszy zwykle zwiększenie ich rozciągliwości. Takiego zjawiska nie zaobserwowano w foliach skrobiowych modyfikowanych badanymi nanonapełniaczami. Ze względu na nadmierną kruchość folii z dodatkiem Cloisite®Na⁺ plastyfikowanych 10% glicerolem nie było można określić ich właściwości mechanicznych. Natomiast σ folii plastyfikowanych 20% glicerolem zawierających hydrofilowy Cloisite®Na⁺ i hydrofobowy NanoBent ZR-1 było odpowiednio o 65% i 80% wyższe niż plastyfikowanych folii bez nanonapełniaczy (Tabela 37).

Tabela 37. Wpływ nanonapełniaczy w stężeniu 5% na właściwości mechaniczne plastyfikowanych folii skrobiowych.

| Stężenie nanonapełniacza [%] | Zawartość glicerolu [%][2] | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | | 10 | | 20 | |
| | σ MPa][1] | ε [%][1] | σ MPa][1] | ε [%][1] | σ MPa][1] | ε [%][1] |
| Niemodyfikowana | $30,2^{aA}$ | $3,8^{aA}$ | $21,1^{bB}$ | $30,2^{bA}$ | $8,4^{cA}$ | $20,9^{cA}$ |
| z Cloisite®Na⁺ | nk | nk | nk | nk | $13,8^{C}$ | $4,1^{B}$ |
| z Nanomer®PGV | $40,5^{aB}$ | $2,3^{aB}$ | $28,8^{bB}$ | $1,9^{aB}$ | $10,7^{cA}$ | $18,9^{bA}$ |
| z Nanofil®2 | $27,0^{aC}$ | $2,2^{aB}$ | $22,2^{bB}$ | $2,1^{aB}$ | $11,6^{cA}$ | $2,6^{aB}$ |
| z NanoBent ZR-1 | $23,2^{aC}$ | $1,8^{aC}$ | $14,7^{bA}$ | $1,9^{aB}$ | $15,1^{bC}$ | $2,3^{aB}$ |

[1] Wartość średnia z 14 prób, różne indeksy oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$): w kolumnach(A-C) w zależności od rodzaju nanonapełniacza, w wierszach (a-d) w zależnościom stężenia plastyfikatora
[2] Stężenie w stosunku do masy polisacharydu (w/w)
nk – nadmierna kruchość

### *7.4.2.2 **Właściwości** barierowe*

Modyfikacja folii skrobiowych zarówno hydrofilowymi, jak i hydrofobowymi nanonapełniaczami nie polepszyła barierowości otrzymanych materiałów, a w niektórych wariantach wywołała nawet zwiększenie WVP (Tabela 38). Podobnie Park i in. (2002) badając folie otrzymane na bazie termoplastycznej skrobi ziemniaczanej (TPS) oraz Cloisite®$Na^+$ i modyfikowanych organicznie nanonapełniaczy o wzrastającej hydrofobowości: Closite®30B, Closite®10A, Closite®6A. Folie TPS/Cloisite®$Na^+$ i TPS/Closite®30B nie zaobserwowali polepszenia barierowości otrzymanych folii.

Tabela 38. Wpływ nanonapełniaczy na właściwości barierowe nieplastyfikowanych folii skrobiowych:

| Stężenie nanonapełniacza [%][2] | Rodzaj nanonapełniacza | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Hydrofilowy | | Hydrofobowy | |
| | Cloisite®$Na^+$ | Nanomer®PGV | Nanofil®2 | NanoBent ZR-1 |
| | WVP [g·mm/kPa·h·m$^2$][1] | | | |
| 0 | $0,43^{A}$ | $0,43^{A}$ | $0,43^{AB}$ | $0,43^{A}$ |
| 5 | $0,54^{AB}$ | $0,48^{A}$ | $0,47^{B}$ | $0,44^{A}$ |
| 10 | $0,71^{B}$ | $0,61^{B}$ | $0,45^{B}$ | $0,42^{A}$ |
| 15 | $0,45^{A}$ | $0,60^{B}$ | $0,39^{A}$ | $0,40^{A}$ |

[1] Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy w kolumnach oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$).
[2] Stężenie w stosunku do masy polimeru (w/w).

W Tabeli 39 przedstawiono wpływ badanych nanonapełniaczy, oraz glicerolu na WVP folii skrobiowych. Obecność nanonapełniaczy w foliach plastyfikowanych 10 i 20% glicerolem z wyjątkiem Nanomer®PGV, poprawiła barierowość otrzymanych materiałów. Jak już wspomniano wcześniej, ograniczenie przepuszczalności folii w obecności zarówno hydrofilowych, jak i hydrofobowych nanonapełniaczy może być spowodowane wydłużeniem drogi migracji cząsteczek wody w nanokompozycie (Echeverria i in., 2014; Kumar i in., 2010; Zeng i in., 2005; Chang i in. 2012). W dostepnym piśmiennictwie można znaleźć wiele danych o zmniejszeniu przepuszczalności pary wodnej folii po dodaniu hydrofilowych niż hydrofobowych nanonapełniaczy, co związane jest z lepszą kompatybilnością polimeru z hydrofilowymi nanonapełniaczami (Echeverria i in., 2014; Kumar i in., 2010; Tunc i in., 2007; Bae i in., 2009; Sothornvit i in., 2009).

Tabela 39. Wpływ 5% (w/w) nanonapełniaczy na właściwości barierowe plastyfikowanych folii skrobiowych.

| Folia | WVP [g·mm/kPa·h·m$^2$][1] | | |
|---|---|---|---|
| | Zawartość glicerolu [%][2] | | |
| | 0 | 10 | 20 |
| Niemodyfikowana | 0,43$^{aA}$ | 0,64$^{bA}$ | 1,19$^{cA}$ |
| z Cloisite®Na$^+$ | 0,54$^{aB}$ | 0,57$^{aB}$ | 0,53$^{aB}$ |
| z Nanomer®PGV | 0,48$^{aA}$ | 0,68$^{bA}$ | 0,91$^{cAB}$ |
| z Nanofil®2 | 0,47$^{aA}$ | 0,45$^{aB}$ | 0,52$^{bB}$ |
| z NanoBent ZR-1 | 0,44$^{aA}$ | 0,41$^{aB}$ | 0,41$^{aB}$ |

[1] Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$): w kolumnach (A-B) w zależności od rodzaju nanonapełniacza, w wierszach (a-c) w zależności od stężenia plastyfikatora
[2] Stężenie w stosunku do masy polisacharydu (w/w)

### *7.4.2.3 **Rozpuszczalność***

Zdolność nanonapełniaczy do zmniejszenia rozpuszczalności uwypukliła się w przypadku folii skrobiowych. Dodatek hydrofilowego Cloisite®Na$^+$ i Nanomer®PGV ograniczył rozpuszczalność folii skrobiowych o odpowiednio 40 i 63%. Natomiast w obecności hydrofobowego Nanofil®2 i NanoBent ZR-1 rozpuszczalność folii skrobiowej była na podobnym poziomie jak folii niemodyfikowanej (Tabela 40). W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych dotyczących wpływu nanonapełniaczy na rozpuszczalność folii skrobiowych. Jednak ze względu na podobny skutek jaki wywołują one w foliach żelatynowych, ograniczenie rozpuszczalności spowodowane dodatkiem nanonapełniacza o charakterze hydrofilowym wywołane jest prawdopodobnie podobnym efektem.

Tabela 40. Rozpuszczalność w wodzie folii z polimerów naturalnych z dodatkiem 5% nanonapełniacza.

| Folia żelatynowa | R [%][1] |
|---|---|
| Niemodyfikowana | 40,1 ± 0,5$^c$ |
| z Cloisite®Na$^+$ | 24,6 ± 0,3$^b$ |
| z Nanomer®PGV | 14,8 ± 0,6$^a$ |
| z Nanofil®2 | 34,8 ± 4,6$^c$ |
| z NanoBent ZR-1 | 40,7 ± 2,8$^c$ |

[1]Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy w wierszach oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$).

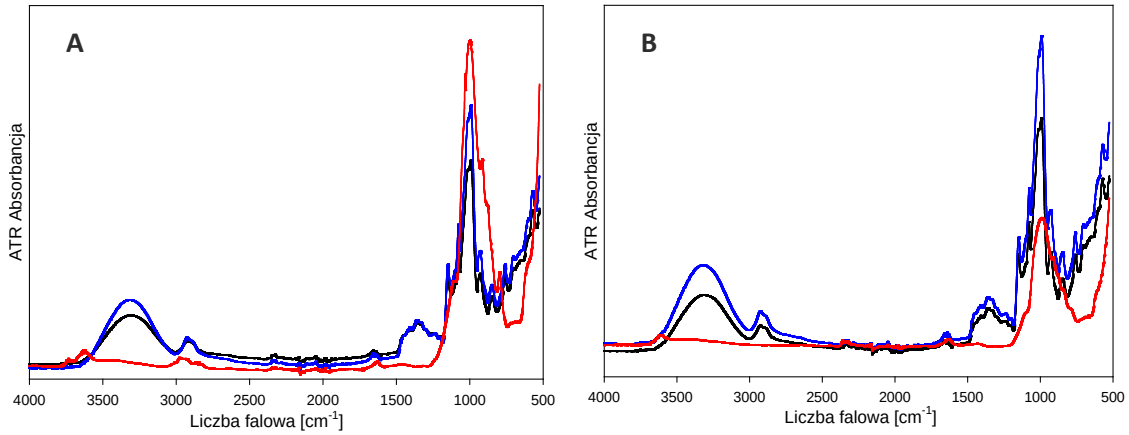
*7.4.2.4 Analiza FT-IR*

W widmach nanokompozytowych folii skrobiowych (Rysunek 33 i 34), w przeciwieństwie do widm nanokompozytowych folii żelatynowych (Rysunek 26 i 27), nie było widać dodatkowego pasma w zakresie 1200-800 $cm^{-1}$, pochodzącego od nanonapełniacza. Nie było widać go również w widmach różnicowych (Rysunek 28 i 29). Wynika to z faktu, iż pokrywa się ono z pasmem sacharydowym skrobi, leżącym w tym samym zakresie liczb falowych.

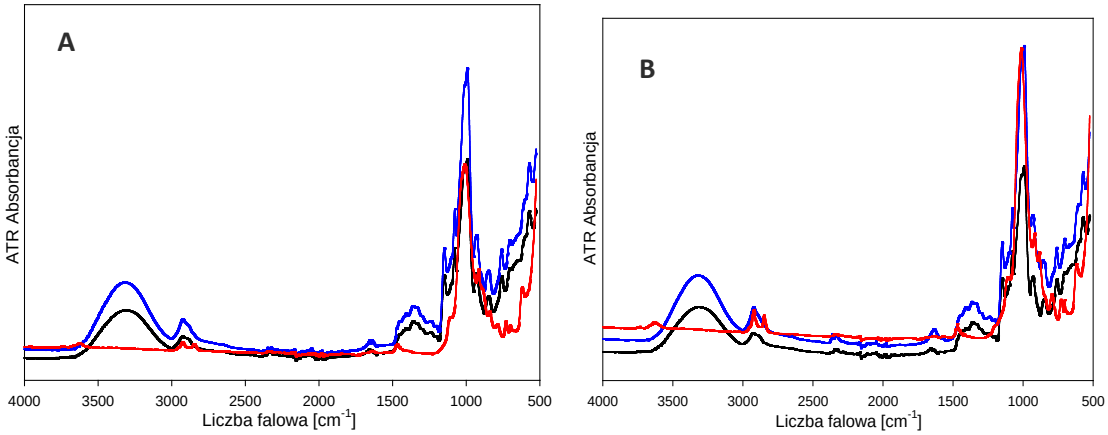
W żadnym z widm nanokompozytowych folii skrobiowych (Rysunek 33 i 34), ani też w odpowiednich widmach różnicowych (Rysunek 35 i 36) nie zaobserwowano również pasma z maksimum przy 3630 $cm^{-1}$, odpowiadającego drganiom rozciągającym wiązania O-H w niezwiązanych grupach hydroksylowych, które było widoczne w widmie nanonapełniaczy. Natomiast Liu i in. (2010) wykazali jego obecność w widmach nanokompozytowych folii ze skrobi wysokoamylozowej modyfikowanej MMT, z tym, że było ono przesunięte z 3627 $cm^{-1}$ w widmie nanonapełniacza, do 3302 $cm^{-1}$ w widmie folii nanokompozytowej. Według autorów jego przesunięcie było wynikiem interakcji skrobi z MMT. Podobne przesunięcie tegoż pasma, także w kierunku niższych liczb falowych, obserwowali Huang i in. (2004) i według tych autorów świadczyło to o utworzeniu wiązań wodorowych pomiędzy hydroksylowymi grupami MMT i hydroksylowymi grupami skrobi.

Wszystkie pasma w widmach nanokompozytowych folii charakteryzowały się natomiast zwiększoną intensywnością w porównaniu do pasm widocznych w widmie folii skrobiowej. W widmach różnicowych (Rysunek 35 i 36) przejawiało się to obecnością odpowiednich maksimów. Ponadto, chociaż w widmach nanokompozytowych folii nie zaobserwowano wyraźnego przesunięcia żadnego z pasm widocznych w widmach folii skrobiowej bez nanonapełniaczy, co wynikało z faktu, iż pokrywa się ono z pasmem sacharydowym skrobi, leżącym w tym samym zakresie liczb falowych (Tabela 41), to w widmie różnicowym folii zawierającej 5% Nanomer®PGV (Rysunek 35) zaobserwowano przesunięcie maksimum pasma 1200-800 $cm^{-1}$ z 993 $cm^{-1}$ do 982 $cm^{-1}$. Przesunięcie to może wskazywać na oddziaływania między skrobią a Nanomer®PGV.

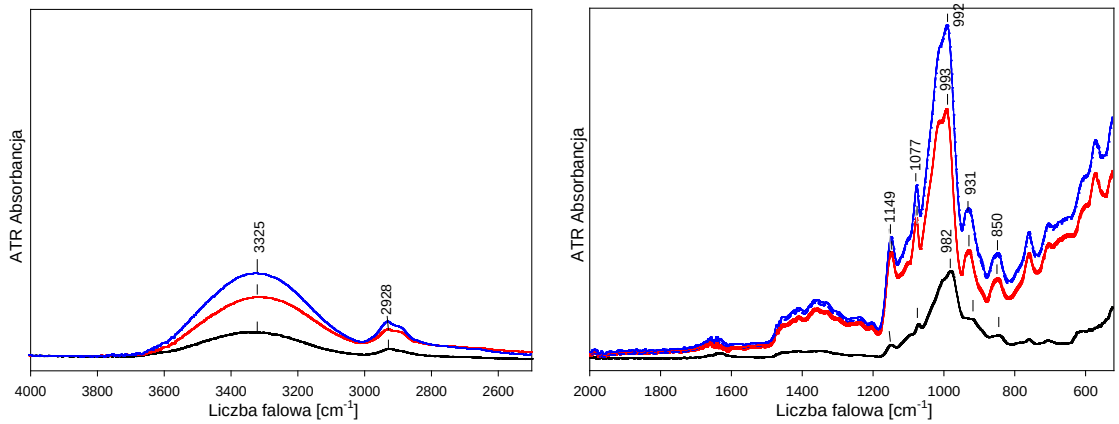
W widmie folii nanokompozytowych zawierających nanonapełniacze hydrofobowe (Rysunek 34), w paśmie 3000-2800 $cm^{-1}$ nie występował pik przy liczbie falowej 2850 $cm^{-1}$, który był widoczny w widmie samych nanonapełniaczy. Pojawił się on jednak w widmach różnicowych (Rysunek 36) i podobnie jak w widmie nanokompozytów żelatynowych, świadczy o modyfikacji NanoBent ZR-1 i Nanofil®2 związkami organicznymi.



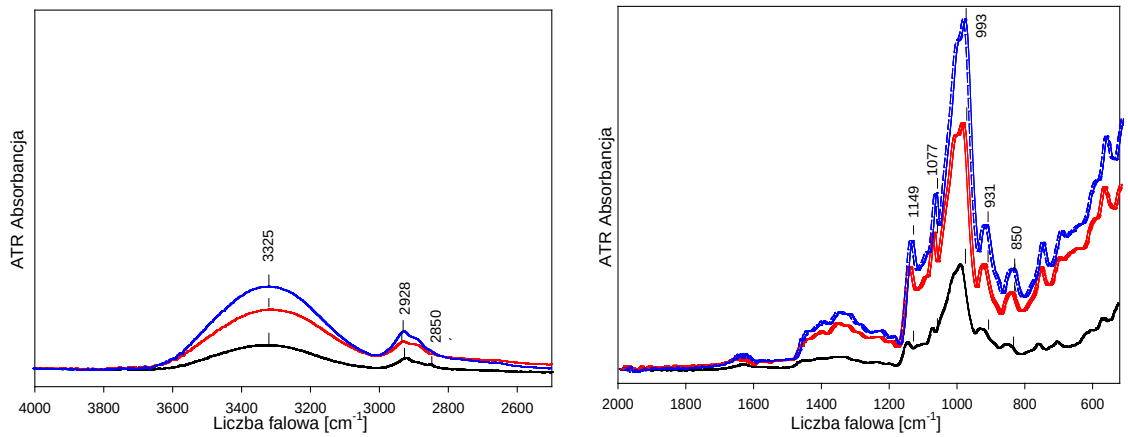

Rysunek 33. Widma FT-IR skrobi modyfikowanych 5% dodatkiem nanonapełniaczy hydrofilowych (—): (A) Cloisite®Na+, (B) Nanomer®PGV. Dla porównania przedstawiono widma folii skrobiowej niemodyfikowanej (—) oraz nanonapełniacza (—).




Rysunek 34. Widma FT-IR skrobi modyfikowanych 5% dodatkiem nanonapełniaczy hydrofobowych (—): (A) NanoBent ZR-1, (B) Nanofil® 2. Dla porównania przedstawiono widma folii skrobiowej niemodyfikowanej (—) oraz nanonapełniacza (—).




Rysunek 35. Różnicowe widmo FT-IR (—) powstałe po odjęciu od widma folii skrobiowej modyfikowanej dodatkiem 5% Nanomer®PGV (—) widma folii skrobiowej (—).




Rysunek 36. Różnicowe widmo FT-IR (—) powstałe po odjęciu od widma folii skrobiowej modyfikowanej dodatkiem 5% NanoBent ZR-1 (—) widma folii skrobiowej (—).

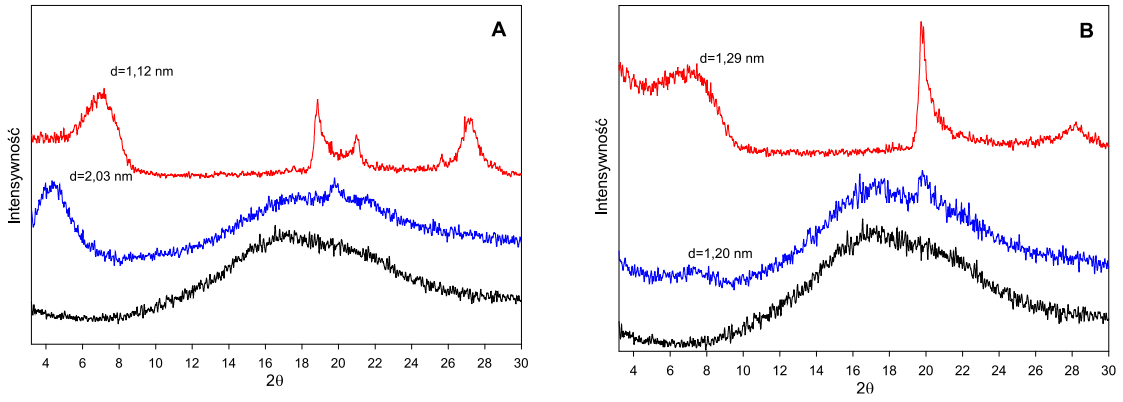
Tabela 41. Wpływ rodzaju i stężenia nanonapełniacza na charakterystykę pasm absorpcyjnych w widmach folii skrobiowych.

| Folia skrobiowa | Pozycja pasm w $cm^{-1}$ | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Amidowe A | Grup $CH_2$ | | | | | |
| niemodyfikowana | 3325 | 2928 | 1149 | 1077 | 993 | 931 | 850 |
| z 5% Cloisite®$Na^+$ | 3325 | 2927 | 1149 | 1077 | 993 | 931 | 850 |
| z 10% Cloisite®$Na^+$ | 3325 | 2927 | 1149 | 1077 | 989 | 931 | 850 |
| z 15% Cloisite®$Na^+$ | 3325 | 2927 | 1149 | 1077 | 992 | 931 | 850 |
| Cloisite®$Na^+$ | – | – | – | – | 1000 | – | – |
| z 5% Nanomer®PGV | 3325 | 2927 | 1149 | 1077 | 992 | 931 | 850 |
| z 10% Nanomer®PGV | 3331 | 2927 | 1149 | 1077 | 989 | 931 | 850 |
| z 15% Nanomer®PGV | 3323 | 2927 | 1149 | 1077 | 987 | 931 | 850 |
| Nanomer®PGV | – | – | – | – | 991 | – | – |
| z 5% NanoBent ZR-1 | 3325 | 2928 | 1149 | 1077 | 993 | 931 | 850 |
| z 10% NanoBent ZR-1 | 3325 | 2928 | 1149 | 1077 | 992 | 931 | 850 |
| z 15% NanoBent ZR-1 | 3325 | 2928 | 1149 | 1077 | 989 | 931 | 850 |
| NanoBent ZR-1 | – | 2928, 2850 | – | – | 1011 | – | – |
| z 5% Nanofil® 2 | 3325 | 2928 | 1149 | 1077 | 993 | 931 | 850 |
| z 10% Nanofil® 2 | 3325 | 2928 | 1149 | 1077 | 994 | 935 | 863 |
| z 15% Nanofil® 2 | 3325 | 2928 | 1149 | 1077 | 995 | 932 | 863 |
| Nanofil® 2 | – | 2922, 2850 | – | – | 1013 | – | – |

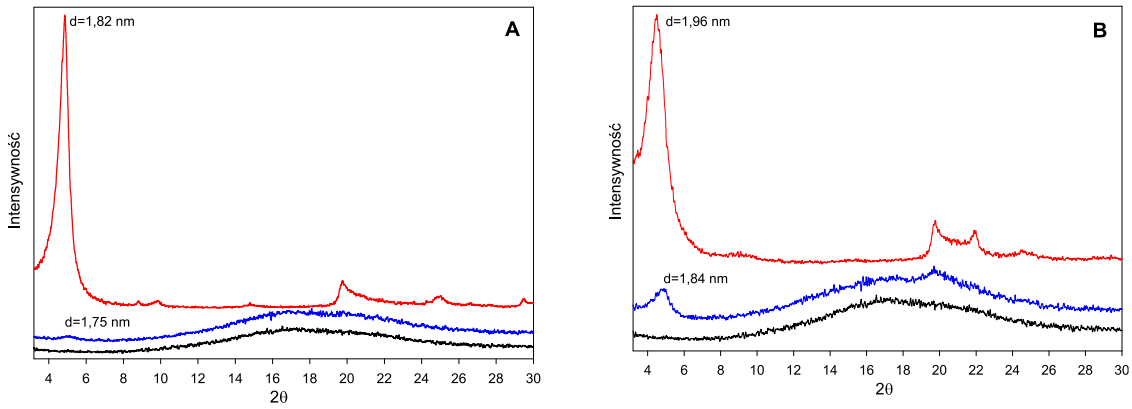
### *7.4.2.5 Rentgenowska analiza dyfrakcyjna*

W dyfraktogramie skrobi ziemniaczanej zwykle obserwuje się piki przy kącie ugięcia 2$\theta$ równym 5,8; 14,9; 19,6; 22,2 i 24,0które świadczą o strukturze krystalicznej polisacharydu (Zobel, 1988). Brak takich pików w dyfraktogramie folii skrobiowej (Rysunek 38 i 39) wskazuje na zwiększony udział w polimerze części amorficznej w stosunku do krystalicznej po utworzeniu z niego folii.

W dyfraktogramach nanokompozytowych folii skrobiowych, podobnie jak w dyfraktogramach nanokompozytowych folii żelatynowych, pojawił się pik pochodzący od nanonapełniacza (Rysunek 38 i 39). Jednak jego przesunięcie w kierunku mniejszych kątów, o ok. 3,49, widoczne było jedynie w przypadku folii skrobiowej modyfikowanej hydrofilowym Cloisite®$Na^+$ (Rysunek 38A). Podobnie jak w przypadku folii żelatynowej modyfikowanej tym samym nanonapełniaczem świadczy ono o zwiększeniu d, w tym przypadku z 1,12 nm w nanonapełniaczu do 2,03 nm w nanokompozytowej folii skrobiowej. Zwiększenie odległości międzypłaszczyznowej d z 1,17 do 1,69 nm uzyskali również Liu i in. (2010) wprowadzając hydrofilowy MMT do skrobi wysokoamylozowej. Według autorów wniknięcie łańcuchów polisacharydowych polimeru do wnętrza galerii nanonapełniacza i utworzenie struktury interkalowanej jest możliwe dzięki hydrofilowej naturze obu składników folii. W przypadku hydrofobowych nanonapełniaczy obserwowano natomiast zmniejszenie d z 1,82 do 1,75 nm w nanonapełniaczu NanoBent ZR-1 oraz brak zmian w przypadku nanonapełniacza Nanofil®2 w folii skrobiowej (Rysunek 39). Park i in. (2002) badając nanokompozyty z termoplastycznej skrobi ziemniaczanej i hydrofobowych nanonapełniaczy, nie obserwowali w dyfraktogramach przesunięć pików pochodzących od tych nanonapełniaczy. Według autorów, niekompatybilność hydrofilowej skrobi i hydrofobowych nanonapełniaczy uniemożliwiła wniknięcie łańcuchów polisacharydowych polimeru do wnętrza galerii nanonapełniacza. W dostępnym piśmiennictwie bardzo dużo badań wskazuje na brak piku po modyfikacji polimeru nanonapełniaczami. Świadczyć to może o otrzymaniu, zarówno pożądanej struktury eksfoliacyjnej nanokompozytu, jak i o braku jakichkolwiek oddziaływań nanonapełniacza z matrycą polimeru. W związku z tym zwykle wykonuje się dodatkowe badania, w celu potwierdzenia przypuszczeń, wykorzystując do tego celu na przykład TEM.




Rysunek 38. Dyfraktogramy X-ray folii skrobiowych modyfikowanych 5% dodatkiem nanonapełniaczy hydrofilowych (—): (A) Cloisite®$Na^+$, (B) Nanomer®PGV. Dla porównania przedstawiono dyfraktogramy folii skrobiowej niemodyfikowanej (—) oraz nanonapełniacza (—).




Rysunek 39. Dyfraktogramy X-ray folii skrobiowych modyfikowanych 5% dodatkiem nanonapełniaczy hydrofobowych (—): (A) NanoBent ZR-1, (B) Nanofil® 2. Dla porównania przedstawiono dyfraktogramy folii skrobiowej niemodyfikowanej (—) oraz nanonapełniacza (—).

### *7.4.2.6 **Właściwości** termiczne ( TGA i DSC)*

Termogramy TGA

Na podstawie badań analizy FT-IR oraz rentgenowskiej analizy dyfraktometrycznej do badań TGA wybrano tylko folie skrobiowe modyfikowane 5% nanonapełniaczami hydrofilowymi. Nanokompozytowe folie na bazie skrobi, podobnie jak na bazie żelatyny, utrzymywały wodę w nieco mniejszym stopniu niż folie bez nanonapełniaczy i wszystkie rozkładały się w wyższych temperaturach (Tabela 43). Cyras i in. (2008) uważają, że Cloisite®$Na^+$, jako materiał nieorganiczny ma wyższą stabilność termiczną niż organiczna skrobia, więc działa jak bariera cieplna, która poprawia stabilność termiczną nanokompozytu.

Tabela 43. Właściwości termiczne folii skrobiowych modyfikowanych 5% nanonapełniaczami na podstawie termogramów TGA.

| Folia | Zakres temperatur [°C] | Ubytek masy [%] | DTG [°C] |
|---|---|---|---|
| niemodyfikowana | 25 – 150 | 5 | 96 |
| | 200 – 400 | 66 | 301 |
| z Cloisite®$Na^+$ | 25 – 150 | 4 | 103 |
| | 200 – 400 | 70 | 311 |
| Nanomer®PGV | 25 – 150 | 4 | 81 |
| | 200 – 400 | 73 | 313 |

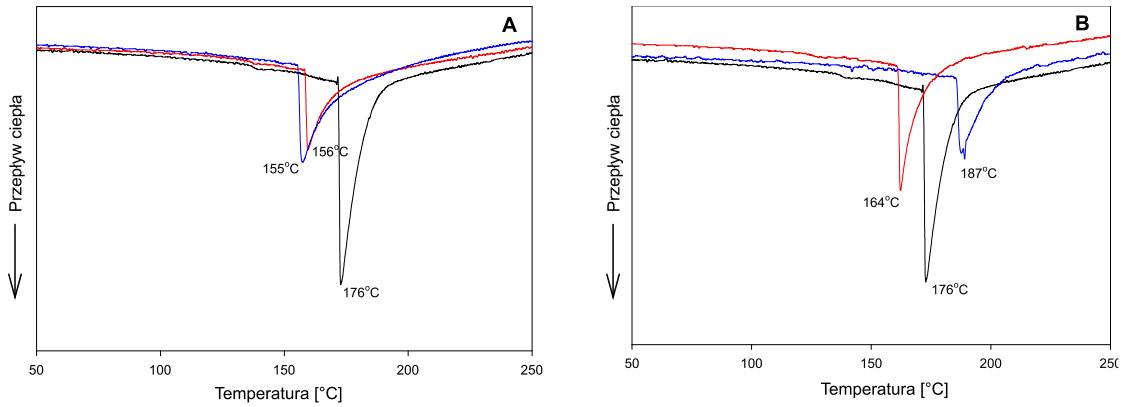
Termogramy DSC

Obecność każdego z hydrofilowych nanonapełniaczy w stężeniu 5% oraz hydrofobowego NanoBent ZR-1 w stężeniu 10% obniżał $T_m$ folii skrobiowej. W pozostałych przypadkach dodatek nanonapełniaczy pozostawał bez wpływu na $T_m$ folii (Rysunek 40, Tabela 44). W większości przypadków nanonapełniacz nie wpływał także na $\Delta H_m$ folii. Jedynie hydrofobowy NanoBent ZR-

1obecny w folii w stężeniu 5 i 10% powoduje zmianę $\Delta H_m$ istotną statystycznie. $\Delta H_m$ tych folii wzrastała o ok. 30 J/g (Tabela 44).

Dodatek nanonapełniaczy hydrofilowych w większości przypadków obniżał $T_g$ folii skrobiowej, jednak były to zmiany nieistotne statystycznie (Tabela 44). Natomiast folie modyfikowane nanonapełniaczami hydrofobowymi nie wykazują w ogóle $T_g$.

Liu i in. (2010) wykazali obniżenie $T_g$ i $T_m$ folii ze skrobi wysokoamylozowej po wprowadzeniu do niej hydrofilowego MMT. $T_g$ tej folii obniżyła się z 49,5 do 39,5°C, a $T_m$ z 126 do 109°C. Według autorów, wniknięcie łańcuchów polisacharydowych skrobi do wnętrza galerii MMT, możliwe dzięki kompatybilności skrobi i MMT, uniemożliwiło łańcuchom amylozy odtworzenie struktur krystalicznych, co spowodowało obniżenie $T_g$ i $T_m$.




Rysunek 40. Termogramy DSC folii skrobiowych modyfikowanych 5% dodatkiem nanonapełniaczy: (A) hydrofilowych Cloisite®Na⁺ (—) i Nanomer®PGV (—), (B) hydrofobowych NanoBent ZR-1 (—) i Nanofil® 2 (—). Dla porównania przedstawiono termogram folii skrobiowej niemodyfikowanej (—).

Tabela 44. Wpływ nanonapełniaczy na właściwości termiczne folii skrobiowych[1].

| Folia skrobiowa | $T_g$ [°C] | Parametry topnienia | |
|---|---|---|---|
| | | $T_m$ [°C] | $\Delta H_m$ [J/g] |
| niemodyfikowana | 155 ± 9,2$^{ab}$ | 176 ± 9,0$^{bc}$ | 73 ± 7,7$^{abc}$ |
| z 5% Cloisite®Na⁺ | 144 ± 12,1$^{a}$ | 156 ± 13,4$^{a}$ | 82 ± 7,5$^{bcd}$ |
| z 10% Cloisite®Na⁺ | 156 ± 4,8$^{ab}$ | 170 ± 6,5$^{bc}$ | 55 ± 3,9$^{a}$ |
| z 15% Cloisite®Na⁺ | 140 ± 2,7$^{a}$ | 165 ± 5,1$^{ab}$ | 74 ± 21,2$^{abc}$ |
| z 5% Nanomer®PGV | 140 ± 4,7$^{a}$ | 155 ± 10,7$^{a}$ | 77 ± 6,7$^{abcd}$ |
| z 10% Nanomer®PGV | 150 ± 0,3$^{ab}$ | 169 ± 10,8$^{abc}$ | 64 ± 9,9$^{ab}$ |
| z 15% Nanomer®PGV | 148 ± 1,8$^{ab}$ | 171 ± 9,1$^{abc}$ | 59 ± 4,8$^{ab}$ |
| z 5% NanoBent ZR-1 | – | 164 ± 2,6$^{ab}$ | 107 ± 33,4$^{d}$ |
| z 10% NanoBent ZR-1 | – | 153 ± 6,6$^{a}$ | 97 ± 4,1$^{d}$ |
| z 15% NanoBent ZR-1 | – | 160 ± 2,8$^{ab}$ | 53 ± 1,3$^{a}$ |
| z 5% Nanofil® 2 | – | 187 ± 9,0$^{c}$ | 55 ± 4,5$^{a}$ |

| | | | |
|---|---|---|---|
| z 10% Nanofil® 2 | – | 163 ± 5,8 [ab] | 69 ± 1,6 [ab] |
| z 15% Nanofil® 2 | – | 171 ± 4,5 [abc] | 72 ± 10,3 [bc] |

[1]Wyniki są średnią z 3-6 powtórzeń. Różne indeksy w kolumnach oznaczają różnice istotne statystycznie p<0,05.

## Podsumowanie

Modyfikacja folii skrobiowych zarówno hydrofilowymi, jak i hydrofobowymi nanonapełniaczami nie polepszyła barierowości otrzymanych materiałów, w niektórych wariantach wywołując nawet zwiększenie WVP. Jednakże w przypadku użycia hydrofilowych nanonapełniaczy miało miejsce ograniczenie rozpuszczalność i zwiększenie stabilność termicznej folii skrobiowej, zwłaszcza modyfikowanej przy użyciu Nanomer®PGV. Spośród zbadanych nanonapełniaczy, także jedynie hydrofilowy Nanomer®PGV w najniższym stężeniu poprawił wytrzymałość folii skrobiowej. Z powodu nadmiernej kruchości nie udało się wyznaczyć właściwości mechanicznych folii modyfikowanych Cloisite®$Na^+$, chociaż, jak wykazała rentgenograficzna analiza dyfrakcyjna, tylko w przypadku tego nanonapełniacza uzyskano strukturę interkalowaną. W obecności 20% glicerolu folie te miały prawie 2-krotnie większą wytrzymałość oraz 2-krotnie mniejszą przepuszczalność pary wodnej niż plastyfikowane folie skrobiowe bez nanonapełniacza.

### 7.4.3 Nanokompozyty chitozanowe

#### *7.4.3.1* ***Właściwości mechaniczne***

W przypadku folii chitozanowych, ograniczono stężenie zastosowanych nanonapełniaczy tylko do 5%. Wyboru dokonano na podstawie wyników badań przeprowadzonych z żelatyną i natywną skrobią ziemniaczaną (Tabela 28 i 36). W przypadku zastosowania nanonapełniaczy hydrofilowych nie uzyskano jednoznacznych wyników. Obecność Cloisite®$Na^+$ w foliach spowodowało obniżenie ich wytrzymałości o 17%, natomiast hydrofilowy Nanomer®PGV poprawił nieznacznie σ, ale istotnie statystycznie. Dodatek hydrofobowych nanonapełniaczy Nanofil®2 i NanoBent ZR-1 wywołał obniżenie σ folii chitozanowych odpowiednio o 25 i 12% (Tabela 45). Natomiast Xu i in. (2005) nie obserwowali pogorszenia σ folii chitozanowej po włączeniu nanonapełniacza Cloisite®30B o zwiększonej hydrofobowości powierzchni. Zastosowanie zarówno nanonapełniaczy hydofilowych, jak i hydrofobowych obniżyło rozciągliwość otrzymanych folii. Zależność taką zaobserwowali również Xu i in. (2005).

Zastosowanie plastyfikacji dla nanokompozytowej folii chitozanowej glicerolem w stężeniu 20 i 30% powodowało zwiększenie ε i jed noczesne obniżenie σ, jednak nadal odpowiadało ono foliom o umiarkowanych właściwościach mechanicznych. Modyfikacja

plastyfikowanych folii chitozanowych zarówno hydrofilowymi, jak i hydrofobowymi nanonapełniaczami nie powodowała zwiększenia σ, a ponadto, z reguły obniżała ε w stosunku do plastyfikowanych folii chitozanowych. Pomimo, iż dodatek plastyfikatora obniżył σ, umiarkowane właściwości mechaniczne spośród folii chitozanowych plastyfikowanych 20% glicerolem otrzymano dla folii modyfikowanych nanonapełniaczami Cloisite®Na$^+$, Nanomer®PGV i Nanofil®2, a także dla wszystkich wariantów folii plastyfikowanych 30% glicerolem (Tabela 45).

Tabela 45. Wpływ nanonapełniaczy w stężeniu 5% na właściwości mechaniczne plastyfikowanych folii chitozanowych.

| Folia | Zawartość glicerolu [%][2] | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | | 20 | | 30 | |
| | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] |
| Niemodyfikowana | 95,4$^{aA}$ | 7,4$^{aA}$ | 36,8$^{bA}$ | 26,1$^{bA}$ | 33,7$^{bA}$ | 28,4$^{bA}$ |
| z Cloisite®Na$^+$ | 79,3$^{aB}$ | 5,1$^{aC}$ | 25,2$^{bB}$ | 32,2$^{bA}$ | 25,2$^{bB}$ | 32,1$^{bC}$ |
| z Nanomer®PGV | 100,7$^{aC}$ | 4,5$^{aB}$ | 40,7$^{bA}$ | 13,0$^{bB}$ | 26,3$^{cB}$ | 18,9$^{bB}$ |
| z Nanofil® 2 | 71,6$^{aB}$ | 6,1$^{aC}$ | 40,3$^{bA}$ | 11,4$^{bB}$ | 30,9$^{cA}$ | 15,0$^{bB}$ |
| z NanoBent ZR-1 | 84,0$^{aB}$ | 4,3$^{aB}$ | 34,6$^{bA}$ | 5,9$^{aC}$ | 21,4$^{cB}$ | 16,8$^{bB}$ |

[1] Wartość średnia z 14 prób, różne indeksy oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$): w kolumnach(A-B) w zależności od rodzaju nanonapełniacza, w wierszach (a-c) w zależnościom stężenia plastyfikatora.
[2] Stężenie w stosunku do masy polisacharydu (w/w).

### *7.4.3.2 **Właściwości barierowe***

Obecność nanonapełniaczy w foliach chitozanowych nie wpłynęła znacząco lub pogarszała właściwości barierowe otrzymanych materiałów. Jedynie w przypadku zastosowania hydrofilowego Cloisite®Na$^+$ zaobserwowano nieznaczny spadek przepuszczalności pary wodnej z 0,59 do 0,49 g·mm·kPa$^{-1}$·h$^{-1}$·m$^{-2}$ (Tabela 46). W dostępnej literaturze brak jest danych na temat tego typu modyfikacji folii chitozanowych.

Natomiast w plastyfikowanych foliach dodatek hydrofobowych i hydrofilowych nanonapełniaczy w stężeniu 5% z reguły nieznacznie, ale istotnie statystycznie, zmniejszał przepuszczalność pary wodnej (Tabela 46).

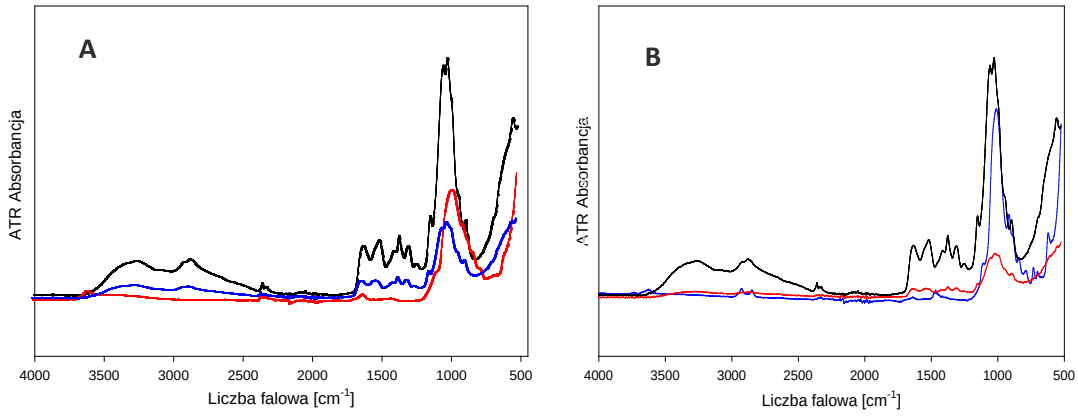
Tabela 46. Wpływ 5% (w/w) nanonapełniaczy na właściwości barierowe plastyfikowanych folii chitozanowych:

| Folia | WVP [g·mm/kPa·h·m$^2$][1] | | |
|---|---|---|---|
| | Zawartość glicerolu [%][2] | | |
| | 0 | 20 | 30 |
| Niemodyfikowana | 0,59$^{aA}$ | 0,83$^{bA}$ | 0,88$^{bA}$ |
| z Cloisite®Na$^+$ | 0,49$^{aB}$ | 0,82$^{bA}$ | 0,74$^{bA}$ |
| z Nanomer®PGV | 0,74$^{aC}$ | 0,66$^{bB}$ | 0,50$^{bB}$ |
| z Nanofil®2 | 0,57$^{bA}$ | 0,62$^{bB}$ | 0,43$^{aB}$ |
| z NanoBent ZR-1 | 0,54$^{aA}$ | 0,65$^{bB}$ | 0,48$^{cB}$ |

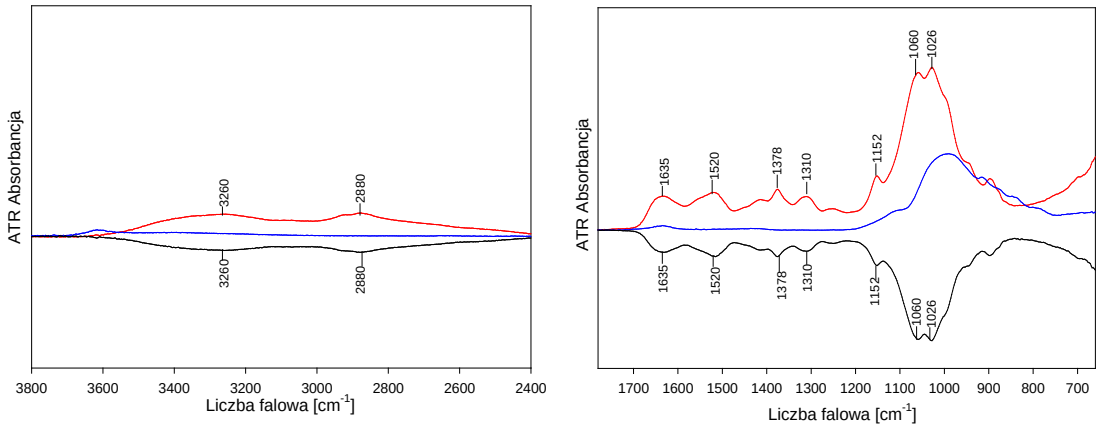
[1] Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$): w kolumnach (A-C) w zależności od rodzaju nanonapełniacza, w wierszach (a-c) w zależności od stężenia plastyfikatora.
[2] Stężenie w stosunku do masy polisacharydu (w/w).

### *7.4.3.3 Analiza widm FT-IR*

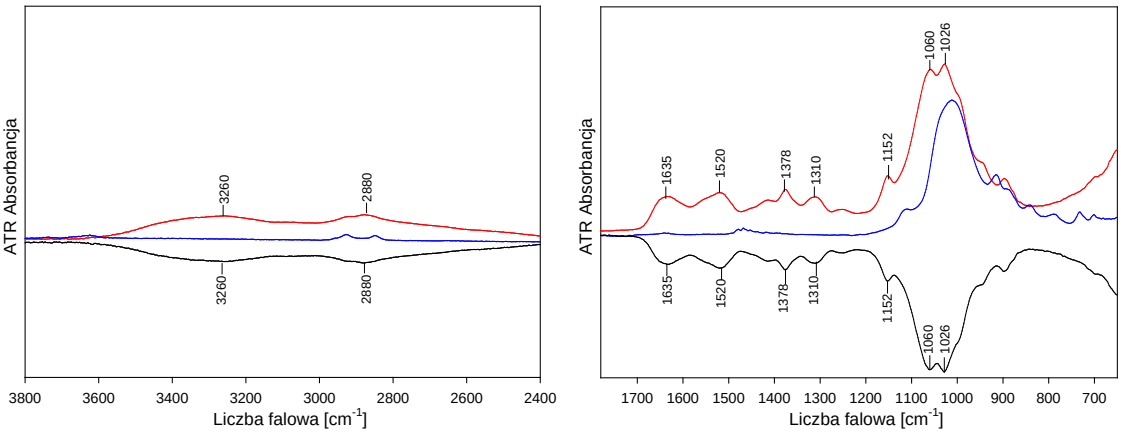
W widmach FT-IR nanokompozytowych folii na bazie chitozanu, podobnie jak w tych na bazie skrobi, nie widać pasma 1200-800 cm$^{-1}$, pochodzącego od drgań rozciągających w wiązaniu Si–O nanonapełniacza (Uchino i in., 1991), gdyż pokrywa się ono z pasmem sacharydowym chitozanu (Rysunek 41, Tabela 47). Nie widać go również w widmach różnicowych (Rysunek 42, 43). Dlatego trudno jest jednoznacznie stwierdzic czy wystapiły interakcje pomiędzy nanonapełniaczami a matrycą polimeru. Wszystkie pasma widoczne w widmach nanokompozytowych folii chitozanowych miały ponadto obniżoną intensywność w porównaniu do odpowiednich pasm widocznych w widmie folii chitozanowej, a pasmo amidowe II, odpowiedzialne za dragania rozciągające wiązania N–H, było przesunięte o 14 cm$^{-1}$ w kierunku wyższych liczb falowych (Tabela 47). Obserwowane zmiany mogą wskazywać ze zmiany w uwodnieniu łańcuchów polimeru wywołanej obecnością nanonapełniaczy.




Rysunek 41. Widma FT-IR folii chitozanowych modyfikowanych 5% dodatkiem nanonapełniacza (A) hydrofilowego Nanomer®PGV (—), (B) hydrofobowego NanoBent ZR-1. Dla porównania przedstawiono widma folii chitozanowej niemodyfikowanej (—) oraz nanonapełniacza (—).




Rysunek 42. Różnicowe widmo FT-IR (—) powstałe po odjęciu od widma folii chitozanowej modyfikowanej dodatkiem 5% Nanomer®PGV (—) widma folii chitozanowej (—).




Rysunek 43. Różnicowe widmo FT-IR (—) powstałe po odjęciu od widma folii chitozanowej modyfikowanej dodatkiem 5% NanoBent ZR-1 (—) widma folii chitozanowej (—).

Tabela 47. Wpływ rodzaju nanonapełniacza na charakterystykę pasm absorpcyjnych w widmach folii chitozanowych.

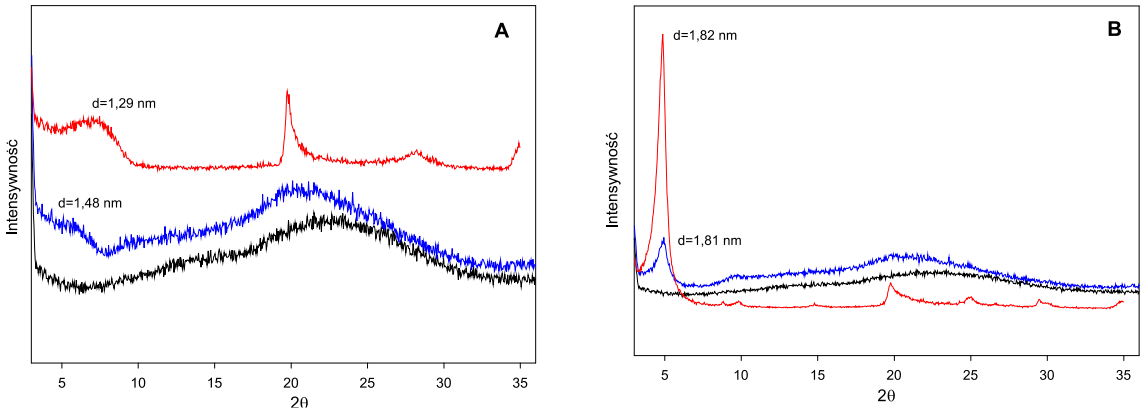
| Folia chitozanowa | Pasmo amidowe A | Pasmo grupy $CH_2$ | Pasmo amidowe I | Pasmo amidowe II | Pasmo amidowe III | Pasmo sacharydowe |
|---|---|---|---|---|---|---|
| niemodyfikowana | 3275 | 2926 | 1635 | 1522 | 1315 | 1063, 1030 |
| z 5% Nanomer®PGV | 3275 | 2926 | 1635 | 1536 | 1315 | 1063, 1030 |
| Nanomer®PGV | – | – | – | – | – | 991 |
| z 5% NanoBent ZR-1 | 3275 | 2926 | 1635 | 1536 | 1315 | 1063, 1030 |
| NanoBent ZR-1 | – | 2928, 2850 | – | – | – | 1011 |

### *7.4.3.4 Rentgenowska analiza dyfrakcyjna (X-ray)*

Dyfraktogram folii chitozanowej charakteryzował się jednym, szerokim pasmem, z maksimum przy ok. 22° 2$\theta$. Taki charakter krzywej wskazuje na duży udział części amorficznej polimeru. Qi i in. (2004) w dyfraktogramie chitozanu o SD 85%, obserwowali natomiast dwa ostre piki, jeden

przy kącie dyfrakcji 10,4°, a drugi przy 21,8°. Według autorów świadczyły one o dużym stopniu krystaliczności polimeru.

W dyfraktogramach badanych nanokompozytowych folii chitozanowych zmiana w położeniu piku pochodzącego od nanonapełniacza pojawiła się jedynie w przypadku Nanomer®PGV (Rysunek 44B). Przesunięcie piku w kierunku mniejszych kątów oznacza zwiększenie odległości międzypłaszczyznowej d z 1,29 nm w nanonapełniaczu do 1,48 nm w nanokompozycie. Xu i in. (2005) stwierdzili, że dodatek hydrofilowego nanonapełniacza MMT-$Na^+$ w stężeniu 1-3% (w/w) do matrycy chitozanowej powodował zanik piku od nanonapełniacza w otrzymanym materiale. Natomiast po dodaniu hydrofobowego Cloisite®30B do matrycy polimeru,podobnie jak w przypadku badanego NanoBent ZR-1, autorzy zaobserwowali pik pochodzący od nanonapełniacza, który nie uległ przesunięciu. Według autorów brak pasma pochodzącego od nanonapełniacza może wskazywać na otrzymanie struktury eksfoliowanej nanokompozytu. Natomiast otrzymanie nieprzesuniętego pasma - na brak interkalacji nanonapełniacza do matrycy polimeru i utworzenie mikrokompozytu.




Rysunek 44. Dyfraktogramy X-ray folii chitozanowych modyfikowanych 5% dodatkiem nanonapełniacza (A) hydrofilowego Nanomer®PGV, (B) hydrofobowego NanoBent ZR-1 (—). Dla porównania przedstawiono dyfraktogramy folii chitozanowej niemodyfikowanej (—) oraz nanonapełniacza (—).

### *7.4.3.5 Właściwości termiczne ( TGA i DSC)*

Termogramy TGA

Nanokompozytowe folie chitozanowe, podobnie jak folie żelatynowe i skrobiowe, utrzymywały wodę w nieco mniejszym stopniu niż folie bez nanonapełniaczy i wszystkie rozkładały się w wyższych temperaturach (Tabela 48). Według Cyrasa i in. (2008) włączenie nieorganicznych cząstek nanonapełniacza w struktury biopolimeru poprawia termostabilność otrzymanej folii.

Tabela 48. Właściwości termiczne folii chitozanowych modyfikowanych nanonapełniaczami.

| Folia | Zakres temperatur [°C] | Ubytek masy [%] | DTG [°C] |
|---|---|---|---|
| niemodyfikowana | 25 – 150 | 5 | 80 |
| | 200 – 400 | 50 | 232 |
| z Nanomer®PGV | 25 – 150 | 9 | 73 |
| | 200 – 400 | 44 | 239 |
| z NanoBent ZR-1 | 25 – 150 | 4 | 76 |
| | 200 – 400 | 48 | 241 |

Termogramy DSC

Obecność nanonapełniaczy w folii chitozanowej obniżyła $T_m$ folii, bardziej w przypadku hydrofilowego nanonapeniacza Nanomer®PGV niż hydrofobowego NanoBent ZR-1 (Tabela 49). Dodatek obu nanonapełniaczy do folii chitozanowej podwyższył istotnie $\Delta H_m$ folii. Dla hydrofilowego Nanomer®PGV i hydrofobowego NanoBent ZR-1 $\Delta H_m$ wzrosła odpowiednio o ok. 80 i 120 J/g (Tabela 49).

Tabela 49. Wpływ nanonapełniaczy na właściwości termiczne folii chitozanowych.

| Folia | Parametry topnienia[1] | | | |
|---|---|---|---|---|
| | $T_{m1}$ [°C] | $\Delta H_{m1}$ [J/g] | $T_{m2}$ [°C] | $\Delta H_{m2}$ [J/g] |
| niemodyfikowana | $170^{A}$ | $57^{A}$ | $216^{A}$ | $77^{A}$ |
| z Nanomer®PGV | $165^{B}$ | $79^{B}$ | $227^{B}$ | $36^{B}$ |
| z NanoBent ZR-1 | $169^{A}$ | $118^{C}$ | $229^{B}$ | $51^{C}$ |

[1]Wyniki są średnią z 3-6 powtórzeń. Różne indeksy w kolumnach oznaczają różnice istotne statystycznie $p<0,05$.

Podsumowanie

Modyfikacja chitozanu hydrofilowym Nanomer®PGV spowodowała utworzenie struktury interkalowanej, a modyfikacja hydrofobowym NanoBent ZR-1 – prawdopodobnie utworzenie mikrokompozytu. W obu przypadkach podwyższyło to temperatury rozkładu otrzymanych materiałów. Dodatek hydrofobowych nanonapełniaczy powodował obniżenie σ folii chitozanowych, natomiast w przypadku zastosowania nanonapełniaczy hydrofilowych nie uzyskano jednoznacznych wyników. Obecność Cloisite®$Na^+$ obniżała, a obecność Nanomer®PGV zwiększała σ folii. Plastyfikacja glicerolem użytym w stężeniu 20-30% umożliwiła otrzymanie nanokompozytowych folii o umiarkowanych właściwościach mechanicznych, nie lepszych jednak od właściwości niemodyfikowanych, plastyfikowanych folii chitozanowych. Obecność nanonapełniaczy w foliach chitozanowych nie wpłynęła znacząco na barierowośc wobec pary wodnej otrzymanych materiałów.

## 7.5 **Folie z ekstraktami roślinnymi**

### 7.5.1 **Właściwości mechaniczne**

Modyfikacja folii żelatynowych wodnymi ekstraktami z wytłoków jagody i aronii zwiększyła σ odpowiednio o ok. 20 i 40%. Nie stwierdzono natomiast wpływu ekstraktu z wytłoków z jarzębiny na tę własciwość folii (Tabela 50).

Nie uzyskano także zwiększenia wytrzymałości mechanicznej folii skrobiowych modyfikowanych ekstraktami z wytłoków. W obecności ekstraktu z jagody miało nawet miejsce znaczące jej pogorszenie (Tabela 50).

W foliach chitozanowych zwiększenie σ o 10 i 30% obserwowano tylko po zastosowaniu modyfikacji ekstraktami z wytłoków z aronii i jarzębiny (Tabela 50).

Obecność wszystkich ekstraktów z wytłoków owoców zmniejszyło ε folii skrobiowych i chitozanowych o około 50%, natomiast nie wpłynęła na rozciągliwość folii żelatynowych (Tabela 50).

Tabela 50. Wpływ wodnych ekstraktów z wytłoków owocowych na właściwości mechaniczne niepastyfikowanych folii.

| Folia | Rodzaj ekstraktu | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Bez ekstraktu | | Aronia | | Jagoda | | Jarzębina | |
| | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] |
| żelatynowa | 55,4$^{aA}$ | 2,1$^{aA}$ | 68,2$^{bA}$ | 2,5$^{aA}$ | 76,3$^{cA}$ | 2,6$^{aA}$ | 59,3$^{aA}$ | 2,3$^{aA}$ |
| skrobiowa | 30,2$^{aB}$ | 3,8$^{aB}$ | nk | nk | 17,9$^{bB}$ | 1,8$^{bB}$ | 30,8$^{aB}$ | 2,5$^{aA}$ |
| chitozanowa | 95,4$^{aC}$ | 7,4$^{aC}$ | 103,9$^{bB}$ | 4,3$^{bB}$ | 95,6$^{aC}$ | 3,7$^{bC}$ | 122,9$^{cC}$ | 3,0$^{bB}$ |

[1] Wartość średnia z 14 prób, różne indeksy w kolumnach (A-C) w zależności od rodzaju zastosowanego polimeru, natomiast w wierszach (a-c) w zależności od rodzaju zastosowanego ekstraktu oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$)
nk – nadmierna kruchość folii

Wszystkie zastosowane ekstrakty istotnie zwiększyły σ folii żelatynowych plastyfikowanych glicerolem w stężeniu 20%. Natomiast w obecności plastyfikatora w stężeniu 15% tylko ekstrakt z jagody spowodował polepszenie σ folii (Tabela 51a). Wzrost wytrzymałości obserwowali także Hong i in. (2009) po dodaniu bogatego w polifenole ekstraktu z wyciągu z zielonej herbaty, do plastyfikowanej folii żelatynowej. Autorzy nie podali jednak źródła pochodzenia żelatyny, z której otrzymali folie. Polepszenie wytrzymałości plastyfikowanych folii

żelatynowych ze skór ryb odnotowali również Hoque i in. (2011), po wprowadzeniu do matrycy polimeru ekstraktów z cynamonu, goździka i anyżu gwiaździstego.

Ekstrakty z wytłoków owocowych dodane do folii skrobiowej plastyfikowanej glicerolem w stężeniu 10 i 30% nie poprawiły wytrzymałości mechanicznej folii, ale w przypadku stężenia 30%, zwiększyły jej rozciągliwość (Tabela 51b). Z kolei dodatnie ekstraktów z wytłoków aronii i jarzębiny do platyfikowanych folii chitozanowych spowodowało pogorszenie właściwości mechanicznych folii, chociaż nadal mieściły się one w zakresie materiałów o umiarkowanych właściwościach użytkowych (Tabela 51c). Podsumowując, zastosowanie ekstraktów owocowych w przypadku plastyfikowanych folii skrobiowych i chitozanowych skutkowało zwykle otrzymaniem materiałów o gorszej wytrzymałości mechanicznej, niż tych nie modyfikowanych ekstraktami (Tabela 51).

Tabela 51. Wpływ wodnych ekstraktów z wytłoków owocowych na właściwości mechaniczne pastyfikowanych folii.

a) żelatynowa

| Folia | Zawartość glicerolu [%][1] | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | | 15 | | 20 | |
| | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ[MPa][1] | ε [%][1] |
| Niemodyfikowana | 55,4$^{aA}$ | 2,1$^{aA}$ | 35,6$^{bA}$ | 7,2$^{bA}$ | 7,1$^{aC}$ | 49,8$^{cA}$ |
| Z ekstraktem z wytłoków z aronii | 68,2$^{aB}$ | 2,5$^{aA}$ | 31,5$^{bA}$ | 33,5$^{bB}$ | 37,9$^{bB}$ | 13,9$^{cB}$ |
| Z ekstraktem z wytłoków z jagody | 76,3$^{aC}$ | 2,6$^{aA}$ | 42,2$^{bB}$ | 4,6$^{bA}$ | 50,3$^{cC}$ | 5,02$^{bC}$ |
| Z ekstraktem z wytłoków z jarzębiny | 59,3$^{aA}$ | 2,3$^{aA}$ | 30,4$^{bA}$ | 42,7$^{cC}$ | 44,6$^{cC}$ | 15,7$^{cB}$ |

b) skrobiowa

| Folia | Zawartość glicerolu [%][1] | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | | 10 | | 30 | |
| | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ[MPa][1] | ε [%][1] |
| Niemodyfikowana | 30,2$^{aB}$ | 3,8$^{aC}$ | 21,1$^{bB}$ | 2,8$^{aB}$ | 6,5$^{cC}$ | 12,6$^{bA}$ |
| Z ekstraktem z wytłoków z aronii | nk | nk | nk | nk | 4,0$^{aA}$ | 21,4$^{bB}$ |
| Z ekstraktem z wytłoków z jagody | 17,9$^{aA}$ | 1,8$^{aA}$ | 16,5$^{aA}$ | 2,1$^{aA}$ | 7,6$^{bC}$ | 12,6$^{bA}$ |
| Z ekstraktem z wytłoków z jarzębiny | 30,8$^{aB}$ | 2,5$^{aB}$ | 12,2$^{bA}$ | 1,9$^{aA}$ | 5,3$^{cB}$ | 25,9$^{bC}$ |

c) chitozanowa

| Folia | Zawartość glicerolu [%][1] | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | | 20 | | 30 | |
| | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ [MPa][1] | ε [%][1] | σ[MPa][1] | ε [%][1] |
| Niemodyfikowana | 95,4$^{aA}$ | 7,4$^{aB}$ | 36,8$^{bB}$ | 26,1$^{bB}$ | 33,7$^{bA}$ | 28,4$^{bC}$ |
| Z ekstraktem z wytłoków z aronii | 104,0$^{aB}$ | 4,3$^{aA}$ | 29,1$^{bA}$ | 18,4$^{bAB}$ | 21,3$^{bB}$ | 26,5$^{cC}$ |
| Z ekstraktem z wytłoków z jagody | 95,6$^{aA}$ | 3,7$^{aA}$ | 29,7$^{bA}$ | 7,9$^{bA}$ | 32,6$^{bA}$ | 5,0$^{bA}$ |
| Z ekstraktem z wytłoków z jarzębiny | 123,0$^{aC}$ | 3,0$^{aA}$ | 32,1$^{bB}$ | 9,0$^{bA}$ | 23,8$^{cB}$ | 16,4$^{cB}$ |

[1] Wartość średnia z 14 prób, rożne indeksy oznaczają różnice istotne statystycznie (p<0,05): w kolumnach (A-C) w zależności od rodzaju ekstraktu, w wierszach (a-d) w zależności od zastosowanego stężenia plastyfikatora

### 7.5.2 **Właściwoś**ci barierowe

Żaden z ekstraktów z wytłoków owoców nie wpłynął na obniżenie WVP folii żelatynowych. Modyfikacja folii ekstraktami owocowymi nie spowodowała również spodziewanej poprawy barierowości folii skrobiowych wobec pary wodnej. WVP folii z ekstraktem z jarzębiny wzrosło o 55%, a z ekstraktem z jagody o 88%, w porównaniu z folią niemodyfikowaną. Ze względu na nadmierną kruchość, nie określono WVP folii modyfikowanej ekstraktem z wytłoków aronii.

Podobnie, dodatek ekstraktów z wytłoków owoców do folii chitozanowych powodował pogorszenie właściwości barierowych wytworzonych materiałów (Tabela 52).

Tabela 52. Barierowość wobec pary wodnej folii modyfikowanych ekstraktami z wytłoków owocowych.

| Folia | WVP [g·mm (kPa·h·m$^2$)$^{-1}$][1] | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Ekstrakty z wytłoków z: | | | |
| | Bez ekstraktu | Aronii | Jagody | Jarzębiny |
| żelatynowa | 1,08$^{ab}$ | 0,96$^{a}$ | 1,23$^{b}$ | 0,99$^{a}$ |
| skrobiowa | 0,43$^{a}$ | nk | 0,81$^{b}$ | 0,67$^{c}$ |
| chitozanowa | 0,59$^{a}$ | 0,66$^{b}$ | 0,60$^{b}$ | 0,60$^{b}$ |

[1] Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy w wierszach (a-c) oznaczają różnice istotne statystycznie (p<0,05)
nk – nadmierna kruchość

WVP folii żelatynowej plastyfikowanej glicerolem użytym w stężeniu 15–20% nie zmniejszyła się po wprowadzeniu do niej ekstraktów owocowych (Tabela 53a). Inną zależność obserwowali Hoque i in. (2011), którzy wykazali, że dodatek bogatych w polifenole ekstraktów etanolowych z ziół: cynamonu, goździka i anyżu gwiaździstego zmniejsza WVP folii na bazie żelatyny ze skór mątwy plastyfikowanej glicerolem w stężeniu 20%. Najlepszy efekt, obniżenie WVP o 20%, autorzy obserwowali w przypadku modyfikacji folii ekstraktem z goździka.

Dodatek wszystkich ekstraktów z wytłoków owocowych do plastyfikowanych folii skrobiowych nie poprawił lub nawet zmniejszył ich barierowości w stosunku do wody (Tabela 53b).

Obecność ekstraktów z wytłoków jarzębiny i aronii w plastyfikowanych 20% glicerolem foliach chitozanowych powodowała polepszenie barierowości otrzymanego materiału o 25% (Tabela 53c). Natomiast w przypadku folii chitozanowej plastyfikowanej 30% glicerolem dodatek ekstraktu z wytłoków aronii obniżył jej barierowość o około 20%. Podobne wyniki (zmniejszenie barierowości o 20%) wykazali Siripatrawan i Harte (2010) dla plastyfikowanej 30% glicerolem folii chitozanowej z ekstraktem z zielonej herbaty.

Tabela 53. Barierowość wobec pary wodnej plastyfikowanych folii z polimerów naturalnych modyfikowanych ekstraktami z wytłoków owocowych.

a) żelatynowa

| Folia | WVP [g·mm (kPa·h·m$^2$)$^{-1}$]$^1$ | | |
|---|---|---|---|
| | Zawartość glicerolu [%]$^2$ | | |
| | 0 | 15 | 20 |
| Niemodyfikowana | 1,08$^{aAB}$ | 1,10$^{aA}$ | 1,26$^{bAB}$ |
| Z ekstraktem z wytłoków z aronii | 0,96$^{aA}$ | 1,02$^{bA}$ | 1,12$^{cB}$ |
| Z ekstraktem z wytłoków z jagody | 1,23$^{aB}$ | 1,14$^{bA}$ | 1,23$^{aAB}$ |
| Z ekstraktem z wytłoków z jarzębiny | 0,99$^{aA}$ | 1,11$^{bA}$ | 1,30$^{cB}$ |

b) skrobiowa

| Folia | WVP [g·mm (kPa·h·m$^2$)$^{-1}$]$^1$ | | |
|---|---|---|---|
| | Zawartość glicerolu [%]$^2$ | | |
| | 0 | 10 | 30 |
| Niemodyfikowana | 0,43$^{aA}$ | 0,64$^{bA}$ | 0,81$^{cA}$ |
| z ekstraktem z wytłoków z aronii | nk | nk | 0,95$^{aAB}$ |
| z ekstraktem z wytłoków z jagody | 0,81$^{aC}$ | 0,76$^{aA}$ | 1,03$^{bB}$ |
| z ekstraktem z wytłoków z jarzębiny | 0,67$^{aB}$ | 1,02$^{bB}$ | 1,03$^{bB}$ |

c) chitozanowa

| Folia | WVP [g·mm (kPa·h·m$^2$)$^{-1}$]$^1$ | | |
|---|---|---|---|
| | Zawartość glicerolu [%]$^2$ | | |
| | 0 | 20 | 30 |
| Niemodyfikowana | 0,59$^{aA}$ | 0,83$^{bB}$ | 0,88$^{bB}$ |
| z ekstraktem z wytłoków z aronii | 0,66$^{aA}$ | 0,69$^{aA}$ | 1,04$^{bC}$ |
| z ekstraktem z wytłoków z jagody | 0,60$^{aA}$ | 0,82$^{bB}$ | 0,99$^{cBC}$ |
| z ekstraktem z wytłoków z jarzębiny | 0,61$^{bA}$ | 0,62$^{bA}$ | 0,69$^{bA}$ |

[1] Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$): w kolumnach (A-C) w zależności od zastosowanego ekstraktu, w wierszach (a-c) w zależności od stężenia plastyfikatora

[2] Stężenie w stosunku do masy polimeru (w/w)

nk – nadmierna kruchość

### 7.5.3 **Rozpuszczalność**

Dodatek ekstraktów z wytłoków aronii, jagody i jarzębiny nie spowodował znaczącego ograniczenia rozpuszczalności folii na bazie żelatyny rybnej. Natomiast dodatek ekstraktu z aronii i jarzębiny do folii skrobiowych w obu przypadkach zredukował ich rozpuszczalność do ok. 19%. Zmniejszenie rozpuszczalności z 94 do 78 i 75% zaobserwowano również w przypadku obecności w foliach chitozanowych ekstraktu z wytłoków jagody i jarzębiny (Tabela 54). Według Hoque i in. (2011) związki polifenolowe zawarte w ekstraktach roślinnych mogą prowadzić do sieciowania folii na bazie polimerów naturalnych.

Tabela 54. Rozpuszczalność folii polimerowych modyfikowanych ekstraktami z wytłoków owocowych.

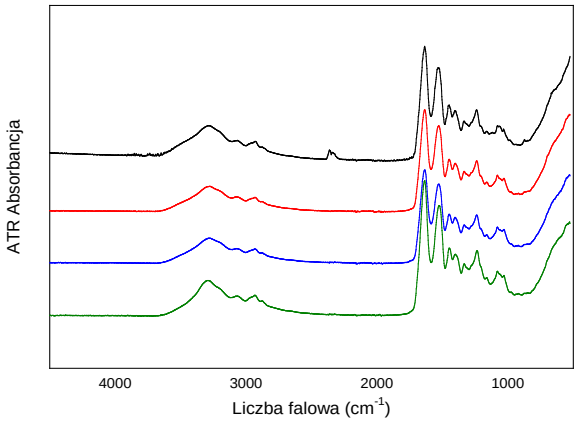
| Folia | R [%][1] | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Ekstrakty z wytłoków z: | | | |
| | Bez ekstraktu | Aronii | Jagody | Jarzębiny |
| żelatynowa | 87,9[a] | 89,3[a] | 87,8[a] | 81,5[a] |
| skrobiowa | 40,1[b] | 19,0[c] | 66,5[a] | 18,4[c] |
| chitozanowa | 94,4[a] | 92,0[a] | 77,7[b] | 75,1[b] |

[1]Wartość średnia z 3 prób, różne indeksy w wierszach (a-d) oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$)

### 7.5.4 Analizy widm FT-IR

**Analiza widm folii na bazie żelatyny**

W widmach folii żelatynowych modyfikowanych ekstraktami obserwowano wszystkie pasma charakterystyczne dla folii żelatynowej niemodyfikowanej. Ponadto, modyfikacja ekstraktami z wytłoków z aronii i jarzębiny (Rysunek 45) spowodowała przesunięcie pasma amidowego A w kierunku niższych liczb falowych, odpowiednio o 13 i 4 $cm^{-1}$, a modyfikacja ekstraktem z owoców jagody nieznaczne przesunięcie o 2 $cm^{-1}$ pasma amidowego I w kierunku wyższych licz falowych (Tabela 55). Według Silva i in. (2008) oraz Yakimets i in. (2007) przesunięcie pasma występującego w zakresie 3700-3000 $cm^{-1}$ w kierunku niższych liczb falowych wskazuje zazwyczaj na powstanie wiązań wodorowych, w tworzeniu których pośredniczą cząsteczki wody.




Rysunek 45. Widmo FT-IR foli żelatynowej modyfikowanej wodnymi ekstraktami z wytłoków: aronii (—), jarzębiny (—) i jagody (—). Dla porównania przedstawiono widomo folii żelatynowej niemodyfikowanej (—).

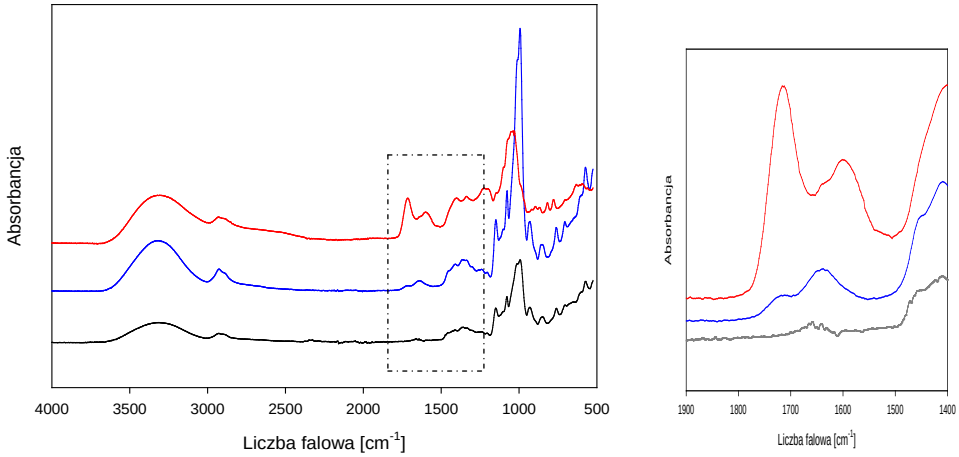
Tabela 58. Wpływ ekstraktów z wytłoków na charakterystykę pasm absorpcyjnych w widmach folii żelatynowych.

| Folia żelatynowa | Pozycja pasma [$cm^{-1}$] | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Pasmo amidowe A | Pasmo amidowe I | Pasmo amidowe II | Pasmo amidowe III |
| bez ekstraktu | 3286 | 1634 | 1528 | 1238 |
| z ekstraktem z wytłoków aroni | 3273 | 1634 | 1528 | 1238 |
| z ekstraktem z wytłoków jagody | 3286 | 1636 | 1532 | 1235 |
| z ekstraktem z wytłoków jarzębiny | 3282 | 1634 | 1528 | 1238 |

### Analiza widm folii na bazie skrobi

W widmach FT-IR folii skrobiowych modyfikowanych ekstraktami z wytłoków owocowych można zaobserwować wszystkie pasma charakterystyczne dla folii skrobiowej (Rysunek 46). Modyfikacja ekstraktami nie wywołała żadnych przesunięć w położeniu tych pasm (Tabela 56). Pojawił się natomiast nowy, dodatkowy pik przy 1714 $cm^{-1}$, który w widmie folii niemodyfikowanej nie występował. Ponadto, intensywność pasma odpowiadającego drganiom rozciągającym wiązania O–H w grupach hydroksylowych, występującego w zakresie 3600-3100 $cm^{-1}$, oraz pasma sacharydowego, występującego w zakresie 1200-800 $cm^{-1}$, wyraźnie się zwiększyła. Na podstawie analizy widm poszczególnych ekstraktów, można sądzić, że nowe pasmo przy liczbie falowej 1714 $cm^{-1}$ pochodziło od związków obecnych w tych ekstraktach. Siripatrawan i Harte (2010) badając wpływ ekstraktu z zielonej herbaty na folię chitozanową także zaobserwowali w

widmie folii modyfikowanej nowy pik przy 1700 $cm^{-1}$. Według autorów pochodził on od drgań rozciągających w grupach karbonylowych, występujących w związkach polifenolowych zawartych w ekstrakcie. Dla pasm 3600-3100 $cm^{-1}$ autorzy Ci obserwowali jednak odmienny efekt, niż ten widoczny na Rysunku 46. Intensywność tego pasma ulegała znacznemu osłabieniu, co autorzy tłumaczyli zaangażowaniem wolnych grup hydroksylowych polimeru w wiązania z polifenolami zawartymi w ekstrakcie z zielonej herbaty. Brak podobnych obserwacji sugeruje, że nie doszło do interakcji między związkami z ekstraktów z wytłoków owocowych, a skrobią.



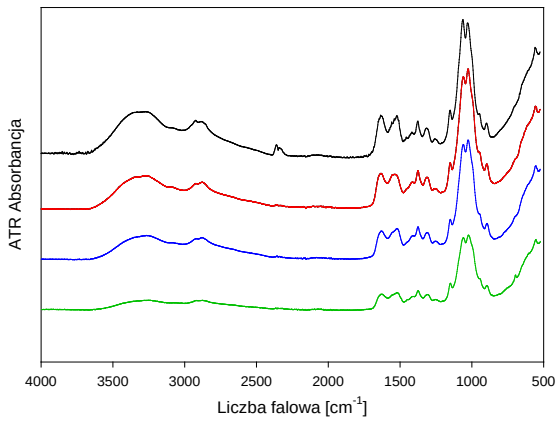

Rysunek 46. Widmo FTIR folii skrobiowej (—), folii skrobiowej modyfikowanej ekstraktem z wytłoków jagody (—) oraz ekstraktu z wytłoków jagody (—).

Tabela 56. Wpływ ekstraktów z wytłoków owocowych na charakterystykę pasm absorpcyjnych w widmach folii skrobiowych.

| Folia skrobiowa | Pozycja pasm [$cm^{-1}$] | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| bez ekstraktu | 3325 | 2926 | – | 1641 | 1077 | 993 |
| z ekstraktem z wytłoków jagody | 3325 | 2926 | 1714 | 1641 | 1077 | 993 |
| z ekstraktem z wytłoków jarzębiny | 3325 | 2926 | 1714 | 1641 | 1077 | 993 |

### Analiza widm folii na bazie chitozanu

Obniżenie intensywności pasm w widmie FT-IR folii chitozanowej wywołane modyfikacją badanymi ekstraktami, widoczne były w zakresie liczb falowych 3600-3100 $cm^{-1}$ oraz 1200-800 $cm^{-1}$ (Rysunek 47). Zmiany w pierwszym zakresie, odpowiadającym drganiom rozciągającym wiązań N–H i O–H, wskazują na zmniejszenie liczby wolnych grup aminowych i hydroksylowych w chitozanie po modyfikacji, najprawdopodobniej wskutek łączenia się ich z wolnymi grupami hydroksylowymi zawartymi w polifenolach obecnych w ekstraktach, natomiast te obserwowane w drugim zakresie, odpowiadające pasmu sacharydowemu, na zmianę struktury krystalicznej polimeru (Siripatrawan i Harte, 2010).



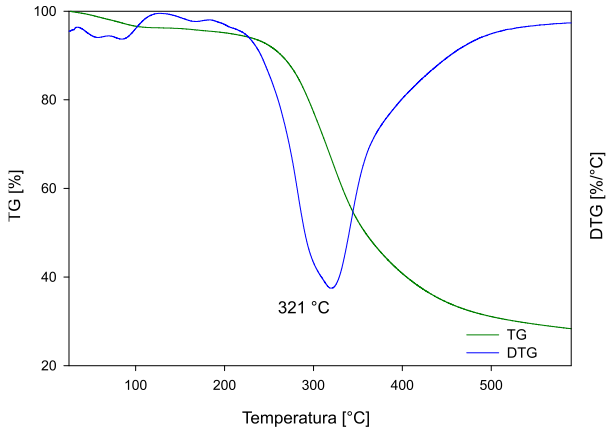

Rysunek 47. Widmo FT-IR foli chitozanowej modyfikowanej wodnymi ekstraktami z wytłoków aronii (—), jarzębiny (—) i jagody (—). Dla porównania przedstawiono widomo folii żelatynowej niemodyfikowanej (—).

### 7.5.5 **Właściwości** termiczne folii (TGA)

#### Termogramy TGA folii na bazie żelatyny

Folie na bazie żelatyny modyfikowane ekstraktami z owoców utrzymywały wodę w podobnym stopniu jak folie bez modyfikacji, jednak wszystkie rozkładały się w wyższych temperaturach (Rysunek 48, Tabela 57). Wzrost temperatury rozkładu o 13, 11 i 8C, w wyniku modyfikacji folii ekstraktami, odpowiednio, z aronii, jarzębiny i jagody (Tabela 57) świadczy o wzroście stabilności termicznej folii, największej w przypadku obecności w niej ekstraktu z aronii, następnie jarzębiny i na końcu z jagody. Ponieważ podobną kolejność zaobserwowano w wielkości przesunięcia pasma amidowego A w widmach FT-IR tych folii, swoją największą stabilność termiczną folia modyfikowana ekstraktami z aronii zawdzięcza prawdopodobnie najsilniejszym oddziaływaniom występującym pomiędzy łańcuchami białka i polifenolami zawartymi w ekstrakcie.

Peña i in. (2010), badając folię z żelatyny świńskiej po jej modyfikacji taninami, a także Hoque i inni (2011), analizując plastyfikowaną glicerolem folię z żelatyny ze skór mątwy z dodatkiem ekstraktu z anyżu gwiaździstego, również obserwowali stopniowy ubytek masy tych folii podczas ogrzewania. Hoque i in. (2011) wykazali ponadto wyższą stabilność termiczną folii modyfikowanej ekstraktem ziołowym od folii niemodyfikowanej, co tłumaczą utworzeniem wiązań wodorowych między grupami hydroksylowymi, obecnymi w ekstrakcie, a łańcuchami polipeptydowymi żelatyny. Według autorów podwyższyły one stopień usieciowania folii, a to z kolei zwiększyło jej odporność termiczną.



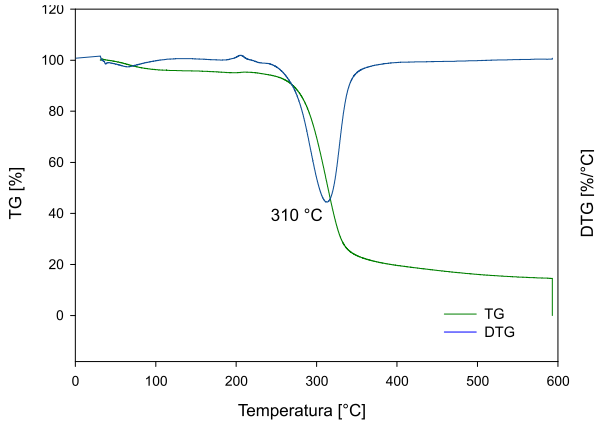

Rysunek 48. Termogram TGA folii żelatynowej modyfikowanej ekstraktem z wytłoków aronii.

Tabela 57. Właściwości termiczne folii żelatynowych modyfikowanych ekstraktami z wytłoków owocowych.

| Folia | Zakres temperatur [°C] | Ubytek masy [%] | DTG [°C] |
|---|---|---|---|
| bez ekstraktu | 25 – 150 | 6 | 123 |
| | 200 – 500 | 60 | 308 |
| z ekstraktem z wytłoków aronii | 25 – 150 | 6 | 88 |
| | 200 – 500 | 60 | 321 |
| z ekstraktem z wytłoków jagody | 25 – 150 | 4 | 85 |
| | 200 – 500 | 60 | 316 |
| z ekstraktem z wytłoków jarzębiny | 25 – 150 | 5 | 90 |
| | 200 – 500 | 60 | 319 |

## Termogramy TGA folii na bazie skrobi

Folie skrobiowe modyfikowane ekstraktami z wytłoków owocowych, podobnie jak folie żelatynowe, utrzymywały wodę w podobnym stopniu jak folie bez modyfikacji i podobnie jak one rozkładały się w wyższych temperaturach (Rysunek 49, Tabela 58). Jednak pomimo wzrostu temperatur rozkładu o 9 i 19°C, w wyniku modyfikacji folii ekstraktami, odpowiednio, z jagody i jarzębiny, analiza widm FT-IR tych folii, w przeciwieństwie do folii żelatynowych, nie wykazała wzajemnych oddziaływań pomiędzy jej składnikami, które tłumaczyłyby zwiększoną stabilność termiczną.



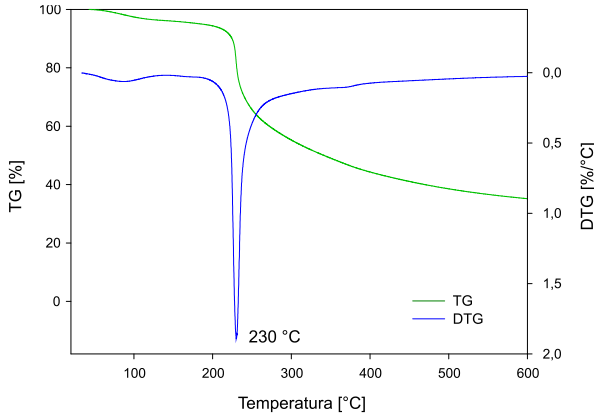

Rysunek 49. Termogram TGA folii skrobiowej modyfikowanej ekstraktem z wytłoków jagody.

Tabela 58. Właściwości termiczne folii skrobiowych modyfikowanych ekstraktami z wytłoków owocowych.

| Folia | Zakres temperatur [°C] | Ubytek masy [%] | DTG [°C] |
|---|---|---|---|
| bez ekstraktu | 20 – 150 | 5 | 96 |
| | 200 – 400 | 66 | 301 |
| z ekstraktem z wytłoków jagody | 20 – 150 | 5 | 65 |
| | 200 – 400 | 74 | 310 |
| z ekstraktem z wytłoków jarzębiny | 20 – 150 | 5 | 69 |
| | 200 – 400 | 73 | 314 |

## Termogramy TGA folii na bazie chitozanu

Podobnie do folii żelatynowych i skrobiowych, folie chitozanowe modyfikowane ekstraktami z wytłoków owocowych utrzymywały wodę na zbliżonym poziomie co folie bez modyfikacji (Rysunek 50, Tabela 59). Jednak w przeciwieństwie do nich, modyfikacja ta nie spowodowała podwyższenia temperatury rozkładu wytworzonych folii (Tabela 59), mimo, że analiza FT-IR wskazywała na tworzenie się nowych wiązań pomiędzy składnikami folii, które zwiększałyby stopień usieciowania folii. Podobnie Martins i in. (2012), badając folie chitozanowe, nie wykazali wzrostu temperatury rozkładu folii po dodaniu do nich α -tokoferolu. Autorzy obserwowali jednak dodatkowy pik na krzywej DTG, leżący ok. 380°C, który według nich wskazywał na degradację pierścienia aromatycznego α-tokoferolu.




Rysunek 50. Termogram TGA folii chitozanowej modyfikowanej ekstraktem z wytłoków jarzębiny.

Tabela 59. Właściwości termiczne folii chitozanowych modyfikowanych ekstraktami z wytłoków owocowych.

| Folia | Zakres temperatur [°C] | Ubytek masy [%] | DTG [°C] |
|---|---|---|---|
| bez ekstraktu | 25 – 150 | 5 | 80 |
| | 200 – 400 | 50 | 232 |
| z ekstraktem z wytłoków aronii | 25 – 150 | 8 | 79 |
| | 200 – 400 | 47 | 232 |
| z ekstraktem z wytłoków jagody | 25 – 150 | 4 | 81 |
| | 200 – 400 | 48 | 228 |
| z ekstraktem z wytłoków jarzębiny | 25 – 150 | 4 | 87 |
| | 200 – 400 | 50 | 230 |

### 7.5.6 **Właściwości termiczne** (DSC)

**Termogramy DSC folii na bazie żelatyny**

Modyfikacja wodnymi ekstraktami z wytłoków owocowych nie wpłynęła na zmianę $T_g$ folii żelatynowej, natomiast obniżyła jej $T_m$ (Tabela 60). Po modyfikacji ekstraktem z wytłoków aronii i jagody $T_m$ obniżyła się o 23°C, a po modyfikacji ekstraktem z owoców jarzębiny o 12°C. Modyfikacjom ekstraktami z wytłoków aronii i jagody towarzyszyło zwiększenie ciepła przemiany, odpowiednio o 33 i 19 J/g, natomiast po zastosowaniu ekstraktu z wytłoków jarzębiny $\Delta H_m$ nie uległo zmianie. Przeciwny efekt, zwiększenie $T_m$ i obniżenie $\Delta H_m$ obserwowali Bigi i in. (2001; 2004) po usieciowaniu za pomocą EDC żelatyny wieprzowej oraz Carvalho i Grosso (2004) po usieciowaniu tym związkiem żelatyny bydlęcej. Według autorów $T_m$ zwiększa się wskutek

usieciowania białka, a $\Delta H_m$ obniża wskutek utworzenia większej liczby wiązań kowalencyjnych, których rozpad jest procesem egzotermicznym.

Tabela 60. Właściwości termiczne folii żelatynowych modyfikowanych ekstraktami z wytłoków owocowych[1].

| Folia żelatynowa | $T_g$ [°C] | Parametry topnienia | |
|---|---|---|---|
| | | $T_m$ [°C] | $\Delta H_m$ [J/g] |
| bez ekstraktu | $116 \pm 1,7^{AB}$ | $198 \pm 2,6^{D}$ | $59 \pm 2,8^{A}$ |
| z ekstraktem z wytłoków aronii | $102 \pm 3,2^{A}$ | $175 \pm 2,6^{A}$ | $92 \pm 2,7^{C}$ |
| z ekstraktem z wytłoków jagody | $120 \pm 6,2^{AB}$ | $175 \pm 5,7^{A}$ | $78 \pm 3,0^{B}$ |
| z ekstraktem z wytłoków jarzębiny | $125 \pm 6,2^{AB}$ | $186 \pm 0,7^{AB}$ | $59 \pm 2,1^{A}$ |

[1]Wyniki są wartościami średnimi z 3 powtórzeń, różne indeksy w kolumnach oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$)

Peña i in. (2010) wykazali natomiast, że wraz ze wzrostem stężenia tanin w roztworze foliotwórczym następuje wzrost zarówno $T_g$, jaki i $T_m$ oraz obniżenie$\Delta H_m$ folii z żelatyny wieprzowej. Przy 30% stężeniu tanin $T_g$ i $T_m$ wzrasta odpowiednio o 16 i 15°C, a $\Delta H_m$ maleje o 12 J/g. Według autorów jest to związane z zastąpieniem wiązań wodorowych występujących pomiędzy łańcuchami żelatyny, wiązaniami wodorowymi tworzącymi się między grupami hydroksylowymi tanin, a grupami amidowymi białka. Jednak obniżenie$\Delta H_m$ folii żelatynowej wskutek chemicznego sieciowania zwykle tłumaczy się utworzeniem nowych wiązań kowalencyjnych, których rozpad jest procesem egzotermicznym, w przeciwieństwie do rozpadu wiązań wodorowych, których jest endotermiczny (Bigi i in., 2001; Bigi i in., 2004; Carvalho i Grosso, 2004). Obniżenie $T_m$ i wzrost$\Delta H_m$ folii żelatynowych po modyfikacji badanymi ekstraktami z wytłoków owocowych sugeruje brak wytworzenia nowych wiązań kowalencyjnych.

### Termogramy DSC folii na bazie skrobi

W wyniku modyfikacji ekstraktami z wytłoków owocowych $T_g$ folii skrobiowej obniżyła się, a $T_m$ w większości przypadków wzrosła (Tabela 61). Obserwowane różnice nie są jednak istotne statystycznie. Folie z dodatkiem ekstraktów miały natomiast obniżone wartości$\Delta H_m$, które mogą świadczyć o wytworzeniu nowych wiązań kowalencyjnych między skrobią a polifenolami. Analiza FT-IR nie potwierdziła jednak utworzenia takich wiązań.

Tabela 61. Właściwości termiczne folii skrobiowych modyfikowanych ekstraktami z wytłoków owocowych[1].

| Folia skrobiowa | $T_g$ [°C] | Parametry topnienia | |
|---|---|---|---|
| | | $T_m$ [°C] | $\Delta H_m$ [J/g] |
| bez ekstraktu | 155 ± 9,2$^A$ | 176 ± 9,0$^A$ | 73 ± 7,7$^B$ |
| z ekstraktem z wytłoków jagody | 139 ± 4,7$^A$ | 176 ± 8,9$^A$ | 39 ± 5,0$^A$ |
| z ekstraktem z wytłoków jarzębiny | 143 ± 2,2$^A$ | 182 ± 3,7$^A$ | 50 ± 6,2$^A$ |

[1]Wyniki są wartościami średnimi z 3 powtórzeń, różne indeksy w kolumnach oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$)

## Termogramy DSC folii na bazie chitozanu

Podobnie, jak w przypadku folii żelatynowej, dodatek ekstraktów z wytłoków aronii jagody i jarzębiny obniżył $T_m$ folii chitozanowej oraz w każdym przypadku podwyższył jej $\Delta H_m$, co sugeruje brak wytworzenia wiązań kowalencyjnych między polimerami a polifenolami zawartymi w ekstraktach owocowych. Przeciwne wyniki uzyskali Martins i in. (2012), włączając w strukturę chitozanu α-tokoferol. Autorzy zjawisko to tłumaczą zmniejszeniem krystaliczności i zwiększeniem amorficzności folii po włączeniu polifenoli w strukturę chitozanu. Natomiast Bigi i in. (2001, 2004) oraz Carvalho i Grosso (2004) podwyższenie $T_m$ oraz obniżenie $\Delta H_m$ tłumaczą wytworzeniem nowych wiązań kowalencyjnych wskutek sieciowania polimeru.

Tabela 62. Właściwości termiczne folii chitozanowych modyfikowanych ekstraktami z wytłoków owocowych[1].

| Folia chitozanowa | Parametry topnienia[1] | | | |
|---|---|---|---|---|
| | $T_{m1}$ [°C] | $\Delta H_{m1}$ [J/g] | $T_{m2}$ [°C] | $\Delta H_{m2}$ [J/g] |
| bez ekstraktu | 170$^A$ | 57$^A$ | 216$^A$ | 77$^A$ |
| z ekstraktem z wytłoków aronii | 168$^A$ | 78$^B$ | 218$^{AB}$ | 69$^B$ |
| z ekstraktem z wytłoków jagody | 178$^B$ | 64$^C$ | 220$^B$ | 58$^C$ |
| z ekstraktem z wytłoków jarzębiny | 178$^B$ | 65$^C$ | 223$^C$ | 52$^C$ |

[1]Wyniki są wartościami średnimi z 3 powtórzeń, różne indeksy w kolumnach oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$).

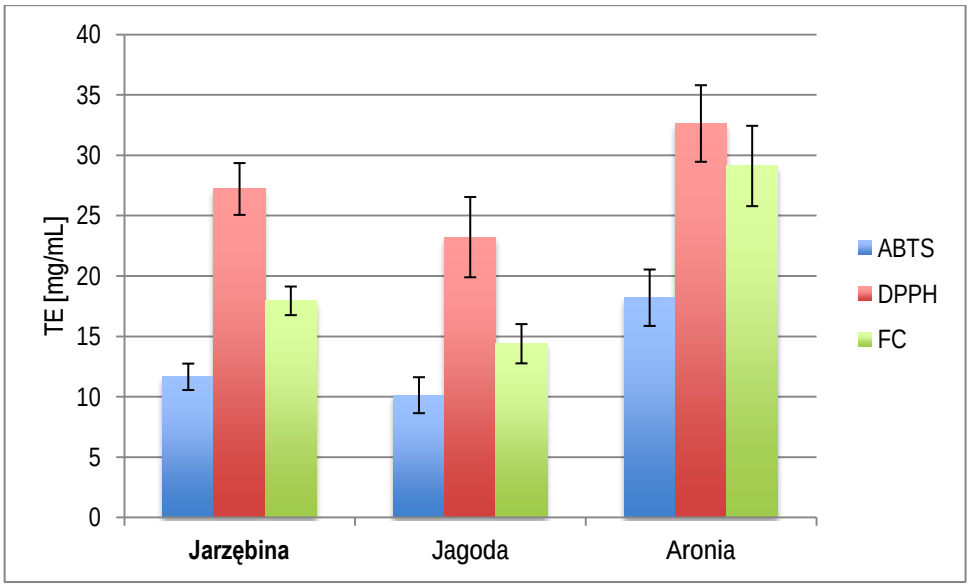
### 7.5.7 Podsumowanie

Modyfikacja ekstraktami z wytłoków owocowych z reguły polepszyła właściwości mechaniczne folii żelatynowej i chitozanowej, natomiast nie wpłynęła na właściwości folii skrobiowej. Wzrost stabilności cieplnej folii żelatynowej, w przeciwieństwie do niezmienionej termostabilności folii chitozanowej, wskazywał na tworzenie się wiązań sieciujących pomiędzy polifenolami zawartymi w ekstraktach i żelatyną, jednak obecność takich wiązań, przypuszczanie wodorowych, wykryto nie tylko w przypadku folii żelatynowej, ale i chitozanowej. Podobnych oddziaływań między składnikami folii nie wykryto w przypadku folii na bazie skrobi, chociaż modyfikacja ekstraktami zwiększyła jej stabilność cieplną. Obecność polifenoli zawartych w badanych ekstraktach nie zmieniła rozpuszczalności folii żelatynowej, natomiast ograniczyła rozpuszczalność folii chitozanowej (ekstrakt z wytłoków jagody) i skrobiowej (ekstrakt z wytłoków aronii) oraz rozpuszczalność obu tych folii w przypadku użycia ekstraktów z wytłoków jarzębiny. Żaden z ekstraktów z wytłoków owocowych nie wpłynął na obniżenie WVP folii żelatynowych, a w przypadku folii skrobiowych i chitozanowych nawet ją pogorszył.

## 7.6 **Właściwości przeciwutleniające** folii

**Oznaczenie aktywności przeciwutleniającej ekstraktów związków fenolowych z wytłoków** owocowych

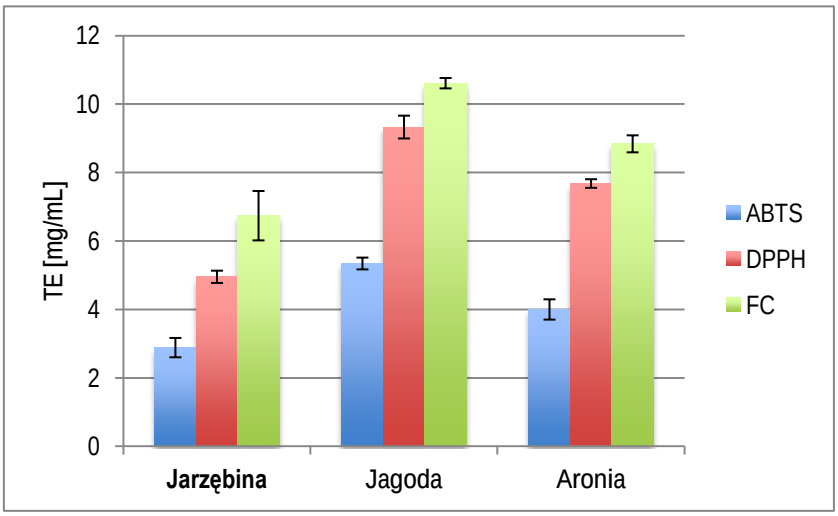
Dodatek ekstraktów z wytłoków owoców do folii, poza polepszeniem właściwości użytkowych, miał między innymi na celu nadania im właściwości przeciwutleniających. Aktywność przeciwutleniającą próbek soków oraz ekstraktów wodnych z wytłoków jarzębiny, jagody kamczackiej oraz aronii wyznaczono za pomocą trzech standardowych testów spektrofotometrycznych.




Rysunek 51. Aktywność przeciwutleniająca próbek soków z jarzębiny, jagody kamczackiej i aronii wyznaczona za pomocą testów spektrofotometrycznych ABTS, DPPH i F-C i wyrażona jako ilość równoważników Troloxu [TE, mg/mL].

Aktywność przeciwutleniająca badanych soków była zbliżona i mieściła się w granicach od 10-20, 22-32 i 15-30 równoważników Troloxu [mg/mL] odpowiednio dla testu ABTS, DPPH i FC, chociaż w przypadku soku z aronii można zaobserwować nieco wyższy niż dla jarzębiny i jagody potencjał przeciwutleniający (Rysunek 51). Podobne poziomy aktywności przeciwutleniającej dla jagody kamczackiej i aronii można znaleźć w dostępnym piśmiennictwie (Piasek i in., 2011, Kusznierewicz i in., 2012, Denev i in., 2012). Wyniki trzech testów wykazują wobec siebie wysoką korelację ze współczynnikiem Pearsona równym 0,97; 0,99 i 0,98 odpowiednio dla testów ABTS/DPPH, ABTS/F-C i DPPH/F-C.

Na Rysunku 52 zestawiono w analogiczny sposób wyniki aktywności przeciwutleniającej próbek ekstraktów wodnych z wytłoków pozostałych po wyciśnięciu soków. Aktywności próbek ekstraktów są około 2-krotnie niższe niż te wyznaczone dla soków, przypuszczalnie z powodu niższego stężenia substancji przeciwutleniających. Na efektywność ekstrakcji przeciwutleniaczy z wytłoków mógł wpływać również rodzaj użytego ekstrahenta oraz czas ekstrakcji. Według danych literaturowych skórki owoców są bogatym źródłem substancji polifenolowych, jednak zbyt polarny ekstrahent jakim była woda mógł niedostatecznie wyizolować mniej polarne przeciwutleniacze. Dlatego też często do ekstrakcji zaleca się dodatek rozpuszczalników organicznych tj. metanolu czy etanolu (Moulehi i in. 2012).




Rysunek 52. Aktywność przeciwutleniająca próbek ekstraktów wodnych z wytłoków z jarzębiny, jagody kamczackiej i aronii wyznaczona za pomocą testów spektrofotometrycznych ABTS, DPPH i F-C i wyrażona jako ilość równoważników Troloxu [TE, mg/mL].

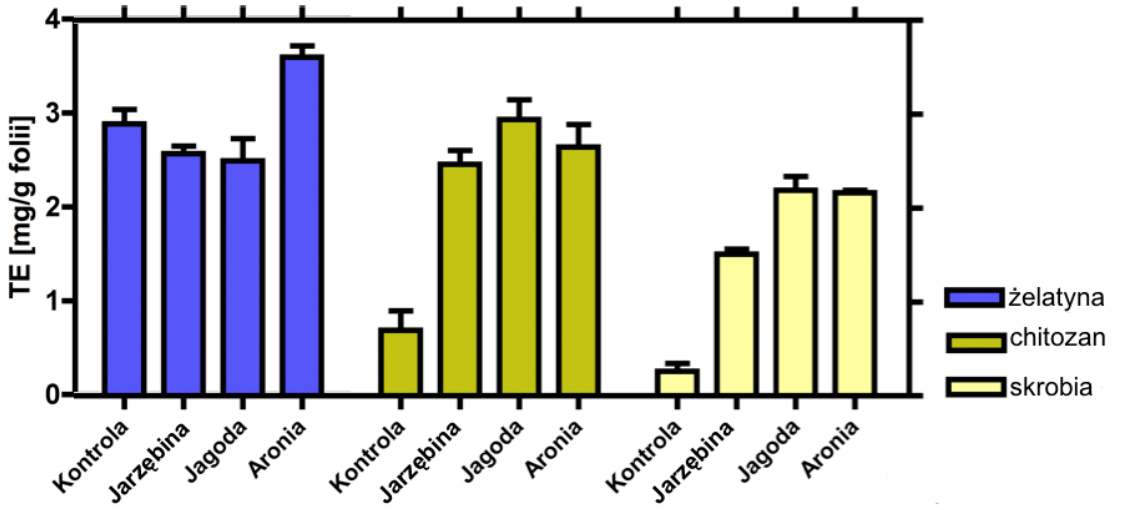
W przypadku ekstraktów z wytłoków można zaobserwować również nieco inną niż dla soków tendencję. Najwyższą aktywność wykazywały ekstrakty z jagody kamczackiej natomiast najniższą ekstrakty z jarzębiny. Różnice aktywności pomiędzy owocami nie przekraczały 50%. Wysokie współczynniki Pearsona pomiędzy wynikami poszczególnych testów, tak jak i w przypadku soków wskazują na wysoką korelację (0,98 ABTS/DPPH; 0,99 ABTS/F-C; 0,99 DPPH/F-C).

### Właściwości przeciwutleniające folii

Na Rysunku 53 zestawiono wyznaczone testem ABTS poziomy aktywności przeciwutleniającej dla różnego rodzaju folii z dodatkiem lub bez dodatku (kontrola) ekstraktów z jarzębiny, jagody kamczackiej i aronii. Uzyskane wyniki wskazują, że sam surowiec wykorzystany do produkcji folii wykazuje aktywność przeciwutleniającą - najwyższą w przypadku folii wykonanej z żelatyny. W piśmiennictwie można również znaleźć dane potwierdzające aktywność przeciwutleniającą żelatyny (Gómez-Guillén i in., 2010; Tongnuanchan i in., 2012), a także chitozanu (Sun i in., 2007, Jarmila i Vavríková 2011, Charernsriwilaiwat i in., 2012). Nieco mniej danych odnaleźć można dla skrobi, jednak istnieją artykuły opisujące aktywność przeciwutleniającą również tego polimeru (Mehdizadeh i in., 2012).

Dodatek ekstraktów do folii praktycznie we wszystkich wariantach skutkował co najmniej 2-krotnym i maksymalnie 8-krotnym wzrostem aktywności przeciwutleniającej w zależności od

rodzaju folii i zastosowanego dodatku roślinnego, z wyjątkiem folii żelatynowych. Brak wyraźnego zwiększenia aktywności przeciwutleniającej folii żelatynowych z dodatkiem ekstraktów w stosunku do folii modyfikowanej może być spowodowany dużymi właściwościami przeciwutleniającymi samego polimeru. Praktycznie we wszystkich rodzajach folii widać korelację pomiędzy ich aktywnością przeciwutleniającą a aktywnością ekstraktów zastosowanych jako czynniki modyfikujące.




Rysunek 53. Aktywność przeciwutleniająca różnego rodzaju folii z dodatkiem lub bez dodatku ekstraktów z jarzębiny, jagody kamczackiej oraz aronii wyznaczona za pomocą testu spektrofotometrycznego ABTS.

Dane literaturowe wskazują, że najczęściej spotykanym dodatkiem roślinnym do folii są ekstrakty z zielonej herbaty (Siripatrawan i Harte, 2010, Dicastillo i in., 2011), ziół i przypraw (Gómez-Estaca i in., 2009; Mehdizadeh i in., 2012) lub nasion (Cerruti i in., 2009). Pod względem aktywności przeciwutleniającej napar z herbaty jest około 100-krotnie bardziej aktywny niż soki z owoców. Herbata posiada głównie polifenole należące do grupy katechin, spotykane w mniejszej ilości w owocach jagodowych bogatych bardziej w kwasy fenolowe i antocyjany. Zioła i przyprawy również są bogatym źródłem związków przeciwutleniających, głównie kwasów fenolowych oraz olejków eterycznych wnoszących ponadto aktywność przeciwdrobnoustrojową. Ekstrakty z nasion posiadają wysokie stężenia bardzo aktywnych proantocyjanidyn. Wykorzystanie wytłoków owocowych jako źródła substancji przeciwutleniających wymaga zatem skupienia się na opracowaniu procesu ekstrakcji fitozwiązków, zapewniającego otrzymanie bardziej zatężonych ich roztworów. Jedynie wyjściowy ekstrakt o wysokiej aktywności przeciwutleniającej umożliwi polepszenie w znaczący sposób potencjału przeciwutleniającego folii.

## 7.7 W**łaściwości przeciwdrobnou**strojowe folii.

### Folie z cynkanowanej i krzemianowanej skrobi

Z doniesień literaturowych wiadomo, iż takie pierwiastki jak cynk czy krzem mogą wykazywać działanie przeciwdrobnoustrojowe. W pracy sprawdzono, czy zastosowana modyfikacja skrobi związkami zawierającymi te pierwiastki nada otrzymanym foliom właściwości przeciwdrobnoustrojowe.

W Tabeli 63 zestawiono aktywność przeciwdrobnoustrojową jednoskładnikowych folii ze skrobi modyfikowanej tetrahydroksocynkanem(V) sodu oraz metakrzemianem sodu. Ze względu na wysokie pH roztworu skrobi modyfikowanej (pH 12), jako kontrolę wykonano folie z roztworów natywnej skrobi ziemniaczanej o pH 12. Folie formowane z roztworów o tym pH powodowały zmniejszenie liczby bakterii gramujemnych (*E. coli, P. fluorescens*), jak i gramdodatnich (*S. aureus, L. innocua*) odpowiednio o 1,3; 1,7; 0,5 i 0,7 rzędu wielkości (Tabela 63).

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa chemicznie modyfikowanej skrobi zarówno cynkanowanej, jak i krzemianowanej w dużym stopniu zależała od gatunku bakterii. Najbardziej wrażliwym szczepem okazał się *P. fluorescen.* Liczba tych bakterii zmniejszyła się o ok. 2 rzędy wielkości w porównaniu z wynikami otrzymanymi w przypadku folii kontrolnej o pH 12 (Tabela 63). Wobec pozostałych badanych bakterii modyfikowane folie skrobiowe nie wykazywały aktywności przeciwdrobnoustrojowej (Tabela 63).

Tabela 63. Przeciwdrobnoustrojowa aktywność folii z cynkanowanej i krzemianowanej skrobi wobec gramujemnych bakterii *E. coli* i *P. fluorescens* oraz gramdodatnich bakterii *S. aureus* i *L. innocua.*

| Folia | pH roztworu foliotwórczego | Log j.t.k./mL[1] | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | *E. coli* | *P. fluorescens* | *S. aureus* | *L. innocua* |
| skrobiowe | 6 | $5,1\pm0,33^{A}$ | $6,7\pm0,23^{A}$ | $3,7\pm0,20^{A}$ | $5,3\pm0,27^{A}$ |
| skrobiowe | 12 | $3,8\pm0,23^{B}$ | $5,0\pm0,40^{B}$ | $3,2\pm0,10^{B}$ | $4,7\pm0,08^{B}$ |
| skrobiowa $S_{Zn}$ | 12 | $4,7\pm0,14^{C}$ | $2,7\pm0,15^{C}$ | $3,4\pm0,11^{B}$ | $4,4\pm0,15^{C}$ |
| skrobiowa $S_{Si(sól)}$ | 12 | $4,4\pm0,14^{D}$ | $2,9\pm0,15^{C}$ | $3,2\pm0,08^{B}$ | $4,4\pm0,35^{C}$ |

[1]Wyniki są średnią z 3 powtórzeń. Różne indeksy w kolumnach oznaczają różnice istotne statystycznie $p<0,05$

### Folie z **nanonapełniaczami**

Zastosowanie nanonapełniaczy jako składnika folii może nie tylko polepszać ich wytrzymałość mechaniczną oraz ograniczać WVP i rozpuszczalność, ale również nadawać im cechy opakowań

przeciwdrobnoustrojowych. Sothornvit i in. (2009) oraz Rhim i in. (2009) stwierdzili, że aktywność przeciwdrobnoustrojowa nanokompozytów na bazie polimerów naturalnych zależy od własciwosci hydrofilowych i hydrofobowych zastosowanych nanonapełniaczy. Rhim i in. (2009) wykazali, że niemodyfikowany MMT (Cloisite®$Na^+$) nie hamował wzrostu bakterii, natomiast chemiczna modyfikacja MMT czwartorzędowymi solami amoniowymi przyczyniła się do zwiększenia jego hydrofobowości oraz działania przeciwdrobnoustrojowego. Z tego względu, w pracy zbadano wpływ nanonapełniaczy hydrofobowych na właściwości przeciwdrobnoustrojowe nanokompozytów na bazie żelatyny i skrobi. W badaniach pominięto folie na bazie chitozanu, gdyż niemodyfikowana folia chitozanowa wykazywała znaczące właściwości przeciwdrobnoustrojowe.

Nanokompozyty na bazie żelatyny z dodatkiem NanoBent ZR-1 powodowały całkowitą inaktywację bakterii gramdodatnich (*S. aureus* i *L. innocua*), a nanokompozyty skrobiowe z tym nanonapełniaczem zmniejszały ich liczbę odpowiednio o 5,4 i 6,0 rzędu wielkości. Mniejszą aktywnością charakteryzowały się folie żelatynowe i skrobiowe zawierające Nanofil®2.

Nanokompozyty żelatynowe z Nanofil®2 zmniejszały liczbę bakterii *S. aureus* i *L. innocua* odpowiednio o 1,7 i 4,3 rzędy, a skrobiowe o 1,5 i 0,8 rzędu wielkości. Dodatek nanonapełniaczy hydrofobowych nie wpłynął na zahamowanie wzrostu bakterii gramujemnych (*E.coli* i *P. fluorescens*) (Tabela 64).

Z przeprowadzonych badań wynika, iż bakterie gramdodatnie są bardziej wrażliwe na działanie nanokompozytów, niż bakterie gramujemne. Podobną zależność zaobserwowali Sothornvit i in. (2009) badając folie z białek kazeinowych modyfikowanych Cloisite®30B. Folie otrzymane przez autorów wykazywały aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec gramdodatniej bakterii *L. monocytogenes*, natomiat nie wpływały na gramujemną *E. coli*. Przyczyną zróżnicowanego działania nanokompozytów na bakterie gramdodatnie i gramujemne może być różnica w budowie ich ściany komórkowej.

Tabela 64. Przeciwdrobnoustrojowa aktywność folii żelatynowych (a) i skrobiowych (b) modyfikowanych nanonapełniczami Nanofil® 2 i NanoBent ZR-1 wobec gramujemnych bakterii *E. coli* i *P. fluorescens* oraz gramdodatnich bakterii *S. aureus* i *L. innocua.*

a) Nanokompozyty żelatynowe

| Folie | Log j.t.k./mL | | | |
|---|---|---|---|---|
| | *E. coli* | *P. fluorescens* | *S. aureus* | *L. innocua* |
| Żelatynowe | 7,6±0,2[a] | 7,7±0,1[a] | 7,0±0,1[a] | 7,3±0,1[a] |
| Na bazie żelatyny z Nanofil®2 | 7,4±0,3[a] | 7,8±0,3[a] | 5,3±0,09[b] | 3,0±0,9[b] |
| Żelatynowe z NanoBent ZR-1 | 6,7±0,3[b] | 7,7±0,3[a] | <1[c] | <1[c] |

b) Nanokompozyty skrobiowe

| Folie | Log j.t.k./mL | | | |
|---|---|---|---|---|
| | *E. coli* | *P. fluorescens* | *S. aureus* | *L. innocua* |
| Skrobiowe | 7,1±0,3[a] | 8,0±0,1[a] | 7,5±0,2[a] | 7,2±0,2[a] |
| Skrobiowe z Nanofil®2 | 7,1±0,3[a] | 8,1±0,2[a] | 6,0±0,5[b] | 6,4±0,3[b] |
| Skrobiowe z NanoBent ZR-1 | 6,7±0,3[a] | 7,8±0,4[a] | 2,1±0,7[c] | 1,2±0,5[c] |

Różne indeksy w kolumnach oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$)

**Folie z ekstraktami roślinnymi**

Dodatek różnych ekstraktów roślinnych do folii opakowaniowych, poza poprawą właściwości mechanicznych i barierowych może im nadać oprócz aktywności przeciwutleniającej również aktywność przeciwdrobnoustrojową (Chana-Thaworn i in., 2011; Fazilah i in. 2006). Najczęściej do tego celu stosuje się ekstrakty z ziół, zielonej herbaty lub przypraw (Gómez-Estaca i in., 2009; Hong i in., 2009). W dostępnym piśmiennictwie brak jest informacji o przeciwdrobnoustrojowym działaniu folii z ekstraktami z wytłoków owocowych.

Folie żelatynowe z dodatkiem ekstraktów z badanych wytłoków z owoców nie powodowały inaktywacji zarówno bakterii gramdodatnich i gramujemnych (Tabela 65a). Przeciwnie, folie skrobiowe z ekstraktami wykazywały znaczącą aktywność przeciwdrobnoustrojową. Obecność w matrycy skrobiowej ekstraktów z wytłoków aronii, jagody i

jarzębiny całkowicie inaktywowała *P. fluorescens*. Stopień inaktywacji pozostałych bakterii zależał od ich gatunku i rodzaju ekstraktu. Liczba bakterii *E. coli*, *S. aureus* i *L. innocua* po 24h kontaktu z foliami zawierającymi ekstrakt z wytłoków aronii zmniejszyła się odpowiednio o 4,7, 4,0 i 2,0 rzędy wielkości (Tabela 65). Natomiast bakterie *E. coli* były oporne na działanie folii skrobiowych z ekstraktami z wytłoków jagody i jarzębiny – ich liczba zmniejszyła się tylko o 1,2 (jarzębina) i 0,8 (jagoda) rzędu wielkości.

Tabela 65. Przeciwdrobnoustrojowa aktywność folii żelatynowych (a) i skrobiowych (b) z dodatkiem ekstraktów z wytłoków owoców wobec gramujemnych bakterii *E. coli, P. fluorescens* i gramdodatnich bakterii *S. aureus* i *L. innocua*

*a)* żelatynowe

| Folie | Log j.t.k./mL | | | |
|---|---|---|---|---|
| | *E. coli* | *P. fluorescens* | *S. aureus* | *L. innocua* |
| bez ekstraktu | 7,4±0,16$^{a}$ | 7,7±0,06$^{a}$ | 7,5±0,08$^{a}$ | 7,2±0,10$^{a}$ |
| z ekstraktem z wytłoków aroni | 7,3±0,14$^{a}$ | 7,7±0,10$^{a}$ | 7,4±0,13$^{a}$ | 7,7±0,06$^{a}$ |
| z ekstraktem z wytłoków jagody | 7,2±0,06$^{a}$ | 7,5±0,18$^{a}$ | 7,3±0,20$^{a}$ | 7,7±0,08$^{a}$ |
| z ekstraktem z wytłoków jarzębiny | 7,5±0,07$^{a}$ | 7,8±0,15$^{a}$ | 7,5±0,17$^{a}$ | 7,7±0,14$^{a}$ |

*b)* skrobiowe

| Folie | Log j.t.k./mL | | | |
|---|---|---|---|---|
| | *E. coli* | *P. fluorescens* | *S. aureus* | *L. innocua* |
| bez ekstraktu | 7,2±0,25$^{a}$ | 7,6±0,15$^{a}$ | 7,1±0,20$^{a}$ | 7,0±0,18$^{a}$ |
| z ekstraktem z wytłoków aroni | 2,5±0,15$^{b}$ | <1$^{b}$ | 3,1±0,60$^{b}$ | 5,0±0,24$^{b}$ |
| z ekstraktem z wytłoków jagody | 6,0±0,79$^{c}$ | <1$^{b}$ | 2,6±0,30$^{b}$ | 3,0±0,31$^{c}$ |
| z ekstraktem z wytłoków jarzębiny | 6,4±0,67$^{a,c}$ | <1$^{b}$ | 5,1±0,63$^{c}$ | 3,5±0,21$^{c}$ |

Różne indeksy w kolumnach oznaczają różnice istotne statystycznie ($p<0,05$).

# 8 Wnioski

1. Spośród niemodyfikowanych folii jednoskładnikowych najlepsze wykazują folie chitozanowe, natomiast najmniejszą przepuszczalność pary wodnej i rozpuszczalność folie skrobiowe. Chemiczna modyfikacja skrobi pogarsza właściwości mechaniczne i barierowe folii oraz zwiększa ich rozpuszczalność, a także nadaje im właściwości przeciwdrobnoustrojowe wobec *P.fluorescens.*
2. Połączenie skrobi z żelatyną w stosunku 1:1 i 1:2 poprawia σ folii w porównaniu z folią żelatynową i skrobiową oraz nadaje większą stabilnością termiczną w przypadku połączenia 1:1. Dodatek skrobi chemicznie modyfikowanej do folii powoduje obniżenie σ, poprawia barierowość w stosunku do pary wodnej oraz nie wpływa na termostabilność folii.
3. Najwyższą σ spośród folii sk robiowo-chitozanowych wykazują folie 1:2 i 1:1. Łączenie skrobi z chitozanem w żadnym ze stosunków nie wpływa na poprawę barierowości w stosunku do wody otrzymanych folii. Modyfikacja skrobi powoduje zwiększenie oddziaływań pomiędzy skrobią a chitozanem i utworzenie nowych wiązań, co ogranicza rozpuszczalność otrzymanych folii, ale i obniża σ.
4. Hydrofilowe nanonapełniacze ograniczają rozpuszczalność folii skrobiowych i żelatynowych, dodatkowo zastosowanie hydrofilowego nanonapełniacza Nanomer®PGV poprawia σ folii skrobiowych. Natomiast dodatek hydrofobowych nanonapełniaczy nadaje foliom właściwości przeciwdrobnoustrojowe wobec bakterii gramdodatnich.
5. Zarówno hydrofilowe, jak i hydrofobowe nanonapełniacze nie nadają się do poprawy barierowości folii na bazie skrobi i chitozanu oraz nie polepszają właściwości termicznych folii żelatynowych, skrobiowych i chitozanowych. Natomiast mają korzysty wpływ na właściwości mechaniczne i barierowe folii żelatynowych.
6. Dodatek wodnych ekstraktów z wytłoków owocowych ogranicza rozpuszczalność oraz zwiększa aktywność przeciwutleniającą folii skrobiowych i chitozanowych, a także nadaje właściwości przeciwdrobnoustrojowe foliom skrobiowym oraz poprawia σ folii żelatynowych i chitozanowych.
7. Żaden z wodnych ekstraktów z wytłoków owocowych nie wpływa na wzrost stabilności termicznej folii żelatynowych i skrobiowych, a także nie obniża WVP folii żelatynowych, natomiast w przypadku folii skrobiowych i chitozanowych nawet je pogarsza.

## PIŚMIENNICTWO


Aberg C.M., Chen T., Payne G. 2002. Renewable resources and enzymatic processes to create functional polymers: adapting materials and reactions from food processing. Journal of Polymers and the Environment, 10, 77-84.

Aeschlimann D., Paulsson M. 1994. Transglutaminases: protein crosslinking enzymes in tissues and body fluids. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 71, 402-415.

Angele P., Abke J., Kujat R., Faltermeier H., Schumann D., Nerlich M., Kinner B., Englert C., Ruszczak Z., Mehrl R., Mueller R. 2004. Influence od different collagen species on physic-chemical properties of crosslinked collagen matrices. Biomaterials, 25, 2831-2841.

Anker M., Berntsen J., Hermansson A.-M., Stading M. 2001. Improved water vapor barrier of whey protein films by addition of an acetylated monoglyceride. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 3, 81-92.

Anonim. 2008. Tends in Global Packaging. www.worldpackaging.org.

Arvanitoyannis I., Biliaderis C.G. 1999. Physical properties of polyol-plasticized edible blends made of methyl cellulose and soluble starch. Carbohydrate Polymers, 38, 47-58.

Arvanitoyannis I., Kolokuris I., Nakayema A., Yamamoto N., Aiba S. 1997. Physico–chemical studies of chitosan–poly(vinyl alcohol) blends plasticized with sorbitol and sucrose. Carbohydrate Polymers, 34, 9–19.

Arvanitoyannis I., Psomiadou E., Nakayama A. 1996. Edible films made from sodium caseinate, starches, sugars or glycerol. Part 1. Carbohydrate Polymers, 31, 179-192.

Arvanitoyannis I., Psomiadou E., Nakayama A., Aibab S., Yamamoto N. 1997. Edible films made from gelatin, soluble starch and polyols. Part 3. Food Chemistry, 60, 593-604.

Arnesen J.A., Gildberg A. 2007. Extraction and characterisation of gelatin from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. Bioresource Technology, 98, 53-57.

Audic J.L., Chaufer B. 2005. Influence of plasticizers and crosslinking on the properties of biodegradable films made from sodium caseinate. European Polymer Journal, 41, 1934-1942.

Averous L., Boquillon N. 2004. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. Carbohydrate Polymers, 56, 111–122.

Aydinli M., Tutas M. 2000. Water sorption and water vapour permeability properties of polysaccharide (Locust Bean Gum) based edible films. Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie, 33, 63-67.

Babin H., Dickinson E. 2001. Influence of transglutaminase treatment on the thermoreversible gelation of gelatin. Food Hydrocolloids, 15, 271–276.

Bae H. J., Park H.J., Hong S.I., Byun Y. J., Darby D.O., Kimmel R.M., Whiteside W. S. 2009. Effect of clay content, homogenization RPM, pH, and ultrasonication on mechanical and barrier properties of fish gelatin/montmorillonite nanocomposites films. LWT - Food Science and Technology, 42, 1179–1186.

Bastioli C. 1998. Properties and applications of Mater-Bi starch based materials. Polymer Degradation and Stability, 59, 263-272.

Begin A., Van Calsretren M. R., 1999. Antimicrobial films produced from chitosan. International Journal of Biological Macromolecules, 26, 63-67.

Bergo P., Sobral P. J. A. 2007. Effect of plasticizer on physical properties of pigskin gelatin films. Food Hydrocolloids, 21, 1285–1289.

Bertuzzi M.A., Castro Vidaurre E. F., Armada M., Gottifreidi J. C. 2007. Water vapor permeability of edible starch based films. Journal of Food Engineering, 80, 972-978.

Bigi A., Cojazzi G., Panazavolta S., Rubini K., Roveri N. 2001. Mechanical and thermal properties of gelatin films at different degrees of glutaraldehyde crosslinking. Biomaterials, 22, 163-768.

Błędzki A.K. 1997. Recykling materiałów polimerowych. WNT, Warszawa.

Bourtoom T, Chinnan M.S. 2008. Preparation and properties of rice starch–chitosan blend biodegradable film. LWT - Food Science and Technology, 41, 1633-1641.

Braczko M., Tederko A., Grzybowski J. 1994. Określenie stopnia usieciowania błon kolagenowych przeznaczonych do celów medycznych metodą badania ich wodochłonności. Polimery w Medycynie, 24(3-4),41-52.

Brandenburg A.H., Weller C.L., Testin R.F. 1993. Edible films and coatings from soy protein. Journal of Food Science, 58, 1086-1089.

Buléon A., Colona P., Planchot V., Ball S. 1998. Starch granules: Structure and biosynthesis. Mini review. International Journal of Biological Macromolecules, 23, 85-112.

Cao Y.M., Chang K.C. 2001. Edible films prepared from water extract of soybeans. Journal of Food Science, 67, 1449-1454.

Cao N., Fu Y., He J. 2007a. Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. Food Hydrocolloids, 21, 1153-1162.

Cao N., Fu Y., He J. 2007b. Mechanical properties of gelatin films cross-linked, respectively, by ferulic acid and tannin acid. Food Hydrocolloids, 21, 575-584.

Carvajal-Millan E., Guigliarelli B., Belle V., Rouau X., Micard V. 2005. Storage stability of laccase induced arabinoxylan gels. Carbohydrate Polymers, 59, 181-188.

Carvalho R.A., Grosso C.R.F. 2004. Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde. Food Hydrocolloids, 18, 717-726.

Chambi H., Grosso C. 2006. Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with transglutaminase. Food Research International, 39, 458-466.

Chang Y. P., Abd Karim A., Seow C. C. 2006. Interactive plasticizing–antiplasticizing effect of water and glycerol on tensile properties of tapioca starch films. Food Hydrocolloids, 20, 1–8.

Chang P. R., Wu D., Anderson D. P., Ma X. 2012. Nanocomposites based on plasticized starch and rectorite Clay: Structure and properties. Carbohydrate Polymers, 89, 687-693.

Chen H. 1995. Functional properties and applications of edible films made of milk proteins. Journal of Dairy Science, 78, 2563-2568.

Chen R.H., Hwa H.D. 1996. Effect of molecular weight of chitosan with the same degree of deacetylation on the thermal, mechanical, and permeability properties of the prepared membrane. Carbohydrate Polymers, 29, 353-358.

Chen H. 2002. Formation and properties of casein films and coatings. W: Protein-based films and coatings. Gennadios A. (red). Boca Raton, FL: CRC Press. Florida. 181-213.

Chen R. H., Hwa H. D., 1996. Effect of molecular weight of chitosan with the same degree of deacetylation on the thermal, mechanical and permeability properties of the prepared membrane. Carbohydrate Polymers, 29, 353-358.

Chen R.–N., Ho H.–O., Sheu M.–T. 2005. Characterization of collagen matrices crosslinked using microbial transglutaminase. Biomaterials, 26, 4229–4235.

Chen T., Embree H.D., Brown E.M., Taylor M.M., Payne G.F. 2003. Enzyme-catalyzed gel formation of gelatin and chitosan: potential for in situ applications. Biomaterials, 24, 2831-2841.

Chiou B.S., Avena-Bustillos R.J., Bechtel P.J., Jafri H., Narayan R., Imam S.H., Glenn G.M., Orts W.J. 2008. Cold water fish gelatin films: Effects of cross-linking on thermal, mechanical, barrier, and biodegradation properties. European Polymer Journal, 44, 3748-3753.

Chiou S., Wu W. 2004. Immobilization of *Candida rugosa* lipase on chitosan with activation of the hydroxyl groups. Biomaterials, 25, 197-204.

Cho S.Y., Rhee C. 2004. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films made from fractionated soy proteins with ultrafiltration. Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie, 37, 833-839.

Cho S. Y., Park J-W., Batt H.P., Thomas R.L. 2007. Edible films made from membrane processed soy protein concentrates. Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie, 40, 418-423.

Cieśla K., Salmieri S., Lacroix M., Le Tien C. 2004. Gamma irradiation influence on physical properties of milk proteins. Radiation Physics and Chemistry, 71, 93-97.

Coupland J.N., Shaw N.B., Monahan F.J., O'Riordan E.D., O'Sullivan M. 2000. Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films. Journal of Food Engineering , 43, 25-30.

Cuq B., Gontard N., Cuq J.L Guibert S. 1997. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers. Journal of Agricultural Food Chemistry, 45, 622-626.

Cyras V. P., Manfreidi L. B., Ton-That M-T, Vazquez A. 2008. Physical and mechanical properties of thermolastoc stach/montmorillonite nanocomposite films. Carbohydrate Polymers, 73, 55-63.

Dean K., Yu L. 2005. Biodegradable protein nanocomposites. In: Biodegradable polymers for industrial application. Ed. R. Smith. CRC Press, Boca Raton, p. 289-309.

Denavi G., Perez-Mateos M., Anon C., Montero P. Mauri A., Gomez-Guillen C. 2007. Structural and functional properties of edible films made of soy proteins and cod skin gelatin. XI Congreso Argentino de Ciencia y Tecnologia de Alimentos (CYTAL) de la Asociacion Argentina de Tecnologos Alimentarios, 12-14 September 2007, Buenos Aires, Argentina.

Dickinson E. i Yamamoto Y. 1996. Rheology of milk protein gels and protein-stabilized emulsion gels cross-linked with transglutaminase. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44, 1371-1377.

Di Pierro P., Chico B., Villalonga R., Mariniello L., Masi P., Porta R. 2007. Transglutaminse – catalyzed preparation of chitosan–ovalbumin films. Enzyme and Microbial Technology, 40, 437–441.

Dong Z., Wang Q., Du Y. 2006. Alginate/gelatin blend films and their properties for drug controlled release. Journal of Membrane Science, 280, 37-44.

Eastoe J.E., Leach A.A. 1977. Chemical constitution of gelatin. In: The science and technology of gelatin. Eds. A.G. Ward and Courts., 73-107, New York: Academic Press.

Fakhouria F. M., Costa D., Yamashita F., Martelli S., M., Jesus R. C., Alganer K., Collares-Queiroz F. P., Innocentini-Mei L. H. 2013. Comparative study of processing methods for starch/gelatin films. Carbohydrate Polymers, 2, 681-689.

Fakhoury F. M., Martelli S. M., Bertan L. C., Yamashita F., Innocentini-Mei L. H., Coralles-Queiroz F. P. 2012. Edible films made from blends of manioc starch and gelatin – Influence of different types pf plasticizer and different levels of macromolecules of their properties. LTW – Food Science and Technology, 49 (1), 149-154.

Fortuna T., Gibiński M., Pałasiński M. 1992. Comparison of properties of amylophosphoric acid and di-starch phosphate salts. Polish Journal of Food and Nutrition Science, 1, 115-119.

Garcia M., Pinotti A., Zaritzky N.E. 2006. Physicochemical, water vapor barrier and mechanical properties of corn starch and chitosan composite films. Starch/Stärke, 58, 453–463.

Galietta G., Di Gioia L., Guilbert S., Cuq B. 1998. Mechanical and thermomechanical properties of films based on whey proteins as affected by plasticizer and crosslinking agents. Journal of Dairy Science, 81, 3123–3130.

Gennadios A., Weller C.L., Testin R.F. 1993. Temperature effect on oxygen permeability of edible protein-based films. Journal of Food Science, 58, 212-214.

Ghorpade V.M., Gennadios M.A., Hanna M.A., Weller C.L. 1995. Soy protein isolate/poly(ethylene oxide) films. Cereal Chemistry., 72, 559-563.

Gołębiewski J. 2004. Nanokompozyty polimerowe. Struktura, metody wytwarzania i właściwości. Przemysł Chemiczny, 83, 15-20.

Gontard N., Guilbert S. i Cuq J.L. 1993. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapour barrier properties of wheat edible gluten film. Journal of Food Science, 58(1), 206-211.

Gómez-Estaca J., Montero P., Fernández-Martín F., Gómez-Guillén M.C. 2009. Physico-chemical and film forming properties of bovine-hide and tuna-skin gelatin: A comparative study. Journal of Food Engineering, 90, 480-486.

Gómez-Guillén M.C., Turnay J., Fernández-Díaz M.D., Ulmo N., Lizarbe M.A., Montero P. 2002. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: A comparative study. Food Hydrocolloids, 16, 25-34.

Greesh N., Hartmann P.C., Cloete V., Sanderson R.D. 2007. Adsorption of 2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid (AMPS) and related compounds onto montmorillonite clay. Journal of Colloid and Interface Science, 319, 2-11.

Handa A., Gennadios A., Froning G.W., Kuroda N., Hanna M.A. 1999. Tensile, solubility, and electrophoretic properties of egg white films as affected by surface sulfhydryl groups. Journal of Food Science, 64, 82-85.

Haug I.J., Draget K.I., Smidsrød O. 2004. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. Food Hydrocolloids, 18, 203-213.

Huang M.F., Yu J.G., Ma X.F. 2004. Studies on the properties of Montmorillonite-reinforced thermoplastic starch composites. Polymer, 45, 7017-7023.

Harish P.K.V., Kittur F.S., Tharanathan R.N. 2002. Solid state structure of chitosan preparated under diffrent N-deacetylating conditions. Carbohydrate Polymers, 50, 27-33.

Harrington W.F., von Hippel P.H. 1961. Evidence for the existence of hydrophobic interactions as a stabilizing factor in collagen structure Archives of Biochemistry and Biophysics, 92, 100.

Harrington W. F., Rao N. V. 1970. Collagen structure in solution. 1. Kinetics of helix regeneration in single chain gelatins Biochemistry, 9, 3714-3723.

Hernández-Muñoz P., Villalobos R., Chiralt A. 2004a. Effect of cross-linking using aldehydes on properties of glutenin-rich films. Food Hydrocolloids, 18, 403–411.

Hernández-Muñoz P., Villalobos R., Chiralt A. 2004b. Effect of thermal treatments on functional properties of edible films made from wheat gluten fractions. Food Hydrocolloids, 18, 647-654.

Horn M.M, Martins V., Plepis A. 2011. Effects of starch gelatinization and oxidation on the rheological behavior of chitosan/starch blends. Polymer International, 60, 920-923.

Hosseini S. F., Rezaei M., Zandi M., Ghavi F. F. 2013. Preparation and functional properties of fish gelatin-chitosan blend edible films. Food Chemistry, 136, 1490-1495.

Irissin-Mangata J., Bauduin G., Boutevin B., Gontard N. 2001. New plasticizers for wheat gluten films. European Polymer Journal, 37, 1533-1541.

Jangchud A., Chinnan M.S. 1999. Properties of peanut protein film: sorption isotherm and plasticizer effect. Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie, 32, 89-94.

Jindal M., Kumar V., Rana V., Tiwary A. K. 2013. Physico-chemical, mechanical and electric al performance of bael Firut gum-chitosan IPN films. Food Hydrocolloids, 30, 192-199.

Jo C., Kang H., Lee N.Y., Kwon J.H., Byun M.W. 2005. Pectin- and gelatin-based film: effect of gamma irradiation on the mechanical properties and biodegradation. Radiation Physics and Chemistry, 72, 745-750.

Jongjareonrak A., Benjakul S., Visessanguan W., Podpran T., Tanaka M. 2006a. Characterization of edible films from skin gelatin of brownstripe red snapper and bigeye snapper. Food Hydrocolloids, 20, 492–501.

Jongjareonrak A., Benjakul S., Visessanguan W., Tanaka M. 2006b. Effects of plasticizers on the properties of edible films from skin gelatin of bigeye snapper and brownstripe red snapper. European Food Research and Technology, 222, 229-235.

Jongjareonrak A., Benjakul S., Visessanguan W., Tanaka M. 2006c. Skin gelatin from bigeye snapper and brownstripe snapper, chemical composition and effect of microbial transglutaminase on gel properties. Food Hydrocolloids, 20, 1216–1222.

Jurkowski B. 2007. Nanotechnologia i nanomateriały. Wykład, Politechnika Poznańska.

Kang H.J., Jo C., Lee N.Y., Kwon J.H., Byun M.W. 2005. A combination of gamma irradiation and $CaCl_2$ immersion for a pectin-based biodegradable film. Carbohydrate Polymers, 60, 547-551.

Kapuśniak J., Siemion P. 2005. Thermal reactions of starch with long-chain unsaturated fatty acids. Part 2. Linoleic acid. Journal of Food Engineering, 78, 323-332.

Karabulut M. 2003. Production and characterization of nanocomposite materials from recycled thermoplastics, METU M.Sc. Thesis, Ankara, Turkey.

Krakowiak A., Czakaj J. 1999. Niektóre zastosowania mikrobiologicznej transglutaminazy w przemyśle spożywczym. Przemysł Spożywczy,1, 36-38.

Karim A.A., Bhat R. 2009. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalain gelatins. Food Hydrocolloids, 23, 563-576.

Kim D-H., Na S-K., Park J-S. 2002. Preparation and Characterization of Modified Satrch-Based Plastic Film Reinforced with Short Pulp Fiber. I. Structural Properties. Journal of Applied Polymer Science, 88, 2100-2107.

Kim K.M., Weller C.L., Hanna M.A., Gennadios A. 2002. Heat curing of soy protein films at atmosperic and sub-atmospheric conditions. Journal of Food Science, 67, 708-713.

Kim S., Sessa D.J., Lawton J.W. 2004. Characterization of zein modified with a mild cross-linking agent. Industrial Crops and Products, 20, 291-300.

Kim J.K., Jo C., Park H.J., Byun M.W. 2008. Effect of gamma irradiation on the physicochemical properties of a starch-based film. Food Hydrocolloids, 22, 248-254.

Kittur F. S., Kumar K. R., Tharanathan R. N., 1998. Functional packaging properties of chitosan films. Cabohydrate Polymers, 54, 303-308.

Kołakowski E., Sikorski Z. E., 2001. Transglutaminaza i jej wykorzystanie w przemyśle żywnościowym. Żywność, 8, 5-16.

Kołodziejska I., Kaczorowski K., Piotrowska B., Sadowska M. 2004. Modification of gelatin from skin of Balic cod (Gadus morhua) with transglutaminase. Food Chemistry, 86, 203-209.

Kołodziejska I., Piotrowska B., Bulge M., Tylingo R. 2006. Effect of transglutaminase and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide on the solubility of fish gelatin-chitosan films. Carbohydrate Polymers, 65, 404-409.

Kołodziejska I., Piotrowska B. 2007. The water vapour permeability, mechanical properties and solubility of fish gelatin-chitosan films modified with transglutaminase or 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) and plasticized with glycerol. Food Chemistry, 103, 295-300.

Kołodziejska I., Skierka E., Sadowska M., Kołodziejski W., Nieciowska C. 2008. Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. Food Chemistry, 107, 700-706.

Krakowiak A., Czakaj J. 1999. Niektóre zastosowania mikrobiologicznej transglutaminazy w przemyśle spożywczym. Przemysł Spożywczy, 1, 36-38.

Krochta J. M., De Mulder-Johnston C. 1997. Edible and biodegradable polymer films: challenges and oppportunities. Food Technologies, 51, 2, 61-74.

Kuczyńska H., Kamińska-Tarnawska E., Majkrzak P. 2008. Wpływ modyfikacji montmorylonitu na właściwości reologiczne organicznych układów powłokotwórczych z jego udziałem. Polimery, 53, 551-558.

Kuiijpers A. J., Engbers G. H. M., Krijgsveld J., Zaat S. A. J., Dankert J., Feijen J. 2000. Cross–linking and characterisation of gelatin matrices for biomedical applications. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, 11, 225–243.

Kumar G., Bristow J.F., Smith P.J, Payne G.F. 2000. Enzymatic gelation of the natura polimer chitosan. Polymer, 41, 2157-2168.

Kuuva T., Lantto R., Reinikainen T., Buchert J., Autio K. 2003. Rheological properties of laccase-induced sugar beet pectin gels. Food Hydrocolloids, 17, 679-684.

Lacroix M., Le T.C., Ouattara B., Yu H., Letendre M., Sabato S.F., Mateescu M.A., Patterson G. 2002. Use of γ-irradiation to produce films from whey, casein and soya proteins: structure and functionals characteristics. Radiation Physics and Chemistry, 63, 827-832.

Lai H.M., Chiang I.C. 2006. Properties of MTGase treated gluten film. European Food Research and Technology, 222, 291-297.

Lantto R., Puolanne E., Kalkkinen N., Bucher J., Autio K., 2005. Enzyme-aided modyfication of chiken-breast myofibrile proteins: effect of laccase and transglutaminase on gelation and thermal stability. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 9231-9237.

Lazaridou A., Biliaderis C. G. 2002. Thermophysical properties of chitosan, chitosan-starch and chitosan-pullan films near the glass transition. Carbohydrate Polymers, 48, 179-190.

Lee M., Lee S., Song K.B. 2005. Effect of γ-irradiation on the physcochemical properties of soy protein isolate films. Rad. Phys. Chem., 72, 35-40.

Leszczyński W. 2001. Materiały opakowaniowe z polimerów biodegradowalnych. Przemysł Spożywczy, 8, 81-84.

Leszczyński W. 2004. Skrobia-surowiec przemysłowy, budowa i właściwości. Zeszyty problemowe postępów nauk rolniczych, 500, 69-98.

Li B., Kennedy J. F., Jiang Q. G., Xie B. J. 2006. Quick dissolvable, edible and heatstable blend films based on konjac glukomannan–gelatin. Food Res. Int. 39, 544–549.

Liu C.C., Tellez-Geray A.M., Castell-Perez M.E. 2004. Physical and mechanical properties of peanut protein films. Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie, 37, 731-738.

Liu H., Chaudhary D., Yusa S., Tadé M. 2010. Glycerol/starch/Na+-montmorillonite nanocomposites: A XRD, FTIR, DSC and H NMR study. Carbohydrate Polymers, 83, 1591-1597.

Liu Q., Charlet G., Yelle S., Arul J. 2002. Phase transition in potato starch-water system. I: Starch gelatinization at high moisture level. Food Research International, 35, 397-407.

Liu Q., Tarn R., Lynch D., Skjodt N.M. 2007. Physicochemical properties of dry matter and starch from potatoes grown in Kanada. Food Chemistry, 105, 897–907.

Liu Y., Guo R. 2008. pH-dependent structures and properties of casein micelles. Biophysical Chemistry, 136, 67-73.

Lourdin D., Della Valle G., Colonna P. 1995. Influence of amylose content on starch films and foams. Carbohydrate Polymers, 27, 261-270.

Lourdin D., Coignard L., Bizot H., Colonna P. 1997. Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials. Polymer, 38, 5401-5406.

López O. V., Garcia M. A., Zaritzky N. E. 2007. Film forming capacity of chemically modified corn starches. Carbohydrates Polymers, 23, 573-581.

Malesa M. 2004. Nanonapełniacze kompozytów polimerowych. Część I. Krzemiany warstwowe. Elastomery, 3(8), 12-17.

Marinello L., di Pierro P., Esposito C., Sorrentino A., Masi P., Porta R. 2003. Preparation and mechanical properties of edible pectin-soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase. Journal of Biotechnology, 102, 191-198.

Martelli S.M., Moore G., Paes S., Gandolfo C., Laurindo J.B. 2006. Influence of plasticizers on the water sorption isotherms and water vapor permeability of chicken feather keratin films. Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie, 39, 292-301.

Martucci J.F., Vazquez A., Ruseckaite A. 2007. Nanocomposites based on gelatin and montmorillonite. Morphological and thermal studies. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 89, 1, 117-122.

Mattinen M., Kruus K., Buchert J., Nielsen J.H., Andersen H.J, Steffensen Ch. L. 2005. Laccase-catalysed polymerysation of tyrosine-containing peptides. FEBS Journal, 272, 3640-3650.

Mauer L.J., Smith D.E., Labuza T.P. 2000. Water vapor permeability, mechanical, and structural properties of edible β-casein films. International Dairy Journal, 10, 353-358.

Mali, S., Grossmann M. V., Garcia, M. A., Martino M. N., Zaritzky N. E. 2002. Microstructural characterization of yam starch films. Carbohydrate Polymers, 50, 379-386.

Mali S., Grossmann M. V. E., García M. A., Martino M. N., Zaritzky N. E. 2004. Barrier, machanical and optical properties of plasticized yam starch films. Carbohydrate Polymers, 56, 129–135.

Mali S., Karam L. B., Pereira Ramos L., Grossmann M. V. E. 2004. Relationships among the composition and physicochemical properties of starches with the characteristics of their films. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 7720-7725.

Mali S., Sakanaka L.S., Yamashita F., Grossman M.V.E. 2005. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. Carbohydrate Polymers, 60, 283-289

Micard V., Thibault J.F. 1999. Oxidative gelation of sugar-beet pectins: use of laccases and hydration properties of the cross-linked pectins. Carbohydrate Polymers, 39, 265-273.

Miller K.S., Chiang M.T., Krochta J.M. 1997. Heat curing of whey protein films. Journal of Food Science, 62, 1189-1193.

Motoki M., Aso H., Seguro K., Nio N. 1987. $\alpha_{s1}$-Casein film prepared using transglutaminase. Agricultural Biology and Chemistry, 51(4), 993-996.

Muzzarelli R. A. A. 1977. Chitin. Pergamon Press, Oxford, 150-154.

Mallakpour S., Dinari M. 2010. Preparation and characterization of new organoclays using natural amino acids and Cloisite $Na^+$. Applied Clay Science, 51, 353-359.

Martins J. T., Cerqueira M. A., Vincente A. 2012. Influence of α-tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. Food Hydrocolloids, 27, 220-227.

Mathew S., Brahmakumar M., Emilia Abraham T. 2006. Microstructural imaging and characterization of the mechanical, chemical, thermal, and swelling properties of starch–chitosan blend films. Biopolymers, 82, 176-187.

Nagai N., Yunoki S., Suzuki T., Sakata M., Tajima K., Munekata M. 2004. Application of cross-linked salmon atelocollagen to the scaffold of human periodontal ligament cells. Journal of Bioscience and Bioengineering, 97, 389–394.

Narendra Reddy, Yiqi Yang. 2009. Citric acid cross-linking of starch films. Food Chemistry, *w druku*

Nielsen P. M. 1995. Reactions and potential industrial applications of transglutaminase. Review of literature and patents. Food Biotechnology, 9, 119–156.

Nowak K., Mitka K. 2004. Pektyny– polisacharydy pochodzenia naturalnego. Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny,7-8, 69-70.

Olivas G. I., Barbosa–Cánovas G. V. 2008. Alginate–calcium films, water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie, 41, 359–366.

Orliac O., Rouilly A., Silvestre F., Rigal L. 2003. Effects of various plasticizers on the mechanical properties, water resistance and aging of thermo-moulded films made from sunflower proteins. Indrustial Crops and Products, 18, 91-100.

Ouattara B., Canh L.T., Vachon C., Mateescu M.A., Lacroix M. 2002. Use of γ-irradiation cross-linking to improve the water wapour permeability and the chemical stability of milk protein films. Radiation Physics and Chemistry, 63, 821-825.

Oya A. 2000. Polypropylene clay nanocomposites. In: Polymer Clay Nanocomposites, wydawcy: Pinnavaia T. J., Beall G. W., wydawnictwo: John Wiley and Sons Ltd., Chichester, 151.

Pagacz J., Pielichowski K. 2007. Modyfikacja krzemianów warstwowych do zastosowań w nanotechnologii. Czasopismo Techniczne Chemia, Wydawnictwo Politechniki Krakowskiej, z. 1-Ch, 133-147.

Park S., Park J., Kim H.O., Song M.J., Suh H. 2002. Characterization of porous collagen/hyaluronic acid scaffold by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide cross-linking. Biomaterials, 23, 1205-1212.

Park H. M. 2002. Preparation and properties of biodegradable thermoplastic starch/clay hybrids. Macromolecular Materials and Engineering, 287, 553-558.

Parra D.F., Tadini C.C., Ponce P., Lugão A.B. 2004. Mechanical properties and water vapour transmission in some blends of cassava starch edible films. Carbohydrate Polymers, 58, 474-481.

Paul D., Robeson L. 2008. Polimer nanotechnology: Nanocomposites. Polymer, 49, 3187-3204.

Payne K. J., Veis A. 1988. Fourier transform IR spectroscopy of collagen and gelatin solutions: deconvolution of the amide I band for conformational studies. Biopolymers, 27, 1749-1760.

Perez-Gago M.B., Nadaud P., Krochta J.M. 1999. Water vapor permeability, solubility and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films. Journal of Food Science, 64, 1034-1037.

Piecyk L. 2003. Nanokompozyty polimerowe w produkcji opakowań. Tworzywa Sztuczne i Chemia, 5, 12-16.

Piecyk L. 2004. Nanokompozyty polimerowe - trudnopalne tworzywa sztuczne. Tworzywa Sztuczne i Chemia, 6, 18-22.

Piecyk L. 2006 Nanokompozyty polimerowe – nanokompozyty termoplastyczne. Tworzywa Sztuczne i Chemia, 2, 20-25.

Piotrowska B. 2004. Enzymatyczne i chemiczne modyfikowanie chitozanu i żelatyny oraz właściwości folii żelatynowych i chitozanowo-żelatynowych. Rozprawa doktorska. Politechnika Gdańska, Gdańsk.

Piotrowska B., Sztuka K., Kołodziejska I., Dobrosielska E. 2008. The influence of transglutaminase or 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) on the properties of fish gelatin films. Food Hydrocolloids, 22, 1362-1371.

Pranoto Y., Lee C.M., Park H.J. 2007. Characterizations of fish gelatin films addend with gellan and κ-carrageenan. Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie, 40, 766-774.

Qi L., Xu Z., Jiang X., Hu C., Zou X. 2004. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. Carbohydrate Research, 339, 2693-2700.

Rao Y. 2007. Gelatin-clay nanocomposites of improved properties. Polymer, 48, 5369-5375.

Rabea E.I., Badawy M., Stevens C.V., Smagghe G., Steurbaut W. 2003. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. J. Am. Chem. Soc., 4, 1457-1465.

Rahman M.S., Al-Saidi G.S., Guizani N. 2008. Thermal characterisation of gelatin extracted from yellowfin tuna skin and commercial mammalian gelatin. Food Chemistry, 108, 472-481.

Ray S.S., Bousmina M. 2005. Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world. Progress in Materials Science, 50, 962-1079.

Ray S.S., Okamoto M. 2003. Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing. Progress in Polymer Science, 28, 1539–1641.

Reddy N., Yang Y. 2010. Citric acid cross-linking of starch films. Food Chemistry, 118, 702–711.

Repka M.A., McGinity J.W. 2000. Physical-mechanical, moisture absorption and bioadhesive properties of hydroxypropylcellulose hot-melt extruded films. Biomaterials, 21, 1509-1517.

Rhim J.W., Gennadios A., Fu D., Weller C.L., Hanna M.A. 1999. Properties of ultraviolet irradiated protein films. Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie, 32, 129-133.

Rhim J.W., Lee J.H., Kwak H.S., 2005. Mechanical and water barrier properties of soy protein and clay mineral composite films. Food Science Biotechnoogy, 14, 112–116.

Rhim J. W., Perry K.W., 2007. Natural Biopolymer-Based Nanocomposite Films for packaging applications. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47, 411 – 433.

Rindlav-Westling A., Stading M., Hermansson A-M., Gatenholm P., 1998. Structure, mechanical and barrier properties of amylose and amylopectin films. Carbohydrate Polymers, 36, 217-224.

Rivero S., García M.A., Pinotti A. 2010. Correlations between structural, barrier, thermal and mechanical properties of plasticized gelatin films. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 11, 369-375.

Roberts G. A. F. 1992. Chitin Chemistry. The Macmillan Press, London.

Rodríguez M., Osés J., Ziani K., Maté J.I. 2006. Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. Food Research International, 39, 840-846.

Romero-Bastida C.A., Bello-Perez L., Garcia M. A., Martno M. N., Solorza-Feria J., Noemi E. Zaritzky. 2005. Carbohydrate Polymers, 60, 235-244.

Rui Shi, Jingliang bi, Zizheng Zhang, Aichen Zhu, Dafu Chen, Xinhua Zhou, Liqun Zhang, Wei Tian. 2008. The effect of citric acid on the structural properties and cytotoxicity of the polyvinyl alcohol/starch films when molding at high temperature. Carbohydrate Polymers, 74, 763-770.

Sabato S., Nakamurakara N., Sobral P. 2007. Mechanical and thermal properties of irradiated films based on Tilapia (*Oreochromis niloticus*) proteins. Radiation Physics and Chemistry, 76, 1862–1865.

Sadowska Maria. 1992. Kolagen mięsa – budowa, oznaczanie i właściwości funkcjonalne. Rozprawa habilitacyjna. Politechnika Gdańska. Wydział Chemiczny. Katedra Technologii Utrwalania Żywności.

Salmoral E.M, Gonzalez M.E., Mariscal M.P. 2000. Biodegradable plastic made from bean products. Ind. Crop. Prod., 11, 217-225.

Salony, Garg N., Baranwal R., Chhabra M., Mishra S., Chaudhuri T.K., Bisaria V.S. 2008. Laccase of *Cyathus bulleri*: structural, catalytic characterization and expression in *Escherichia coli*. Biochimica and Biophysica Acta, 1784, 259-268.

Sangeeta Garg, Asim Kumar Jana. 2007. Studies on the properties and characteristics of starch-LDPE blend films using cross-linked, glycerol modified, cross-linked and glycerol modified starch. European Polymer Journal, 43, 3976-3987.

Sarabia A.J., Gómez-Guillén M.C., Montero P. 2000. The effect of added salts on the viscoelastic properties of fish skin gelatin. Food Chemistry, 70, 71-76.

Schrieber R., Gareis H. 2007. Gelatin Handbook. Weinhem: Wiley-VCH GmbH & Co.

Schou M., Longares A., Montesinos-Herrero C., Monahan F.J., O`Riordan D., O`Sullivan M. 2005. Properties of edible sodium caseinate films and their application as food wrapping. Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie, 38, 605-610.

Sevenous O., Hill S.E., Farhot I.A., Mitchell J.R. 2002. Organization of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. International Journal of Biological Macromolecules, 31, 79-85.

Sheu M.T., Huang J.C., Yeh G.C., Ho H.O. 2001. Characterization of collagen gel solutions and collagen matrices for cell culture. Biomaterials, 22, 1713-1719.

Sikorski Z. E. 2002. Białka – budowa i właściwości. W: Chemia żywości. Sikorski Z.E. (red.), WNT, W-wa. 269–270.

Sikorski Z.E. 2007. Charakterystyka białek głównych surowców żywnościowych. W: Chemia Żywności. Sikorski Z.E. (red.). WNT, W-wa. 202-252.

Silva G. G. D., Sobral P. J. A., Carvalho R. A., Bergo P. V. A., Mendieta-Taboada O., Habitante A. M. Q. B. 2008. Biodegradable films based on blends of gelatin and poly (vinyl alcohol): Effect of PVA type or concentration on some physical properties of films. Journal of Polymers and the Environment, 16, 276-285.

Sionkowska A. 2000. Modification of collagen films by ultraviolet irridiation. Polymer Degradation and Stability, 68, 147–151.

Sionkowska A. 2006. Effects of solar radiation on collagen and chitosan films. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 82, 9–15.

Sionkowska A., Wiśniewski M., Skopińska J., Kennedy C. J., Wess T. J. 2004. Molecular interactions in collagen and chitosan blends. Biomaterials, 25, 795–801.

Siripatrawan U., Harte B. R. 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. Food Hydrocolloids, 24, 770-775.

Sobral P. J. A., Menegalli F. C., Hubinger M. D., Roques M. A. 2001. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. Food Hydrocolloids, 15, 423–432.

Sorrentino A., Gorrasi G., Vittoria V. 2007. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. Trends in Food Science and Technology, 18, 84-95.

Sothornvit R., Krochta J.M. 2000. Oxygen permeability and mechanical properties of films from hydrolyzed whey protein. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 3913-3916.

Sothornvit R., Krochta J. M. 2001. Plasticizer effect on mechanical properties of β–lactoglobulin films. Journal of Food Engineering, 50, 149–155.

Srinivasa P.C., Ramesh M.N., Tharanathan R.N. 2007. Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. Food Hydrocoloyds, 21, 1113-1122.

Srinivasa P.C., Ravib R., Tharanathan R.N. 2007b. Effect of storage conditions on the tensile properties of ecofriendly chitosan films by response surface methodology. Journal of Food Science, 80, 184-189.

Sionkowska A. 2000. Modification of collagen films by ultraviolet irradiation. Polymer Degradation and Stability, 68, 147–151.

Staroszczyk H., Fiedorowicz M., Zhong W., Janas P., Tomasik P. 2007. Microwave-assisted solid-state sulphation of starch. e-Polymers, 140, 1-15.

Staroszczyk H., Pielichowska J., Sztuka K., Stangret J.,Kołodziejska I. 2012. Molecular and structural characteristic odf cod gelatin films modified with EDC and TGase. Food Chemistry, 130, 335-343.

Starszczyk H., Sztuka K., Wolska J., Wojtasz-Pajak A., Kołodziejska I. 2014. Interactions of fish gelatin and chitosan in uncrosslinked and crosslinked with EDC films: FT-IR study. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 117, 707-712.

Stuchel Y., Krochta J.M. 1994. Enzymatic treatments and thermal effects on edible soy protein films. Journal of Food Science, 59, 1332-1337.

Swinkels J.J.M. 1988. Composition and Properties of Comercial Native Starches. Starch/Stärke, 37, 1-5.

Szczepaniak W. 2004. Metody instrumentalne w analizie chemicznej. Warszawa. Wydawnictwo Naukowe PWN.

Sztuka K., Kolodziejska I. 2009. The influence of hydrophobic substances on water vapor permeability of fish gelatin films modified with transglutaminase or 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC). Food Hydrocolloids, 23, 1062-1064.

Sztuka K. 2009. Modyfikacje folii opakowaniowych z żelatyny rybnej i innych polimerów naturalnych. Rozprawa doktorska. Politechnika Gdańska. Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności.

Sztuka K., Kołodziejska I. 2008a. Jadalne folie oraz powłoki powierzchniowe z polimerów naturalnych stosowane do opakowań żywności. Część I. Właściwości. Polimery, 53, 627-706.

Talja R.A., Helén H., Roos Y.H., Jouppila K. 2007. Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. Carbohydrate Polymers, 67, 288-295.

Tang C., Jiang Y., Wen Q., Yang X. 2005. Effect of transglutaminase treatment of the properties of cast films of soy protein isolates. Journal of Biotechnology, 120, 296-307.

Tang C.-H., Jiang Y. 2007. Modulation of mechanical and surface hydrophobic properties of food protein films by transglutaminase treatment. Food Research International, 40, 504-509.

Tang X., Alavi S., Herald T.J. 2008a. Effects of plasticizers on the structure and properties of starch–clay nanocomposite films. Carbohydrate Polymers, 74, 552-558.

Tang X., Alavi S., Herald T.J. 2008b. Barrier and mechanical properties of starch-clay nanocomposite films. Cereal Chemistry, 85, 433-439.

Tederko A. 1995. Jadalne opakowania żywności. Przemysł Spożywczy, 9, 343-345.

Tendaj M., Tendaj B. 2001. Białka sojowe jako składniki powłok jadalnych. Przemysł Spożywczy, 7, 20-21,31.

Thalmann C.R., Lötzbeyer T. 2002. Enzymatic cross-linking of proteins with tyrosinase. European Food Research and Technology, 214, 276-281.

Tropini V., Lens J.P. Mulder W.J., Silvestre F. 2004. Wheat gluten films cross-linked with 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide and N-hydroxysuccinimide. Industrial Crops and Products, 20, 281–289.

Turhan K.N. i Sahbaz F. 2004. Water vapor permeability, tensile properties and solubility of methylcellulose-based edible films. Journal of Food Engineering, 61, 459-466.

Tylingo R. 2006. Modyfikacje kolagenu skór dorsza bałtyckiego (*Gadus morhua*) poprzez tworzenie kompleksów z κ-karagenem i sieciowanie a funkcjonalne właściwości błon. Rozprawa doktorska. Politechnika Gdańska. Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności.

Uchino T., Sakka T., Hotta K., Iwasaki M. 1989. Attenuated total relectance Fourier-transform infrared spectra of a hydrated sodium silicate glass. Journal of the American Ceramic Society, 74(11), 2173-2175.

Uchino T., Sakka T., Hotta K., Iwasaki M. 1991. Interpretation of a hydrate state of sodium silicate glass by infrared and Raman analysis. Journal of the American Ceramic Society, 74(2), 306-313.

Ulubayram K., Aksu E., Gurhan S.I.D., Serbetci K., Hasirci N. 2002. Cytotoxicity evaluation of gelatin sponges prepared with different cross-linking agents. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition,13, 1203-1219.

Ustunol Z. i Mert B. 2004. Water solubility, mechanical, barrier and thermal properties of cross-linked whey protein isolate-based films. Journal of Food Science, 69, 129-133.

Van Soest J.J.G., de Wit D., Tournois H. I Vliegenthort J.F.G. 1994. Retrogradation of potato starch as studied by Fourier transform infrared spectroscopy. Starch/Stärke, 46, 453-457.

Varatharajan V., Hoover R., Liu Q., Seetharaman K. 2010. The impact of heat-moisture treatment on the molecular structure and physicochemical properties of normal and waxy potato starches. Carbohydrate Polymers, 81, 466-475.

Vorwerg W., Dijksterhuis J., Borghuis J., Radosta S., Krüger A. 2004. Film properties of hydroxypropyl starch. Starch/Stärke, 56, 297-306.

Wang X. H., Li D. P.,Wang, W. J., Feng Q. L., Cui F. Z., Xu Y. X., Song X. H., van der Werf M. 2003. Crosslinked collagen/chitozan matrix for artifiicial livers. Biomaterials, 24, 3213–3220.

Wattanchant S., Muhammad K., Hashim D., Rahman R. A. 2003. Effect of cross-linking reagents and hydroxypropylation levels on dual-modified sago starch properties. Food Chemistry, 80, 463-471.

Wissink M.J.B., Beernink R., Pieper J.S., Poot A.A., Engbers G.H.M., Beugeling T., Aken W.G., Feijen J. 2000. Immobilization of heparin to EDC/NHS-crosslinked collagen. Characterization and *in vitro* evaluation. Biomaterials, 22, 151-163.

Wybór W., Zabórski M. 2000. Budowa i właściwości kolagenu oraz żelatyny. Polimery, 45, 10-21.

Xu S. W., Zheng J. P., Tong L., Yao K. D. 2006. Interaction of functional groups of gelatin and montmorillonite in nanocomposite, Journal of Applied Polymer Science, 101, 1556–1561.

Xu X. Y., Kim K. M., Hanna M. A., Nag D. 2005. Chitosan-starch composite film: Preparation and characterization. Industrial Crops and Products, 21, 185-192.

Yakimets I., Wellner N., Smith C. C., Wilson R. H., Farthat I., Mitchell J. 2005. Mechanical properties with respect to water content of gelatin films in glassy state. Polymer, 46, 12577-12585.

Yakimets I., Paes S. S., Wellner N., Smith A. C., Wilson R. H., Mitchell J. 2007. Effect of water on the structural reorganization and elastic properties of biopolymer films: A comparative study. Biomacromolecules, 8, 1710-1722.

Yamauchi K., Takeuchi N., Kurimoto A., Tanabe T., 2000. Films of collagen crosslinked by S-S bonds: preparation and characterization. Biomaterials, 22, 855-863.Yang L. i Paluson A.T. 2000. Efects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. Food Reserch International, 33, 571-578.

Yildirim M. i Hettiarachchy N.S. 1998. Properties of films produced by cross-linking whey proteins and 11S globulin using transglutaminase. Journal of Food Science, 63, 248-252.

Yin Y. J., Yao K. D., Cheng G. X., Ma J. B. 1999. Properties of polyelectrolyte complex films of the chitosan and gelatin. Polymer International, 48, 429-433.

Yixiang X., Xi R., Milford A. H. 2006. Chitosan/Clay Nanocomposite Film Preparation and Characterization. Journal of Applied Polymer Science, 99, 1684-1691.

Yu J., Wang N., Ma X. 2005. The effects of citric acid on the properties of thermoplastic starch plasticized by glycerol. Starch/Stärke, 57, 494-504.

Yunoki, S.; Nagai, N.; Suzuki, T.; Munekata, M. 2004. Novel biomaterial from reinforced salmon collagen gel prepared by fibril formation and cross-linking. Journal of Bioscience and Bioengineering, 98, 40–47.

Zhai M., Yoshii F., Kume T. 2003. Radiation modification of starch-based plastic sheets. Carbohydrate Polymers, 52, 311-317.

Zhang N., Liu X., Yu L. Shanks R. Petinaks E. 2013. Phase composition and interface od starch-gelatin blends studiem by synchrotron FTIR micro-spectroscopy. Carbohydrate Polymers, 95, 649-653.

Zhao R., Torley P., Halley P.J. 2008. Emerging biodegradable materials: starch- and protein-based bio-nanocomposites. Journal of Materials Science. 43, 3058-3071.

Zheng J., Li Ping, Ma Y., Yao K. 2002. Gelatine/montmorillonite hybrid nanocomposite. I. Preparation and properties. Journal of Applied Polymer Science, 86,1189–94.

Zhou P., Regenstein J.M. 2005. Effects of alkaline and acid pretreatment on alaska pollock skin gelatin. Journal of Food Science, 69, C393-C398.

Zhou P., Mulvaney S.J., Regenstein J.M. 2006. Properties of Alaska pollock skin gelatin: A comparison with tilapia and pork skin gelatins. Journal of Food Science, 71, 313-321.

Zobel H.F. 1988. Starch crystal transformations and their industrial importance. Starch/Stärke, 40, 1-7.

# DOROBEK NAUKOWY

## PUBLIKACJE

- Długołęcka A., Cieśliński H., Bruździak P., Gottfried K., Turkiewicz M., Kur J., Purification and Biochemical Characteristic of a Cold-Active Recombinant Esterase from *Pseudoalteromonas* sp. 643A under Denaturing Conditions, Polish Journal of Microbiology, Vol. 58, No 3, 211-218, 2009.

- Głowacz A., Gottfried K., Staroszczyk H., Kołodziejska I. *Kompleksowe zagospodarowanie wybranych odpadów przemysłu rybnego.* Materiały konferencyjne VII Konferencja: Dla Miasta i Środowiska: Problemy unieszkodliwiania odpadów. Dokument elektroniczny CD-ROM, 91-92, 2009.

- Gottfried K., Sztuka K., Staroszczyk H., Kołodziejska I., Biodegradowalne i jadalne opakowania do żywności z polimerów naturalnych, Opakowanie, 8, 26-36, 2010.

- Gottfried K., Staroszczyk H., Kołodziejska I., *Functional properties of packaging materials from chemical modified starch*, 13th International Symposium of Students and Young Mechanical Engineers: "Advances in Chemical and Mechanical Engineering", 139-142, 2010.

- Gottfried K., Staroszczyk H. *Functional properties of edible films for food applications – a review*, 14th International Symposium of Students and Young Mechanical Engineers: "Advances in Chemical and Mechanical Engineering", 207-209, 2011.

## PREZENTACJE NA KONFERENCJACH NAUKOWYCH:

- Gottfried K., Staroszczyk H., Kołodziejska I., Wpływ nanonapełniaczy na właściwości folii otrzymanych z żelatyny rybnej i skrobi ziemniaczanej, XXXIX SESJA KOMITETU NAUK O ŻYWNOŚCI PAN Postęp w wytwarzaniu i ocenie żywności, Poznań 26.06-01.07.2009, str. 75

- Gottfried K., Staroszczyk H., Kołodziejska I. 13th International Symposium of Students and Young Mechanical Engineers: "Advances in Chemical and Mechanical Engineering". *Functional properties of packaging materials from chemical modified starch*. Gdańsk, 20-22.05.2010.

- Malinowska-Pańczyk E., Gottfried K., Staroszczyk H., Kołodziejska I., Antimicrobial properties of films obtained from zinc modified starch, XVIII International Starch Convention, Kraków 21-25.06.2010, str. 43

- Gottfried K., Staroszczyk H., Kołodziejska I., Effect of Starch Modification on Properties of Resulting Films, XVIII International Starch Convention, Krakow 21-25.06.2010, str. 65

- Staroszczyk H., Opalińsk-Piskorz J., Fiedorowicz M., Tylingo R., Gottfried K., Badanie struktury I profile reologicznych skrobi chemicznie modyfikowanej, VIII Polska Konferencja Chemii Analitycznej, Kraków 04-09.07.2010, str. 514

- Gottfried K., Staroszczyk H., Kołodziejska I. Biotechnology Summer School. *Biodegradable packaging films for food applications*. Sobieszewo, 27-28.10.2010.

- Gottfried K., Staroszczyk H., Kusznierewicz B., Kołodziejska I., *Mechanical and antioxidant properties of gelatin films modified with fruit's waste extracts,* Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. - Vol. 61, Suppl. 1, 85, 2011.

- Staroszczyk H., Gottfried K., Kołodziejska I., Leszczyńska A., Holc K. *Starch-clay nanocomposite film,* Acta Biochimica Polonica, Vol. 58, Suppl. 4, 32, 2011.

- Gottfried K., Staroszczyk H. 14th International Symposium of Students and Young Mechanical Engineers: "Advances in Chemical and Mechanical Engineering". *Functional properties of edible films for food applications – a review*. Gdańsk, 5-7.05.2011.

- Gottfried K. VII Ogólnopolskie Studenckie Seminarium Naukowo-Technologiczne: Biomeditech: Badania i Innowacje. *Właściwości dwuskładnikowych folii opakowaniowych do żywności na bazie skrobi i żelatyny*. Sopot 9-13.05.2011.

- Gottfried K., Staroszczyk H., Kołodziejska I. 54 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego. *Wpływ nanonapełniaczy na właściwości użytkowe i strukturalne folii na bazie żelatyny rybnej.* Lublin, 18-22.09.2011.

- Gottfried K., Staroszczyk H., Kołodziejska I., Właściwości barierowe folii na bazie żelatyny modyfikowanych ekstraktami z wytłoków, 54 Zjazd PTChem i SITPChem, Lublin 18-22.09.2011.

- Staroszczyk H., Gottfried K., Milewska K., Sekulska K., Kołodziejska I. EFFoST Annual Meeting/A Lunch Box for Tomorrow. *The effect of aqueous extracts from polyphenol-rich fruits on the properties of fish-skin gelatin and potato starch films,* Montpellier, 20-23.11.2012.

- Gottfried K., Staroszczyk H., Kołodziejska I., *Wpływ polifenolii pochodzenia roślinnego na właściwości folii chitozanowej,* 55 Zjazd PTChem i SITPChem, Białystok, 16-20 września 2012.

- Kołodziejski D., Gottfried K., Kusznierewicz B., Staroszczyk H, Kołodziejska I., The antioxidant properties of gelatine films modified by addition of fruit juices, Turcja, 2013.

**UDZIAŁ W GRANTACH**

- Grant badawczy: „Otrzymywanie jedno- i dwuskładnikowych folii z naturalnych polimerów modyfikowanych chemicznie”, NN 321 255638 finansowanego z MNiSzW, 2010-2013, Wykonawca.

## STAŻE NAUKOWE

10.05-10.08.2012 r. Norwegian Institute for Air Research (NILU), Center for Ecology and Economics, Health Effect Group, Instituttveien 18 PO Box 100, 2027 Kjeller (Norwegia);

Projekt badawczy „*Study on health effects of natural matrix of selected plant species"* wykonywany był w zespole dr Marii Dusinskiej (Health Effect Group).

## PRACE DYPLOMOWE POD BE**ZPOŚREDNIĄ OPIEKĄ**

a) Prace magisterskie

Chłopik A., Węglarska M. 2009. Modyfikacja skrobi i właściwości wytworzonych folii opakowaniowych.

Miszkiel M, Suszczyńska J. 2009. Otrzymywanie nanokompozytowych folii opakowaniowych na bazie żelatyny rybnej.

Górska J. 2010.

Krupa E., Lipowska M. 2010. Otrzymywanie i charakterystyka właściwości użytkowych dwuskładnikowych folii opakowaniowych do żywności na bazie polimerów naturalnych.

Holc K., Leszczyńska A. 2011. Właściwości strukturalne folii na bazie polimerów naturalnych.

Lewandowska A. 2011. Właściwości użytkowe folii opakowaniowych na bazie żelatyny rybnej oraz skrobi ziemniaczanej modyfikowanych hydrofobowymi nanonapełniaczami.

Błażejewicz A. 2012. Własciwości użytkowe folii opakowaniowych na bazie żelatyny wieprzowej modyfikowanych sokami i ekstraktami z wytłoków owocowych.

Milewska K. Wpływ ekstraktów owocowych na własności uzytkowe folii otrzymanych z zelatyny ze skór łososia.

Sekulska K. 2012. Wpływ ekstraktów owocowych na właściwości użytkowe folii skrobiowych.

Prusik R. 2013. Wpływ warstwowych glinokrzemianów na właściwości nanokompozytowych folii chitozanowych.

Wenzel A. 2013. Wlaściwości przeciwbakteryjne folii skrobiowych, żelatynowych oraz chitozanowych modyfikowanych nanonapełniaczami o charakterze hydrofilowym i hydrofobowym.

b) **Prace inżynierskie**

Prokudo M. 2011. Wpływ hydrofobowych nanonapełniaczy na właściwości użytkowe folii żelatynowych.

Czerwiński P. 2012. Wpływ warstwowych glinokrzemianów na rozpuszczalność wytworzonych nanokompozytów folii biopolimerowych.

Damps K. 2012. Otrzymywanie i charakterystyka właściwości użytkowych folii skrobiowo-chitozanowych.

Kosik A. 2012. Wpływ polifenoli pochodzenia roślinnego na właściwości użytkowe folii na bazie polimerów naturalnych.

Wendzel A. 2012. Modyfikacja folii skrobiowych i żelatynowych za pomocą wodnego ekstraktu z jarzębiny.

Banach D. 2013. Wpływ modyfikacji chemicznej folii z naturalnych polimerów na rozpuszczalność wytworzonej folii.

Maleszyk K. 2013. Modyfikacja folii żelatynowych i skrobiowych za pomocą ekstraktu wodnego z jagody.

Politechnika Gdańska
Wydział Chemiczny
Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności

Rozprawa doktorska

# MODYFIKACJE NATURALNYCH POLIMERÓW I ICH WPŁYW NA WŁAŚCIWOŚCI BIODEGRADOWALNYCH OPAKOWAŃ DO ŻYWNOŚCI

mgr inż. Karolina Gottfried

Promotor: prof. dr hab. inż. Ilona Kołodziejska

Gdańsk 2013