

# Estryfikacja skrobi ziemniaczanej kwasem oleinowym w obecności lipazy z *Candida antarctica* w polu mikrofalowym oraz w warunkach ogrzewania konwencjonalnego<sup>\*)</sup>

Sylwia Ptak<sup>1), 2)</sup>, Arkadiusz Żarski<sup>1)</sup>, Tadeusz Antczak<sup>2)</sup>, Janusz Kapuśniak<sup>1), \*\*)</sup>

DOI: dx.doi.org/10.14314/polimery.2016.442

**Streszczenie:** Estryfikowano natywną skrobię ziemniaczaną długołańcuchowym nienasyconym kwasem oleinowym w obecności lipazy pochodzącej z *Candida antarctica*, immobilizowanej na nośniku polimerowym. Reakcję prowadzono w polu mikrofalowym oraz w warunkach ogrzewania konwencjonalnego. Przebieg estryfikacji potwierdzono za pomocą spektroskopii w podczerwieni FT-IR i magnetycznego rezonansu jądrowego <sup>1</sup>H NMR, proszkowej dyfrakcji rentgenowskiej (XRD) oraz skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM). Stwierdzono, że otrzymany produkt termoplastyczny wykazuje większą hydrofobowość niż natywna skrobia ziemniaczana.

**Słowa kluczowe:** skrobia termoplastyczna, hydrofobizacja, estryfikacja, kwas oleinowy, pole mikrofalowe, lipaza z *Candida antarctica*.

## Esterification of potato starch with oleic acid in the presence of lipase from *Candida antarctica* in a microwave field and under conventional heating

**Abstract:** An attempt has been made to prepare hydrophobic, thermoplastic material through esterification of potato starch with long-chain unsaturated fatty acid. The esterification was conducted in the presence of fungal lipase from *Candida antarctica* immobilized on a polymer carrier. Reaction was conducted in a microwave field and, for comparison, under conventional heating. The completion of the esterification reaction was confirmed by spectroscopic FT-IR and <sup>1</sup>H NMR methods, X-ray powder diffraction and scanning electron microscopy (SEM). It was found that the obtained product exhibited higher hydrophobicity than native potato starch.

**Keywords:** thermoplastic starch, hydrophobization, esterification, oleic acid, microwave field, lipase from *Candida antarctica*.

Skrobia to biodegradowalny, naturalny i tani biopolimer. Niestety hydrofilowy charakter, duża polarność, mała rozpuszczalność w rozpuszczalnikach organicznych oraz nienajlepsze właściwości przetwórcze skrobi natywnej znacznie ograniczają zakres jej zastosowań [1]. Polarność skrobi wynikająca z obecności w jej strukturze licznych grup hydroksylowych o charakterze hydrofilowym, międzycząsteczkowe i wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe utrudniają możliwość jej uplastycz-

nienia. Wybrane cechy skrobi można modyfikować, wprowadzając zmiany w jej składzie i strukturze. Ze względu na przemysłowe zastosowanie jest bardzo niekorzystne, że: wartości temperatury zarówno zeszklenia, jak i topnienia są większe niż wartość temperatury jej rozkładu; skrobia natywna jest całkowicie lub częściowo niemieszalna z niepolarnymi i hydrofobowymi polimerami syntetycznymi; wykazuje charakter hydrofilowy, związany z obecnością trzech wolnych grup hydroksylowych w każdej jednostce anhydroglukozowej [2]. Na drodze przemian fizycznych, chemicznych, fizykochemicznych i enzymatycznych, a także w wyniku ich połączenia można dokonywać zmian w budowie skrobi. Jedną z metod chemicznej modyfikacji skrobi jest jej estryfikacja [3]. W literaturze są dostępne informacje dotyczące estryfikacji skrobi pochodzenia botanicznego, m.in. skrobi kukurydzianej [4–8], tapiokowej [1, 9–12], ziemniaczanej [13, 14], za pomocą krótkołańcuchowych kwasów karboksylowych [7, 15, 16], bezwodników kwasowych [17, 18] oraz długołańcuchowych kwasów tłuszczowych [1, 4–6, 8, 11–14, 19–21]. W wyniku estryfikacji skrobi dłu-

<sup>1)</sup> Akademia im. Jana Długosza w Częstochowie, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Instytut Chemii, Ochrony Środowiska i Biotechnologii, Al. Armii Krajowej 13/15, 42-218 Częstochowa.

<sup>2)</sup> Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Instytut Biochemii Technicznej, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź.

<sup>\*)</sup> Materiał zawarty w artykule był prezentowany podczas Sekcji Polimerowej 58. Zjazdu Naukowego PTChem w Gdańsku, który odbył się w dniach 21–25 września 2015 r.

<sup>\*\*)</sup> Autor do korespondencji; e-mail: j.kapusniak@ajd.czyst.pl

gołańcuchowymi kwasami tłuszczowymi otrzymuje się hydrofobowy i biodegradowalny materiał termoplastyczny [22] – im dłuższy łańcuch kwasowy, tym lepsze są właściwości termoplastyczne produktu [23].

Estryfikację skrobi można prowadzić w obecności katalizatora kwasowego, zasadowego lub enzymatycznego. Reakcja katalizowana kwasami: siarkowym(VI) i octowym [24, 25] ma wiele ograniczeń związanych zarówno z odzyskiwaniem katalizatora, jak i korozją sprzętu i utylizacją odpadów, co generuje wysokie koszty prowadzenia procesu. Problem z odzyskiwaniem katalizatora dotyczy również reakcji katalizowanej alkalicznie. Przyjazny natomiast dla środowiska, ze względu na łagodne warunki oraz niegenerowanie odpadów chemicznych, jest proces katalizowany lipazami [1]. Enzymy te charakteryzują się ponadto wysoką regio- i stereoselektywnością. W zależności od środowiska reakcji lipazy: w roztworach wodnych katalizują proces hydrolizy wiązań estrowych w tłuszczach prostych (triacyloglicerolach), w środowisku bezwodnym uczestniczą w procesie syntezy estrów. Lipazy katalizują wiele reakcji, m.in. hydrolizę, syntezę i transestryfikację estrów kwasów karboksylowych. Enzymy te są bardzo stabilne termicznie i wykazują dużą aktywność, nawet wtedy, gdy reakcja jest prowadzona w rozpuszczalniku organicznym. Aktywność lipaz jest zależna od obecności apolarnego składnika. Synteza estrów sacharydów przebiega między apolarną fazą substratu i frakcją zawierającą lipazę [5, 7, 14, 26, 27]. Alternatywą dla konwencjonalnych metod ogrzewania mieszaniny reakcyjnej jest zastosowanie promieniowania mikrofalowego, zgodne z kierunkiem „zielonej chemii” [26], ponadto reakcje enzymatyczne prowadzone w polu mikrofalowym zachodzą z dużą wydajnością [6, 28, 29]. Wykorzystanie pola mikrofalowego umożliwia wyeliminowanie rozpuszczalników organicznych (DMSO, DMF, pirydyna) oraz znaczne skrócenie czasu reakcji, co z kolei prowadzi do obniżenia kosztów procesu. W literaturze można znaleźć przykłady estryfikacji skrobi długiłańcuchowymi kwasami tłuszczowymi, w obecności lipazy jako katalizatora, prowadzonej z zastosowaniem ogrzewania w polu mikrofalowym [5–7, 11, 12]. W 2006 r. Rajan i wspólr. [5] estryfikowali skrobię za pomocą zhydrolizowanego oleju kokosowego trzema metodami i uzyskali następujące stopnie podstawienia (*DS*): w polu mikrofalowym – 1,55 i 1,1, odpowiednio, skrobi kukurydzianej i tapiokowej, przy użyciu ogrzewania konwencjonalnego – 0,08 skrobi tapiokowej oraz w stanie półstałym – 0,43 skrobi tapiokowej. Czas reakcji wynosił od 36 h do 6 dni, w zależności od zastosowanej temperatury (40 °C lub 60 °C) w wypadku ogrzewania konwencjonalnego, oraz 1 min w warunkach oddziaływania promieniowania mikrofalowego (80 W). Katalizatorem była lipaza z *Thermomyces lanuginosus*. Skrobię termoplastyczną o *DS* = 1,45 (ogrzewanie konwencjonalne) oraz *DS* = 0,98 (pole mikrofalowe) otrzymano w reakcji estryfikacji skrobi tapiokowej z kwasem palmitynowym, odpowiednio, w ciągu 5 h (70 °C) oraz 3 min (80 W) [11]. W 2008 r. Rajan i wspólr.

[12] przeprowadzili estryfikację skrobi tapiokowej za pomocą zhydrolizowanego oleju kokosowego w obecności lipazy z *Candida rugosa* w warunkach ogrzewania konwencjonalnego (4 h, 70 °C) oraz w polu mikrofalowym (2 min 15 s, 80 W), w której wyniku otrzymali produkty o *DS*, odpowiednio, 1,05 oraz 1,1. Estryfikację skrobi kukurydzianej kwasem oleinowym w polu mikrofalowym po raz pierwszy przeprowadzili Horchani i wspólr. [6]. Skrobię kukurydzianą estryfikowali kwasem laurynowym w DMF, w polu mikrofalowym (80 i 160 mW, 1 i 2 h) oraz w warunkach ogrzewania konwencjonalnego (25 i 80 °C, 2 i 5 h). Produkt o największym *DS* (0,513) uzyskano w polu mikrofalowym, jednocześnie w takich warunkach nastąpiła najmniejsza degradacja polisacharydu i zachowała się ziarnista struktura skrobi [7].

Celem naszej pracy było otrzymanie ze skrobi ziemniaczanej materiału termoplastycznego, hydrofobowego i biodegradowalnego. Reakcję estryfikacji prowadzono w warunkach ogrzewania mikrofalowego oraz, porównawczo, z zastosowaniem ogrzewania konwencjonalnego. Nowością była synteza bezrozpuszczalnikowa prowadzona w polu mikrofalowym w obecności katalizatora – lipazy pochodzenia grzybowego z *Candida antarctica* immobilizowanej na nośniku polimerowym. Skrobię estryfikowano nienasyconym kwasem tłuszczowym (kwasem oleinowym), co stworzyło możliwość potencjalnych modyfikacji produktu na drodze addycji do wiązania podwójnego.

## CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

### Materiały

Skrobia ziemniaczana (Sigma-Aldrich, Poznań), suszona w temp. 105 °C przez 12 h do zawartości wody < 1 % mas.

Czysty kwas oleinowy (Chempur, Piekary Śląskie).

Immobilizowana na nośniku polimerowym lipaza, pochodząca z drożdży *Candida antarctica* (Immozyme CALB-T1-350) o aktywności 10 000 PLU\*/g (Chiral Vision, Leiden, Holandia), dimetylosulfotlenek (DMSO) (Chempur, Piekary Śląskie) oraz bezwodny etanol (POCH, Gliwice).

### Estryfikacja enzymatyczna

Mieszaniny reakcyjne przygotowywano z wykorzystaniem homogenizatora T25 digital ULTRA-TURRAX® (IKA, Staufen, Niemcy) (tabela 1). Reakcję estryfikacji prowadzono w polu mikrofalowym bez użycia rozpuszczalnika oraz w warunkach ogrzewania konwencjonalnego z zastosowaniem DMSO.

\* PLU – liczba  $\mu\text{mol}$  laurynianu *n*-propylu otrzymanego w reakcji kwasu laurynowego z *n*-propanolem w temp. 60 °C w ciągu 15 min [30].

**Tabela 1. Warunki prowadzenia reakcji otrzymywania oleinianów skrobiowych**

**T a b e 1. Reaction conditions for preparation of starch oleates**

Pole mikrofalowe	
Warunki	Wartość
Stosunek mólów, skrobia:kwas	2:1; 1:1; 1:2; 1:3
Ilość enzymu, g/g skrobi	0,75; 1,50; 3,00
Moc promieniowania mikrofalowego, W	105; 210; 315
Czas reakcji (przerwa), min (s)	1(10); 2(10); 3(10); 4(10); 1(5); 2(5)
Ogrzewanie konwencjonalne	
Warunki	Wartość
Stosunek mólów, skrobia:kwas	1:1; 1:3
Ilość enzymu, g/g skrobi	0,5; 1,0
Temperatura, °C	50; 60
Czas reakcji, h	2; 3

### Ogrzewanie mikrofalowe

Reakcję prowadzono na szalce Petriego w kuchenke mikrofalowej Sharp R-940 IN Inverter-Technologie (2450 MHz), z wykorzystaniem promieniowania o mocy: 105, 210 lub 315 W. Całkowity czas reakcji wynosił: 1, 2, 3 lub 4 min. W celu uniknięcia przegrzania zastosowano

ogrzewanie interwałowe w cyklach po 5 lub 10 s z przerwami 1 min (tabela 1). Po zakończeniu reakcji estry ekstrahowano za pomocą alkoholu etylowego i suszono w temp. 50 °C przez 24 h. Enzym oddzielano mechanicznie na sitach laboratoryjnych o średnicy oczek 100 oraz 250 µm.

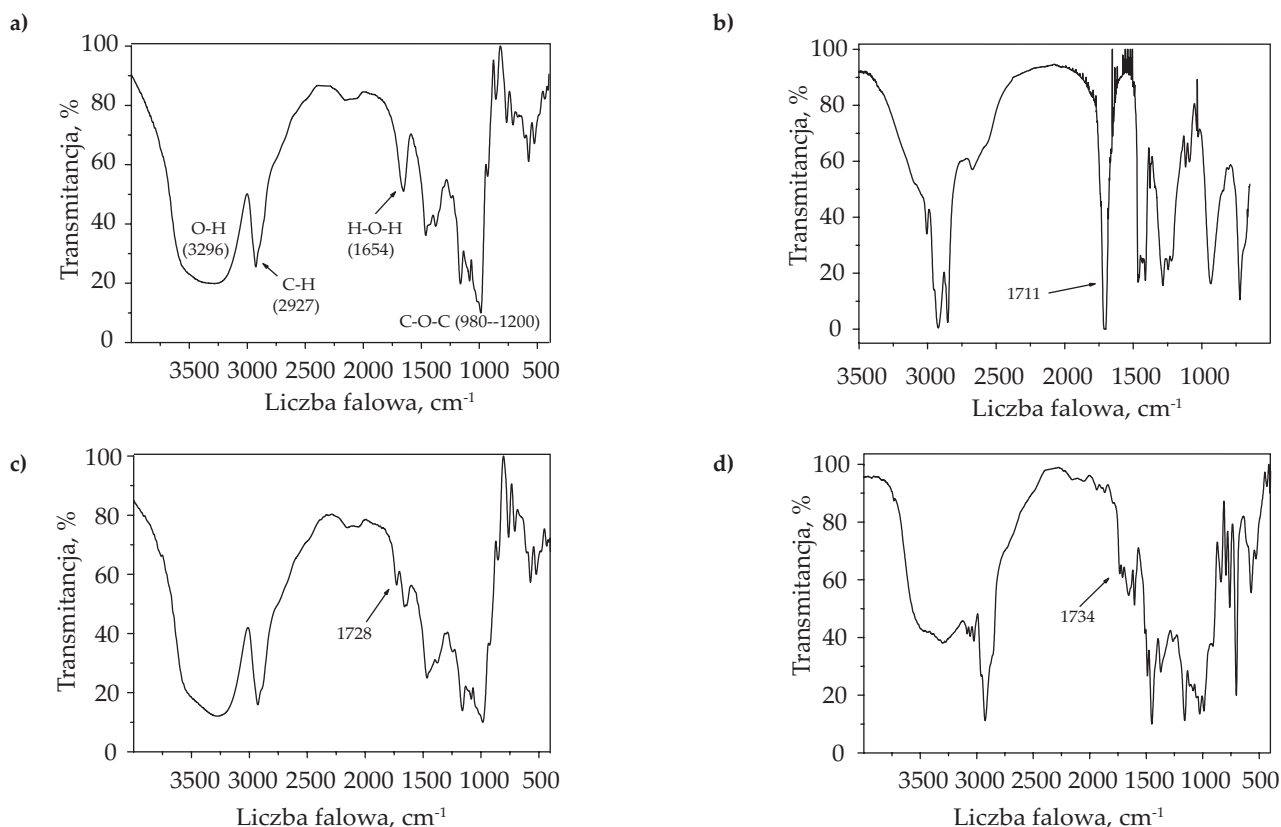
### Ogrzewanie konwencjonalne

Reakcję prowadzono w kolbie okrągłodennej w łaźni wodnej o temp. 50 lub 60 °C przez 2 lub 3 h (tabela 1). W charakterze rozpuszczalnika użyto DMSO. Po zakończeniu reakcji estry ekstrahowano za pomocą alkoholu etylowego i suszono w temp. 50 °C przez 24 h. Enzym oddzielano mechanicznie na sitach laboratoryjnych o średnicy oczek 100 oraz 250 µm.

### Metody badań

– Otrzymane preparaty analizowano metodą spektroskopii w podczerwieni za pomocą spektrometru Nicolet Nexus (Madison, WI, USA), przy użyciu sprasowanych pastylek bromku potasu. Widma rejestrowano w zakresie 4000–400 cm<sup>-1</sup>.

– Widma <sup>1</sup>H NMR próbek, wybranych na podstawie analizy charakterystycznych pasm FT-IR, rejestrowano za pomocą spektrometru Bruker Avance III (Billerica,



**Rys. 1. Widma FT-IR: a) skrobi natywnej, b) kwasu oleinowego, c) oleinianu skrobiowego otrzymanego w polu mikrofalowym (mSZ), d) oleinianu skrobiowego otrzymanego w warunkach ogrzewania konwencjonalnego (SZ60)**

**Fig. 1. FT-IR spectra of: a) native starch, b) oleic acid, c) starch oleate obtained in a microwave field (mSZ), d) starch oleate obtained under conventional heating (SZ60)**

**T a b e l a 2.** Zawartości procentowe pierwiastków składowych skrobi natywnej i oleinianu skrobiowego otrzymanego w polu mikrofalowym (mSZ) oraz w warunkach ogrzewania konwencjonalnego (SZ60)

**T a b l e 2.** The percentage of the constituent elements of native starch and starch oleate obtained in a microwave field (mSZ) and under conventional heating (SZ60)

Próbka	Wartości teoretyczne, %			Analiza elementarna, %			Wzór sumaryczny	DS
	C	H	O	C	H	O		
Skrobia natywna	44,44	6,17	49,39	41,91	7,26	50,83	$C_6H_{10}O_5$ (AGU)	–
mSZ	45,62	6,36	48,06	42,94	7,6	49,46	$C_{6,4}H_{10,6}O_5$	0,02
SZ60	58,26	8,37	33,37	54,94	6,52	38,54	$C_{12,2}H_{21}O_{5,3}$	0,36

MA, USA) z częstotliwością 500 MHz. Próbkę rozpuszczano w DMSO-d<sub>6</sub>. Pomiar wykonano w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych (Polska Akademia Nauk, Łódź, Polska).

– Analizę elementarną (oznaczanie procentowej zawartości węgla i wodoru) przeprowadzono przy użyciu mikroanalyzera Vario Micro Cube (Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau/Frankfurt, Niemcy). Pomiar wykonano w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych (Polska Akademia Nauk, Łódź, Polska).

– Rentgenogramy zarejestrowano za pomocą proszkowego dyfraktometru rentgenowskiego URD-6 (VEB Carl Zeiss, Jena) z lampą miedzianą (K $\alpha$ ), filtrem niklowym (40 kV, 30 mA). Pomiar przeprowadzono w zakresie kątowym (2 $\theta$ ) 4–45° z krokiem 0,05°.

– Zmiany w morfologii otrzymanych oleinianów skrobiowych obserwowano za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego Tescan VEGA 3SBU (Tescan, Brno, Czechy). Napięcie przyspieszające wynosiło 3 kV. Próbek nie pokrywano materiałem przewodzącym.

## WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

W zarejestrowanym widmie FT-IR (natywnej skrobi ziemniaczanej, rys. 1a) zaobserwowano charakterystyczne szerokie pasmo w zakresie 980–1200 cm<sup>-1</sup>, składające się z trzech pików przy 987, 1084 oraz 1162 cm<sup>-1</sup>, które można przypisać drganiom rozciągającym wiązań glikozydowych (C-O-C). Inne charakterystyczne dla skrobi pasmo przy 3296 cm<sup>-1</sup> odpowiada drganiom rozciągającym grupy O-H. Pasmo pochodzące od drgań rozciągających wiązania C-H występuje przy 2927 cm<sup>-1</sup>, natomiast drganiom zginającym wiązań H-O-H zaabsorbowanych cząsteczek wody można przypisać pasmo przy 1654 cm<sup>-1</sup>.

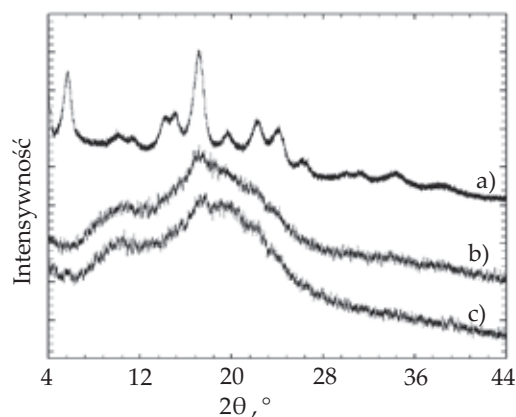
Zarejestrowano widma FT-IR wszystkich próbek przygotowanych zarówno w warunkach ogrzewania konwencjonalnego, jak i w polu mikrofalowym. Jedynie w wypadku dwóch próbek (oznaczonych symbolami mSZ i SZ60) stwierdzono obecność w widmie pasm świadczących o zachodzącej reakcji estryfikacji (rys. 1c, d). Pojawiło się pasmo w zakresie 1720–1740 cm<sup>-1</sup> niewystępujące w widmie natywnej skrobi ziemniaczanej, co można uznać za potwierdzenie przebiegu procesu estryfikacji. Pasmo to można przypisać drganiom rozciągającym grupy karbonylowej C=O wiązania estrowego. W widmie próbki mSZ

(pole mikrofalowe) pasmo to pojawiło się przy 1728 cm<sup>-1</sup>, a w widmie próbki SZ60 (ogrzewanie konwencjonalne) – przy 1734 cm<sup>-1</sup>. Ponadto w widmie próbki SZ60 (rys. 1d) można zauważyć znaczne zmniejszenie intensywności pasma charakterystycznego dla drgań rozciągających grupy O-H, przy ok. 3300 cm<sup>-1</sup>. W widmie próbki mSZ (rys. 1c) intensywność tego pasma jest porównywalna z intensywnością odpowiedniego pasma w widmie skrobi natywnej. Zależność tę potwierdza znacznie większa wartość DS próbki SZ60 niż próbki mSZ. Wymienione dwie próbki (mSZ, SZ60) otrzymano w reakcjach estryfikacji prowadzonych w następujących warunkach:

– mSZ: stosunek molowy (skrobia:kwasy) 1:1, moc promieniowania mikrofalowego 105 W, sumaryczny czas ogrzewania 2 min (10-sekundowe cykle z 1-minutowymi przerwami), ilość enzymu 3 g/g skrobi;

– SZ60: stosunek molowy (skrobia:kwasy) 1:3, temperatura 60 °C, czas 2 h, ilość enzymu 0,5 g/g skrobi.

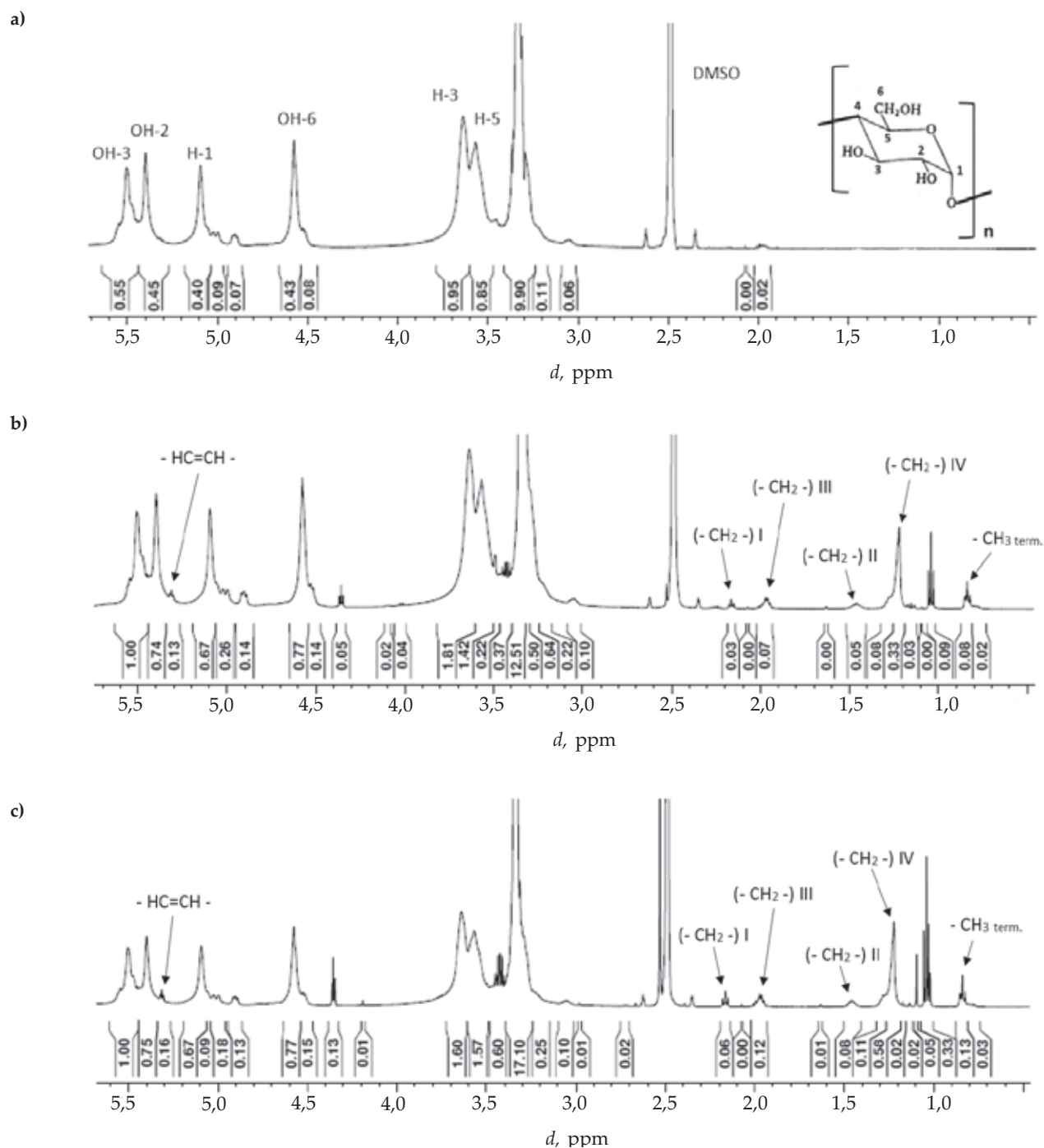
W widmach <sup>1</sup>H NMR skrobi natywnej oraz próbek mSZ, SZ60 przedstawionych na rys. 2 w zakresie 3,3–5,6 ppm są widoczne sygnały pochodzące od protonów pierścienia glukozowego. Poszczególne sygnały można przypisać odpowiednim protonom jednostki anhydroglukozowej: 3,32 ppm – H-2, 3,7 ppm – H-3, 3,54 ppm – H-5,



**Rys. 3.** Dyfraktogramy: a) skrobi natywnej, b) oleinianu skrobiowego otrzymanego w polu mikrofalowym (mSZ), c) oleinianu skrobiowego otrzymanego w warunkach ogrzewania konwencjonalnego (SZ60)

**Fig. 3.** XRD patterns of: a) native starch; b) starch oleate obtained in a microwave field (mSZ), c) starch oleate obtained under conventional heating (SZ60)





Rys. 2. Widma  $^1\text{H}$  NMR: a) skrobi natywnej, b) oleinianu skrobiowego otrzymanego w polu mikrofalowym (mSZ), c) oleinianu skrobiowego otrzymanego w warunkach ogrzewania konwencjonalnego (SZ60)

Fig. 2.  $^1\text{H}$  NMR spectra of: a) native starch, b) starch oleate obtained in a microwave field (mSZ), c) starch oleate obtained under conventional heating (SZ60)

5,1 ppm – H-1. W zakresie 4,6–5,6 ppm pojawiają się sygnały pochodzące od protonów grup hydroksylowych (OH-2,3,6) [31]. Dodatkowe sygnały charakterystyczne dla estru kwasu tłuszczowego w widmach obu próbek – mSZ i SZ60 – potwierdziły przebieg reakcji estryfikacji. Tryplet w zakresie 0,8–0,9 ppm odpowiada trzem protonom terminalnej grupy metylowej łańcucha acylowego. Sygnał przy 2,2 ppm pochodzi od protonów grupy metylenowej położonej w sąsiedztwie grupy karbonylowej (rys. 2b, c; I), natomiast pik przy 1,5 ppm – od kolejnej grupy metyleno-

wej (rys. 2b, c; II). Niewielki sygnał przy 5,3 ppm można przypisać protonom związanym z atomami węgla, tworzącymi wiązanie podwójne. Grupy metylenowe położone w sąsiedztwie wiązania podwójnego (rys. 2b, c; III) dają sygnały w pobliżu 2,0 ppm, a pozostałe grupy metylenowe łańcucha kwasowego (rys. 2b, c; IV) – w pobliżu 1,25 ppm [32].

Stopień podstawienia (*DS*) skrobi definiuje się jako liczbę grup hydroksylowych podstawionych grupami acylowymi w jednostce glukozy. Maksymalna wartość

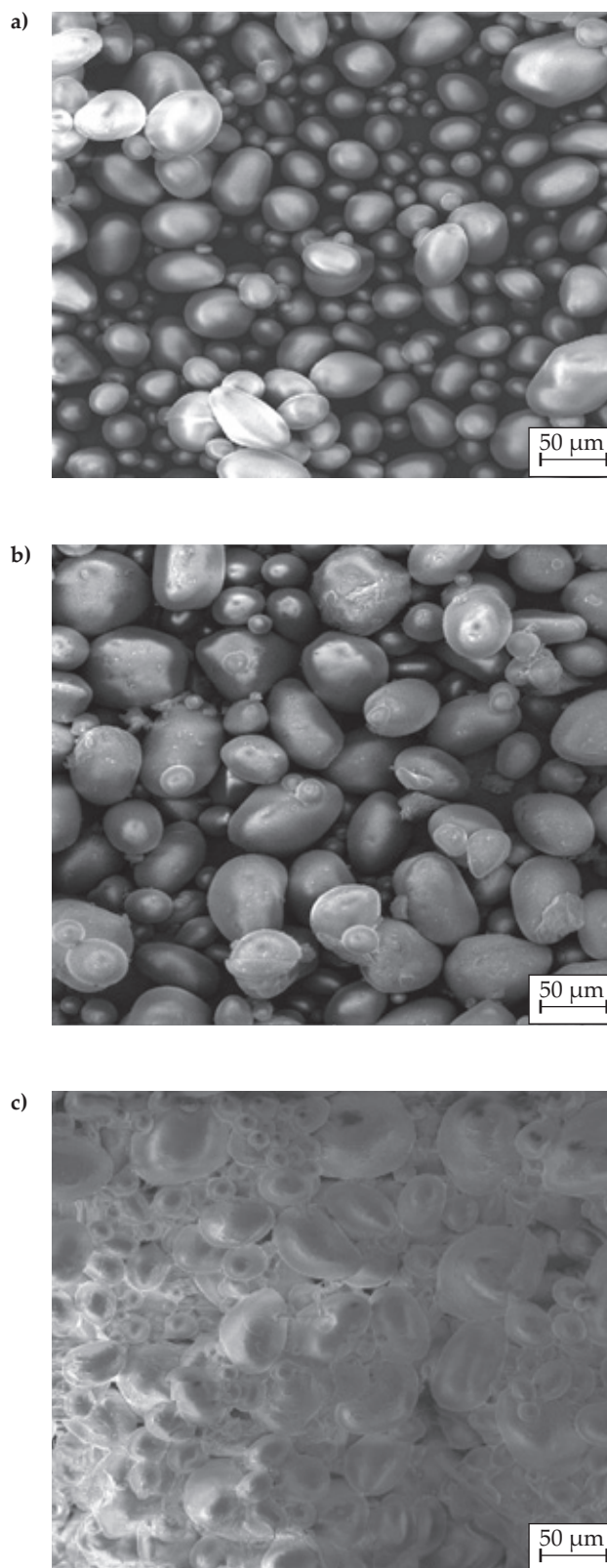
teoretyczna  $DS$  wynosi 3, ponieważ w jednostce glukozy są obecne trzy reaktywne grupy hydroksylowe. W tabeli 2 przedstawiono procentowy udział (wartości teoretyczne oraz doświadczalne) pierwiastków składowych natywnej skrobi ziemniaczanej oraz jej estrów oleinowych. Na podstawie tych danych obliczono wartość  $DS$  oraz określono wzory cząsteczkowe otrzymanych produktów reakcji estryfikacji.  $DS$  próbki mSZ był równy 0,02, próbki SZ60 – 0,36, natomiast  $DS$  dostępnych w handlu, najczęściej używanych rodzajów skrobi jest mniejsze niż 0,2 [32].

Zmiany krystaliczności skrobi oceniano metodą dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego (XRD) (rys. 3). Na dyfraktogramie natywnej skrobi ziemniaczanej można wyróżnić silne refleksy przy ok.  $17^\circ$  ( $2\theta$ ) i kilka małych refleksów przy ok.  $10^\circ$ ,  $20^\circ$ ,  $22^\circ$  ( $2\theta$ ), co świadczy o krystaliczności typu B badanej skrobi [33]. Struktura krystaliczna tworzy się dzięki zewnątrz- i wewnątrzcząsteczkowym wiązaniom wodorowym. Obserwowane na dyfraktogramach obu próbek zmniejszenie intensywności refleksów świadczy o rozerwaniu tych wiązań i częściowym zniszczeniu struktury semikrystalicznej [22]. Szczególnie w wypadku preparatu wytworzonego w warunkach ogrzewania konwencjonalnego można stwierdzić obecność regionów amorficznych. Podstawienie grup hydroksylowych resztami kwasu tłuszczowego, a tym samym rozerwanie wiązań wodorowych i zniszczenie uporządkowanej struktury semikrystalicznej umożliwia otrzymanie skrobi termoplastycznej o korzystnych właściwościach przetwórczych [34].

Przeanalizowano zmiany morfologii estrów skrobiowych kwasu oleinowego w odniesieniu do morfologii natywnej skrobi ziemniaczanej (rys. 4). Ziarna natywnej skrobi ziemniaczanej mają kształt owalny lub kulisty o wyraźnych krawędziach i gładką powierzchnię [9]. Rozmiar większości ziaren skrobi mieści się w przedziale 20–60  $\mu\text{m}$ . Zdjęcia SEM wykazały częściowo zmienioną morfologię ziaren estrów skrobi. Powierzchnia ziaren była chropowata, a mniejsze ziarna łączyły się w aglomeraty, widoczne zwłaszcza w wypadku próbki SZ60. Wyraźniejsze zmiany morfologii ziaren skrobi w próbce SZ60 sugerują, że im większy  $DS$  estru skrobiowego, tym bardziej zniszczona struktura ziaren. Częściowe zniszczenie struktury krystalicznej skrobi dowodzi przebiegu estryfikacji potwierdzonej wynikami analizy XRD [22]. Zniszczenia ziaren spowodowały zwiększenie ich powierzchni, a więc lepszą dostępność do grup hydroksylowych, a tym samym wzrost reaktywności. Wnioski te są zgodne z wynikami wcześniejszych prac [9, 22].

## PODSUMOWANIE

Opracowano metodykę wytwarzania termoplastycznej skrobi ziemniaczanej o właściwościach hydrofobowych, potencjalnie zwiększających jej mieszalność z syntetycznymi polimerami i elastomerami. Reakcję estryfikacji skrobi ziemniaczanej kwasem oleinowym w obecności immobilizowanej lipazy z *Candida antarctica* prowadzono



Rys. 4. Zdjęcia SEM: a) skrobi natywnej, b) oleinianu skrobiowego otrzymanego w polu mikrofalowym (mSZ), c) oleinianu skrobiowego otrzymanego w warunkach ogrzewania konwencjonalnego (SZ60)

Fig. 4. SEM images of: a) native starch, b) starch oleate obtained in a microwave field (mSZ), c) starch oleate obtained under conventional heating (SZ60)

w warunkach oddziaływania pola mikrofalowego oraz z zastosowaniem konwencjonalnego ogrzewania w łaźni wodnej. Przebieg reakcji potwierdzono metodami spektroskopii FT-IR oraz  $^1\text{H}$  NMR, proszkowej dyfrakcji rentgenowskiej i skaningowej mikroskopii elektronowej. Wykorzystanie przyjaznego dla środowiska promieniowania mikrofalowego nie jest efektywne. Próbkę estru otrzymanego w tych warunkach charakteryzowała się niewielką wartością  $DS$  (0,02). Ogrzewanie konwencjonalne mieszaniny reakcyjnej wymaga użycia rozpuszczalnika organicznego, ale uzyskany produkt estryfikacji skrobi kwasem oleinowym wykazuje większy stopień podstawienia, co wpływa na wzrost hydrofobowości produktu.

## LITERATURA

- [1] Prasertpornsakun N., Raita M., Laosiripojana N., Champreda V.: *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* **2015**, 79 (11), 1750.  
<http://dx.doi.org/10.1080/09168451.2015.1056507>
- [2] Winkler H., Vorwerg W., Rihm R.: *Carbohydrate Polymers* **2014**, 102, 941.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.10.040>
- [3] Siemion P., Kapuśniak J.: *Przemysł Chemiczny* **2011**, 90 (11), 2023.
- [4] Wang Y., Xin J., Shi J. i in.: *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* **2014**, 101, 73.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.molcatb.2014.01.003>
- [5] Rajan A., Prasad V.S., Abraham T.E.: *International Journal of Biological Macromolecules* **2006**, 39, 265.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2006.04.006>
- [6] Horchani H., Chaabouni M., Gargouri Y., Sayari A.: *Carbohydrate Polymers* **2010**, 79, 466.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.09.003>
- [7] Lukasiewicz M., Kowalski S.: *Starch-Stärke* **2012**, 64, 188. <http://dx.doi.org/10.1002/star.201100095>
- [8] Gao Y., Wang L., Yue X. i in.: *Starch-Stärke* **2014**, 66, 450. <http://dx.doi.org/10.1002/star.201300180>
- [9] Lin R., Li H., Long H. i in.: *Food Hydrocolloids* **2015**, 43, 352. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.06.008>
- [10] Alissandratos A., Baudendistel N., Flitsch S.L. i in.: *BMC Biotechnology* **2010**, 10, 82.  
<http://dx.doi.org/10.1186/1472-6750-10-82>
- [11] Rajan A., Abraham T.E.: *Bioprocess and Biosystems Engineering* **2006**, 29, 65.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00449-006-0060-5>
- [12] Rajan A., Sudha J.D., Abraham T.E.: *Industrial Crops and Products* **2008**, 27, 50.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2007.07.003>
- [13] Boruckowska H., Boruckowski T., Leszczyński W. i in.: *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* **2008**, 530, 459.
- [14] Boruckowska H., Boruckowski T., Leszczyński W. i in.: *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* **2010**, 557, 371.
- [15] Mullen J.W.II, Pacsu E.: *Industrial and Engineering Chemistry* **1942**, 34, 1209.  
<http://dx.doi.org/10.1021/ie50394a016>
- [16] Mullen J.W.II, Pacsu E.: *Industrial and Engineering Chemistry* **1943**, 35, 381.  
<http://dx.doi.org/10.1021/ie50399a026>
- [17] Xu J., Zhou C.W., Wang R.Z. i in.: *Carbohydrate Polymers* **2012**, 87, 2137.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.10.035>
- [18] Parandoosh S., Hudson S.M.: *Journal of Applied Polymer Science* **1993**, 48, 787.  
<http://dx.doi.org/10.1002/app.1993.070480504>
- [19] Boruckowski T., Boruckowska H., Bienkiewicz M. i in.: *Biuletyn IHAR* **2012**, 266, 191.
- [20] Boruckowska H., Boruckowski T., Leszczyński W. i in.: *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* **2012**, 4 (83), 98.  
bwmeta1.element.baztech-a922bf10-8d41-411c-bebc-bf61a94fd14a
- [21] Boruckowska H., Boruckowski T., Tomaszewska-Ciosk E. i in.: *Przemysł Chemiczny* **2013**, 92 (6), 1078.
- [22] Zhang Y., Gan T., Hu H. i in.: *Industrial and Engineering Chemistry Research* **2014**, 53, 2114.  
<http://dx.doi.org/10.1021/ie403186h>
- [23] Sagar A.D., Merrill E.W.: *Journal of Applied Polymer Science* **1995**, 58, 1647.  
<http://dx.doi.org/10.1002/app.1995.070580927>
- [24] Shogren R.L.: *Carbohydrate Polymers* **2003**, 52, 319.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00305-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00305-3)
- [25] Guan J., Eskridge K.M., Hanna M.A.: *Industrial Crops and Products* **2005**, 22, 109.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2004.06.004>
- [26] Osuna V., Rivero I.A.: *Journal of Mexican Chemical Society* **2012**, 56 (2), 176.
- [27] Antczak T., Szczesna-Antczak M.: *Biotechnologia* **2003**, 3, 124.
- [28] Rufino A.R., Biaggio F.C., Santos J.C., de Castro H.F.: *International Journal of Biological Macromolecules* **2010**, 47 (1), 5.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.04.009>
- [29] Rejasse B., Lamare S., Legoy M.D., Besson T.: *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **2007**, 22 (5), 519.  
<http://dx.doi.org/10.1080/14756360701424959>
- [30] Su E., You P., Wei D.: *Bioresource Technology* **2009**, 100, 5813.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.06.077>
- [31] Lu X., Luo Z., Fu X., Xiao Z.: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2013**, 61, 9882.  
<http://dx.doi.org/10.1021/jf401467u>
- [32] Kapusniak J., Siemion P.: *Journal of Food Engineering* **2007**, 78, 323.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.09.028>
- [33] Xu Y., Miladinov Y., Hanna M.A.: *Cereal Chemistry* **2004**, 81, 735.
- [34] Gao J., Luo Z.G., Luo F.X.: *Carbohydrate Polymers* **2012**, 89, 1215.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.03.096>