

**MODYFIKACJA CHITOZANU
– KRÓTKI PRZEGLĄD**

**MODIFICATION OF CHITOSAN
– A CONCISE OVERVIEW**

**Jadwiga Ostrowska-Czubenko*, Milena Pieróg,
Magdalena Gierszewska**

*Katedra Chemii Fizycznej i Fizykochemii Polimerów, Wydział Chemii,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń
e-mail: jocz@chem.umk.pl

Abstract

Wprowadzenie

1. Ogólna charakterystyka procesu modyfikacji
2. Modyfikacja polisacharydów
3. Modyfikacja chitozanu
 - 3.1. Modyfikacja chitozanu przez podstawienie grup aminowych i hydroksylowych
 - 3.1.1. Reakcje kwartenizacji i n-alkilowania
 - 3.1.2. Reakcje acylowania
 - 3.1.3. Reakcje karboksymetylowania
 - 3.1.4. Tworzenie pochodnych chitozanu zawierających fosfor i siarkę
 - 3.2. Modyfikacja chitozanu w wyniku reakcji szczepienia
 - 3.3. Modyfikacja chitozanu przez sieciowanie
 - 3.4. Modyfikacja chitozanu przez depolimeryzację
 - 3.5. Tworzenie nanokompozytów opartych na chitozanie

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane

Dr hab. Jadwiga Ostrowska-Czubenko jest profesorem nadzwyczajnym Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Po ukończeniu studiów rozpoczęła pracę w Zakładzie Chemii Fizycznej tej jednostki. Obecnie pracuje w Katedrze Chemii Fizycznej i Fizykochemii Polimerów Wydziału Chemii UMK, w Zespole Fizykochemii i Chemometrii Zjawisk Membranowych. Stopnie naukowe doktora nauk chemicznych i doktora habilitowanego w zakresie chemii – fizykochemii polimerów uzyskała na Wydziale Chemii UMK. Głównym przedmiotem jej zainteresowań naukowych jest chemia i fizykochemia syntetycznych i naturalnych polimerów jonowych i chemia biomimetyczna. Prowadzi badania eksperymentalne przy zastosowaniu różnych technik badawczych, głównie spektralnych oraz obliczenia numeryczne. Obiektem badań są syntetyczne polimery jonowe (w tym polimery biopodobne, modelujące strukturę i właściwości naturalnych polimerów bakteryjnych) oraz naturalne polimery jonowe w stanie skondensowanym i w roztworze. Obecnie swoje zainteresowania naukowe koncentruje na badaniu hydrożeli (membran hydrożelowych) na bazie naturalnych polimerów jonowych, przeznaczonych do zastosowań biomedycznych (procesy kontrolowanego uwalniania leków) i przemysłowych (oczyszczanie wód i rozdział substancji ciekłych).

Dr Milena Pieróg jest absolwentką studiów magisterskich (2006) oraz studiów doktoranckich (2011) na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Przedmiotem badań prowadzonych przez nią w ramach rozprawy doktorskiej, której obrona odbyła się w 2013 r., były membrany hydrożelowe otrzymane z modyfikowanego chitozanu. Od roku 2013 dr Milena Pieróg pracuje poza uczelnią.

Dr Magdalena Gierszewska jest absolwentką Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu (2005). Pracę licencjacką i magisterską napisała w Zakładzie Chemii Fizycznej Wydziału Chemii. Tematyka obu prac dotyczyła zastosowania procesów membranowych do rozdziału mieszanin ciekłych. W roku 2009 ukończyła studia doktoranckie na Wydziale Chemii UMK i w roku 2010 obroniła pracę doktorską. Badania przeprowadzone w ramach rozprawy doktorskiej dotyczyły hydrożeli jonowych. Od roku 2009 dr Magdalena Gierszewska pracuje na stanowisku asystenta w Katedrze Chemii Fizycznej i Fizykochemii Polimerów Wydziału Chemii UMK. Jej główne zainteresowania naukowe dotyczą hydrożeli jonowych, membran hydrożelowych na bazie modyfikowanych polimerów naturalnych oraz procesów membranowych (perwaporacji).

ABSTRACT

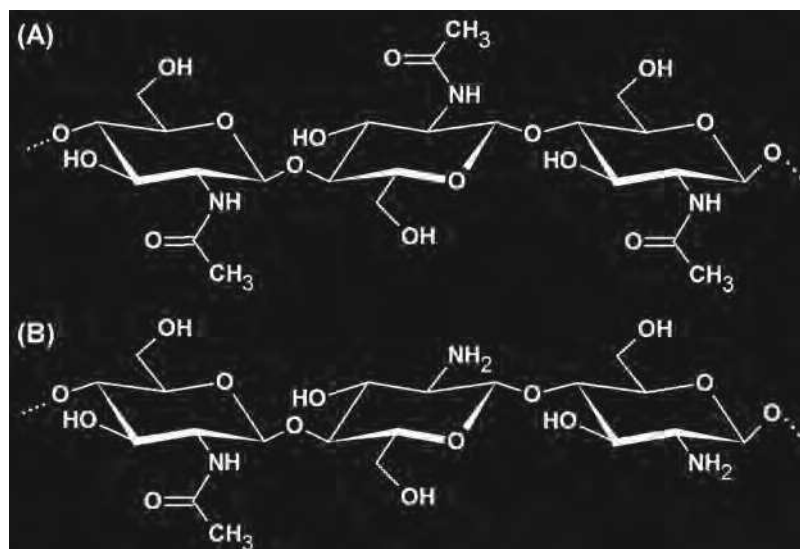
Chitosan is the most important derivative of chitin, a polysaccharide found in the exoskeleton of shellfish like shrimp and crab. It is a product of deacetylation of chitin under alkaline conditions or enzymatic hydrolysis in the presence of chitin deacetylase. Both chitin and chitosan are linear polysaccharides and are chemically defined as copolymers consisting of varying amounts of β -(1 \rightarrow 4)-linked 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranose (GlcNAc) and 2-amino-2-deoxy- β -D-glucopyranose (GlcN). The difference between chitin and chitosan lies in the content of GlcNAc and GlcN units. Chitin samples contain a high content of GlcNAc units. Due to excellent properties of chitosan, such as biocompatibility, biodegradability, hydrophilicity, non-toxicity, cationicity, ease of modification, film forming ability, affinity to metals, protein and dyes, etc., this polymer has found applications in medicine and pharmacy, as food additive, antimicrobial agent, in paper and textile industry, in environmental remediation and other industrial areas. The presence of functional groups, reactive amino and hydroxyl groups, in chitosan backbone makes it suitable candidate for chemical modification. Chemical modification of chitosan to generate new polymers with useful physicochemical properties and distinctive biological functions is of key interest because it would not change the fundamental skeleton of the polymer. In this article the main three methods of chitosan modification: substitution reactions, reactions leading to the chain elongation and/or molecular weight increasing and methods of depolymerization are shortly characterized. Moreover, the selected methods of chitosan modification, i.e. quaternization, alkylation, acylation, carboxyalkylation, phosphorylation, sulfation, graft copolymerisation, crosslinking and depolymerization are discussed in more detail. A special attention is drawn to chitosan crosslinking with low and high molecular compounds. Chitosan modification by covalent and ionic crosslinking allows to obtain polymer materials with improved mechanical and chemical resistance and suitable for example for chitosan hydrogel membranes formation.

Keywords: chitosan, chitosan modification, chitosan derivatives, crosslinking

Słowa kluczowe: chitozan, modyfikacja chitozanu, pochodne chitozanu, sieciowanie

WPROWADZENIE

Chitozan jest jedną z najważniejszych pochodnych chityny. Otrzymywany jest on w procesie chemicznej lub enzymatycznej deacetylacji tego polimeru [1–3]. Chityna jest drugim po celulozie najbardziej rozpowszechnionym w przyrodzie polimerem naturalnym, wytwarzanym na drodze biosyntezy. Roczna naturalna odtwarzalność chityny na drodze biosyntezy szacuje się na 2–3 miliardy ton [4]. Występuje ona w pancerzach skorupiaków morskich, insektów i w ścianach komórkowych niektórych grzybów [1–3]. Zarówno chityna, jak i chitozan, są liniowymi polisacharydami – kopolimerami zawierającymi różne ilości statystycznie rozłożonych jednostek strukturalnych 2-acetamido-2-deoksy- β -D-glukopiranozy, (*N*-acetyloglucozozaminy) oraz 2-amino-2-deoksy- β -D-glukopiranozy (*D*-glukozaaminy) powiązanych wiązaniami β -(1 \rightarrow 4) – glikozydowymi. Różnica między chityną i chitozaniem polega na stopniu deacetylacji (DD), definiowanym jako stosunek liczby jednostek *D*-glukozaaminy do ogólnej liczby jednostek *D*-glukozaaminy i *N*-acetyloglucozozaminy. Chityna cechuje się dużą zawartością jednostek *N*-acetyloglucozozaminy. Na Rysunku 1 przedstawiono „idealną” strukturę chityny i rzeczywistą strukturę chitozanu.



Rysunek 1. Struktura chemiczna chityny (A) i chitozanu (B)
Figure 1. Chemical structure of chitin (A) and chitosan (B)

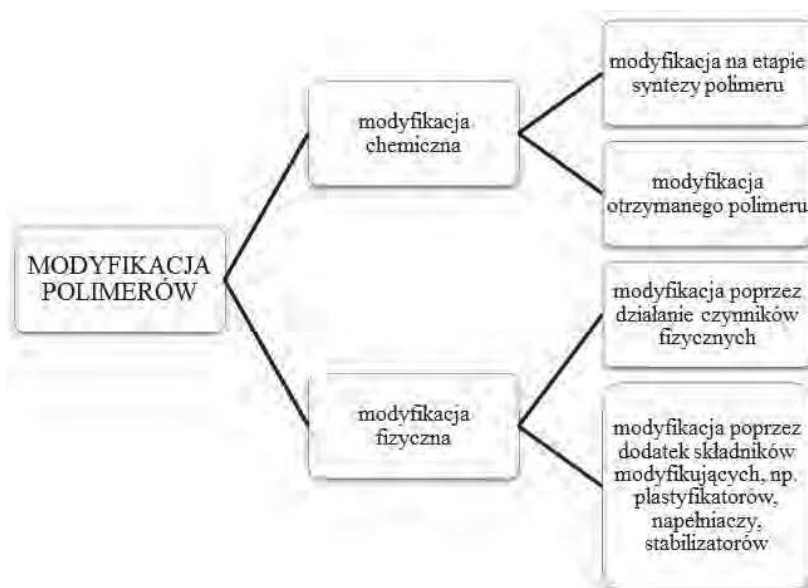
Chitozan posiada szereg cennych właściwości fizykochemicznych, takich jak: biokompatybilność, biodegradowalność, nietoksyczność, zdolność tworzenia polikationów w środowisku kwaśnym, łatwość ulegania modyfikacji, duże powinowactwo do metali, barwników i białek, hydrofilowość, zdolność tworzenia filmów, itd. [1–3, 5]. Cechy te sprawiają, że znajduje on zastosowanie w medycynie i farmacji,

w różnego typu gałęziach przemysłu, w ochronie środowiska, procesach oczyszczania wód, różnego typu procesach separacyjnych, itp. [3, 5–8]. Roczna światowa produkcja chitozanu w 2010 roku wynosiła ok. 13,7 tysięcy ton i ciągle wzrasta. Zgodnie z przewidywaniami do 2015 roku miała osiągnąć wartość 21,4 tysięcy ton [4]. Chitozan posiada jednak szereg właściwości fizykochemicznych, które ograniczają jego zastosowanie w pewnych obszarach. Polimer ten silnie pęcznieje w wodzie (szczególnie w środowisku kwaśnym) i w stanie spęcznionym cechuje się niską trwałością mechaniczną, rozpuszcza się w roztworach kwasów, nie rozpuszcza się w wielu rozpuszczalnikach. Aby zmienić szereg właściwości fizykochemicznych chitozanu, m.in. poprawić jego rozpuszczalność w wodzie, obniżyć zdolność do rozpuszczania w środowisku kwaśnym, zwiększyć zdolność wiązania różnych substancji oraz poprawić odporność chemiczną i mechaniczną, a przez to rozszerzyć możliwości zastosowania tego polimeru, poddaje się go różnorodnym procesom modyfikacji chemicznej i fizycznej.

1. OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA PROCESU MODYFIKACJI

Wiele materiałów polimerowych o dużym zastosowaniu w różnych gałęziach przemysłu, medycynie i farmacji otrzymuje się na drodze modyfikacji [9–13]. Proces modyfikacji polimerów umożliwia poprawę szeregu ich właściwości fizykochemicznych i przetwórczych. Modyfikacja polimerów jest ponadto w wielu przypadkach procesem bardziej ekonomicznym niż syntetyzowanie nowych monomerów i polimerów. Modyfikację polimerów dzieli się ogólnie na dwa rodzaje: modyfikację chemiczną i modyfikację fizyczną, jak przedstawiono schematycznie na Rysunku 2.

Modyfikacja fizyczna polimeru polega na ukierunkowanej zmianie jego właściwości fizykochemicznych poprzez działanie czynnikami fizycznymi, takimi jak np. energia cieplna (obróbka termiczna), ultradźwięki, pole elektryczne i magnetyczne lub przez wprowadzanie do polimerów składników dodatkowych (modyfikujących), prowadzących do zmiany kompozycji polimerowej [11, 12]. Modyfikacja fizyczna w porównaniu do modyfikacji chemicznej jest metodą prostszą technicznie i tańszą. Mechanizm procesu jest jednak w wielu przypadkach bardzo złożony. Nazywana jest ona również modyfikacją strukturalną, ponieważ w efekcie działania na polimer czynników fizycznych zachodzą głównie przemiany w strukturze nadmolekularnej polimeru.



Rysunek 2. Rodzaje modyfikacji polimerów
Figure 2. Types of polymer modification

Modyfikacja chemiczna polimeru polega na zmianie jego właściwości przez kontrolowaną zmianę składu chemicznego makrocząsteczek. Zachodzi ona najczęściej podczas wprowadzania nowych grup funkcyjnych do cząsteczek polimeru, przemiany grup funkcyjnych w polimerze, cyklizacji wewnątrzcząsteczkowej, reakcji utleniania, redukcji, szczepienia, sieciowania łańcuchów polimerowych oraz degradacji. Modyfikacja pod wpływem czynników chemicznych może zachodzić bezpośrednio podczas syntezy polimeru lub może być dokonywana na gotowym polimerze [11–13].

Modyfikacja chemiczna w stadium syntezy polimeru polega na zastosowaniu podczas syntezy odpowiednich komonomerów lub na dodaniu do układu składników reaktywnych (jedno-, dwu- lub trójfunkcyjnych modyfikatorów, zawierających grupy reaktywne), które wbudowując się w łańcuch makrocząsteczki powodują zmianę struktury chemicznej i w rezultacie zmianę właściwości polimeru. W przypadku modyfikacji chemicznej gotowego polimeru wykorzystuje się wszystkie reakcje chemiczne typowe dla związków małych cząsteczkowych, takie jak: reakcje podstawiania, chlorowcowania, przyłączania do wiązań nienasyconych, wymiany grup funkcyjnych, tworzenia pierścieni, blokowania grup polarnych oraz sieciowania. Przebieg reakcji z udziałem związków małych cząsteczkowych i wielkocząsteczkowych różni się w wielu przypadkach wydajnością i szybkością reakcji. W wyniku zachodzących reakcji otrzymuje się różnego typu polimery i kopolimery, których synteza jest niemożliwa na drodze bezpośredniej polireakcji, np. poli(alkohol winylowy), szereg polimerów zawierających fluor, chlor, itp.

Spółród metod modyfikacji polimerów najczęściej wykorzystywane są te metody, w których modyfikacja jest wynikiem reakcji kopolimeryzacji, szczepienia i sieciowania oraz mieszania z innymi polimerami, bądź substancjami pomocniczymi. Modyfikację polimerów prowadzi się bądź w masie polimeru, bądź na jego powierzchni.

Ostatnio wśród polimerów modyfikowanych coraz większe zainteresowanie wzbudzają materiały kompozytowe i nanokompozytowe. Kompozyty polimerowe to materiały składające się co najmniej z dwóch faz (ciągłej i rozproszonej), o wyraźnych powierzchniach rozdziału. W przypadku nanokompozytów składnik rozproszony (nanonapełniacz) charakteryzuje się co najmniej jednym wymiarem w skali nanometrycznej (10^{-9} m) [14, 15]. Do tworzenia nanokompozytów polimerowych wykorzystuje się cząstki nieorganiczne, organiczne i hybrydy nieorganiczno-organiczne, które mogą występować w postaci proszków (napełniacze 3D), włókien lub prętów (napełniacze typu 2D) oraz płytek (napełniacze 1D). Jako napełniacze typu 3D wykorzystuje się nanocząstki metali. Najbardziej znane napełniacze typu 2D to nanorurki i nanowłókna węglowe, a napełniacze 1D – montmorylonit i inne naturalne glinokrzemiany. Spośród różnych nanokompozytów przeważającą rolę w badaniach podstawowych i zastosowaniach praktycznych odgrywają glinokrzemiany.

Nanokompozyty polimerowe otrzymuje się różnymi metodami [15, 16]: (i) w procesach fizycznego mieszania proszkowych nanonapełniaczy z polimerem w stanie stopionym lub z jego roztworem/dyspersją; (ii) w procesach polimeryzacji *in situ*, które prowadzi się w obecności cząstek napełniacza w roztworze/dyspersji lub w bloku, (iii) w procesach obejmujących syntezę nanocząstek z prekursora wstępnie zdyspergowanego lub rozpuszczonego w matrycy polimerowej. Rodzaj zastosowanej metody syntezy zależy zarówno od właściwości polimeru, jak i nanonapełniacza.

Polimery poddane określonym procesom modyfikacji, głównie modyfikacji fizycznej, stają się w pewnych warunkach tworzywami sztucznymi. Termin tworzywo sztuczne, wykorzystywany powszechnie w przetwórstwie i w różnych zastosowaniach polimerów, oznacza materiał, którego głównym składnikiem jest polimer, a składnikami dodatkowymi, modyfikującymi są takie substancje, jak napełniacze, zmiękczacze, stabilizatory, środki barwiące, itp.

2. MODYFIKACJA POLISACHARYDÓW

Polisacharydy, analogicznie jak inne polimery, poddawane są procesom modyfikacji fizycznej i chemicznej [17–21]. Do polisacharydów modyfikowanych najczęściej i w największej ilości należą celuloza i skrobia. Do czynników fizycznych, powodujących modyfikację polisacharydów, należą takie czynniki, jak: promieniowanie jonizujące, promieniowanie UV, ultradźwięki (sonifikacja), energia cieplna.

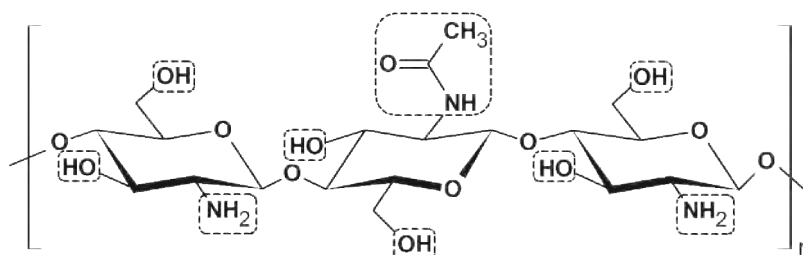
Najczęściej stosowaną metodą modyfikacji polisacharydów jest modyfikacja chemiczna. Polisacharydy zawierają w swojej strukturze grupy hydroksylowe i stąd ulegają reakcjom charakterystycznym dla alkoholi, m.in. estryfikacji, eteryfikacji, redukcji, reakcji z metalami. Reakcji estryfikacji ulegają zarówno pierwszorzędowe, jak i drugorzędowe grupy hydroksylowe. Polisacharydy ulegają także innym reakcjom prowadzącym do otrzymania polimerów modyfikowanych, takim jak: reakcje kopolimeryzacji szczepionej, sieciowania, hydrolizy, utleniania, itp. Depolimeryzacja z wytworzeniem D-glukozy i produktów pośrednich, zawierających więcej niż jedną cząsteczkę glukozy, jest najprostszą metodą modyfikacji chemicznej polisacharydów.

Często stosowaną metodą modyfikacji chemicznej polisacharydów jest ich utlenianie, które polega na utlenianiu pierwszo- i drugorzędowych grup hydroksylowych jednostek glukozowych, z wytworzeniem grup karboksylowych lub karbonylowych. Utlenianiu polisacharydów towarzyszy częściowa depolimeryzacja łańcuchów polimerowych lub/ oraz rozluźnienie wiązań międzycząsteczkowych. Polisacharydy ulegają również sieciowaniu.

3. MODYFIKACJA CHITOZANU

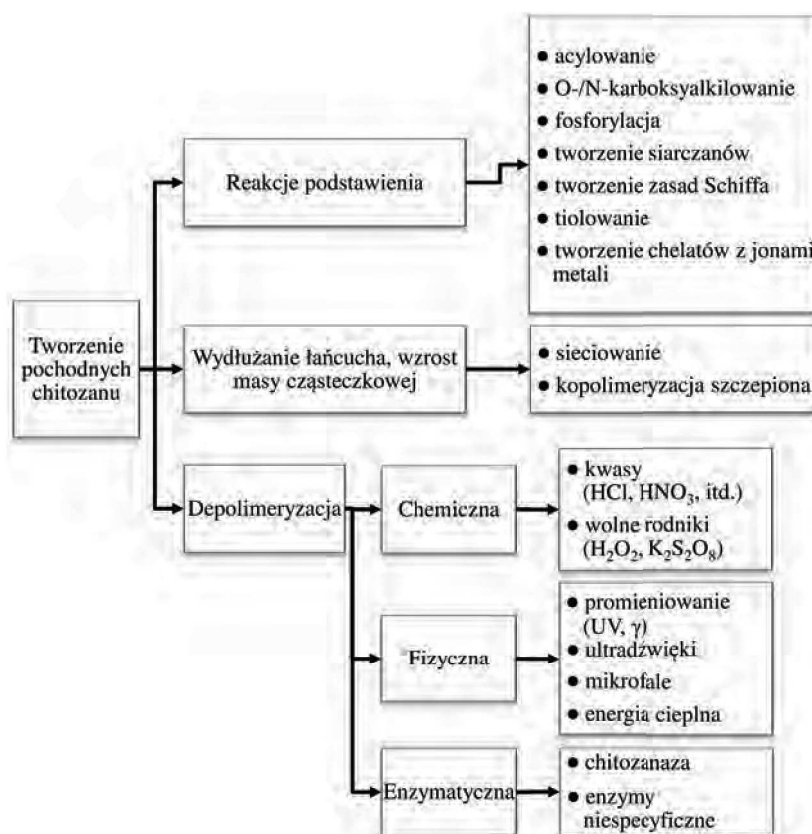
Chitozan, analogicznie jak inne polisacharydy, może ulegać zarówno modyfikacji chemicznej, jak również modyfikacji fizycznej. Stosowane metody modyfikacji mają na celu zwiększenie odporności mechanicznej i chemicznej tego polimeru, zmianę jego hydrofilowości i rozpuszczalności, poprawę aktywności biologicznej, biokompatybilności, itd. i stąd zwiększenie obszaru zastosowań tego polimeru. Dotychczas pojawiło się wiele prac przeglądowych poświęconych ogólnie zagadnieniu modyfikacji chitozanu [21–34] oraz modyfikacji chitozanu przeznaczonego do różnorodnych zastosowań przemysłowych, biomedycznych i farmaceutycznych [35–47].

Zdolność chitozanu do modyfikacji, głównie modyfikacji chemicznej, wynika przede wszystkim z obecności dwóch rodzajów reaktywnych grup funkcyjnych: grupy aminowej i dwóch grup hydroksylowych - przy trzecim i szóstym atomie węgla w pierścieniu sacharydowym (Rys. 3).



Rysunek 3. Możliwe miejsca reakcji w łańcuchu chitozanu
Figure 3. Possible reaction sites in chitosan chain

Metody modyfikacji chitozanu obejmują trzy grupy metod [26, 27]: (i) metody polegające na wprowadzeniu grup bocznych do łańcucha chitozanu w wyniku reakcji podstawienia (substytucji), (ii) metody prowadzące do wydłużenia łańcucha i/lub wzrostu średniej masy cząsteczkowej oraz (iii) metody depolimeryzacji (Rys. 4). Spośród wymienionych grup metod najczęściej stosowane są metody grup (i) oraz (ii).



Rysunek 4. Reakcje prowadzące do otrzymania pochodnych chitozanu [26, 27]

Figure 4. Derivatization of chitosan [26, 27]

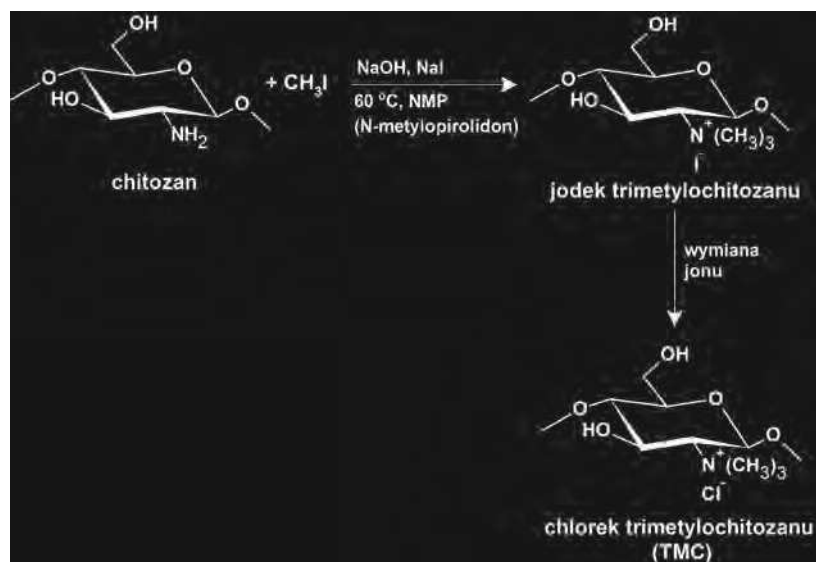
Poniżej scharakteryzowano wybrane, stosowane często metody modyfikacji chitozanu i otrzymanywne pochodne.

3.1. MODYFIKACJA CHITOZANU PRZEZ PODSTAWIENIE GRUP AMINOWYCH LUB HYDROKSYLOWYCH

3.1.1. Reakcje kwarternizacji i n-alkilowania

Wprowadzenie grup bocznych do łańcucha chitozanu realizuje się poprzez różnego typu reakcje, takie jak reakcje alkilowania, acylowania, arylowania, tiolowania, sulfonowania, fosforylacji, itp. [21–34].

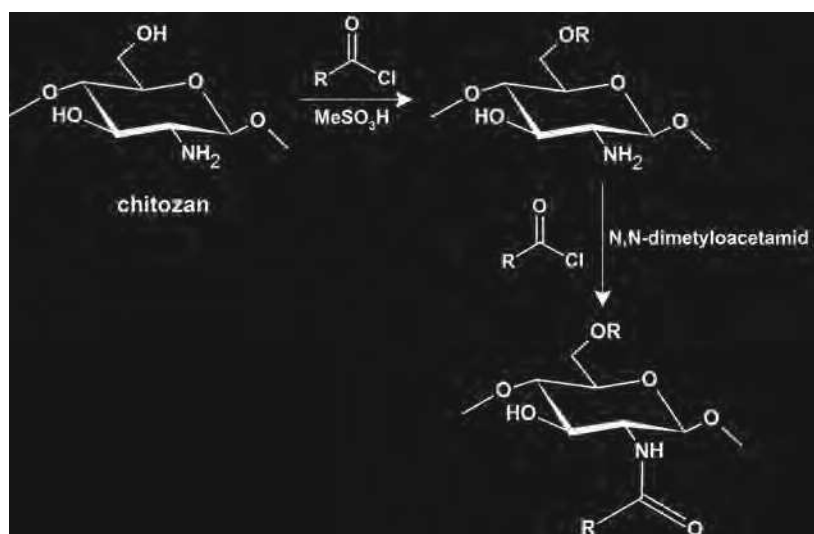
Poniżej przedstawiono schemat reakcji metylowania (kwaternizacji) grup aminowych chitozanu oraz syntezy jego *N*-alkilowych pochodnych (Rys. 5) [25, 28, 33, 48].



Rysunek 5. Reakcja metylowania chitozanu oraz tworzenia jego *N*-alkilowych pochodnych
Figure 5. Methylation and *N*-alkylation of chitosan

3.1.2. Reakcje acylowania

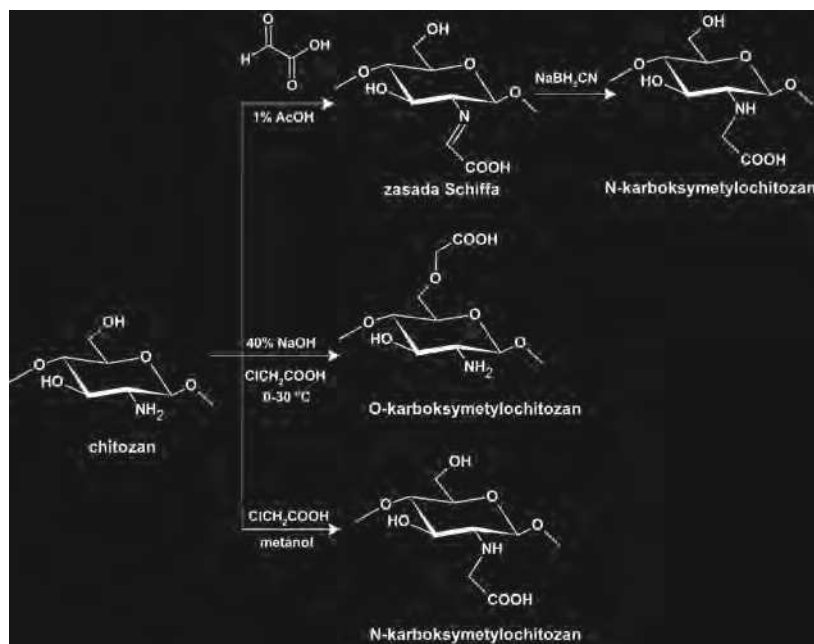
W reakcji acylowania, w zależności od charakteru czynnika modyfikującego i warunków reakcji, podstawieniu ulegają grupy aminowe i/lub grupy hydroksylowe chitozanu i otrzymuje się *N*-, *O*- i *N,O*-acylowe pochodne chitozanu. Na Rysunku 6 przedstawiono schemat reakcji tworzenia *N,O*-acylowych pochodnych chitozanu [25, 28, 33, 48].



Rysunek 6. Reakcja tworzenia N,O-acylowych pochodnych chitozanu
Figure 6. N,O-acylation of chitosan

3.1.3. Reakcje karboksymetylowania

Jedną z najczęściej badanych pochodnych chitozanu jest karboksymetylochitozan [27]. Polimer ten zawiera w łańcuchu dwa rodzaje grup funkcyjnych: zasadowe grupy aminowe i kwasowe grupy karboksylowe i stąd należy do grupy polielektrolitów amfoterycznych [25, 27, 48, 49]. W zależności od warunków reakcji karboksymetylowania otrzymuje się O -, N - lub O,N -podstawione pochodne. Reakcje prowadzące do otrzymania O - i N -karboksymetylochitozanu przedstawiono na Rysunku 7.

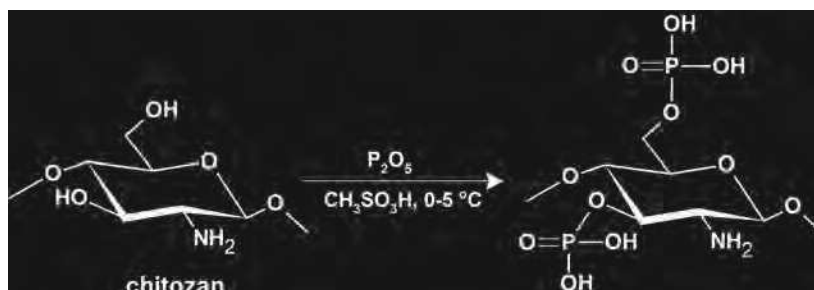


Rysunek 7. Reakcje otrzymywania *O*- i *N*-karboksymetylochitozanu
Figure 7. Synthesis of *O*- and *N*-carboxymethylated chitosan

3.1.4. Tworzenie pochodnych chitozanu zawierających fosfor i siarkę

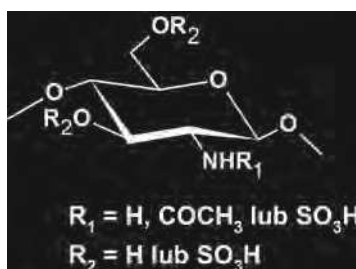
Dużą grupę pochodnych chitozanu stanowią pochodne zawierające w swojej strukturze fosfor lub siarkę.

Fosforowany chitozan może być otrzymany różnymi metodami, w których czynnikiem modyfikującym jest kwas ortofosforowy(V) lub kwas ortofosforowy(III), pięciotlenek fosforu, itp. Metody otrzymywania fosforowanego chitozanu zostały scharakteryzowane przez wielu autorów w pracach przeglądowych [25, 28, 33, 35, 36, 40, 50]. Na Rysunku 8 przedstawiono reakcje fosforylacji chitozanu przez pięciotlenek fosforu w obecności kwasu metanosulfonowego [50].



Rysunek 8. Reakcja otrzymywania fosforowanego chitozanu
Figure 8. Synthesis of phosphorylated chitosan

Chitozan zawierający w swojej strukturze grupy $-\text{SO}_3\text{H}$ otrzymuje się poprzez działanie różnych czynników, m.in. stężonego kwasu siarkowego, oleum, dwu- i trójtlenku siarki, kwasu chlorosulfonowego i w różnym środowisku reakcji [25, 27, 28, 33, 51, 52]. W wyniku działania wszystkich wymienionych reagentów otrzymuje się *N*-podstawiony chitozan (grupa $-\text{SO}_3\text{H}$ przyłączona jest do grupy $-\text{NH}_2$) i *O*-podstawiony chitozan (grupa $-\text{SO}_3\text{H}$ przyłączona jest do grupy $-\text{OH}$ i/lub $-\text{CH}_2\text{OH}$) [25, 51]. Na Rysunku 9 przedstawiono strukturę siarczanu chitozanu.



Rysunek 9. Struktura chemiczna siarczanu chitozanu
Figure 9. Chemical structure of sulphated chitosan

Otrzymane siarczanowe pochodne chitozanu, których struktura w dużym stopniu przypomina strukturę chemiczną heparyny, posiadają również właściwości przeciwzakrzepowe.

3.2. MODYFIKACJA CHITOZANU W WYNIKU REAKCJI SZCZEPIENIA

Kopolimeryzacja szczepiona jest jedną z głównych metod modyfikacji chemicznej chitozanu. Na Rysunku 10 przedstawiono schematycznie strukturę kopolimeru szczepionego chitozanu, gdzie łańcuch główny stanowi łańcuch chitozanu, a łańcuchy boczne to łańcuchy polimerowe tworzone z zaszczipionych monomerów, takich jak np. kwas akrylowy, kwas metakrylowy, akryloamid, akrylonitryl, styren, anilina, kwas mlekowy, itp. [25]. Metoda kopolimeryzacji szczepionej pozwala otrzymać pochodne chitozanu o właściwościach fizykochemicznych stwarzających możliwość poszerzenia zastosowania tego polimeru. Właściwości kopolimerów szczepionych zależą w dużym stopniu od charakteru chemicznego łańcuchów bocznych, ich długości (średniej masy cząsteczkowej) i ich liczby w danym łańcuchu (zawartości w kopolimerze).



Rysunek 10. Struktura kopolimerów szczepionych chitozanu
Figure 10. Structure of graft copolymers of chitosan

W literaturze istnieje szereg informacji dotyczących różnego typu szczepionych kopolimerów chitozanu i stosowanych metod szczepienia [25–28, 33, 53–56]. Na łańcuchu chitozanu szczepi się różnego typu monomery, głównie monomery winylowe, a do zainicjowania procesu szczepienia wykorzystuje się różnego typu inicjatory, promieniowanie nisko- i wysokoenergetyczne, promieniowanie mikrofalowe, promieniowanie plazmy i enzymy [25–27, 54–56], (Tab. 1). W procesie szczepienia monomerów winylowych najczęściej wykorzystuje się inicjatory polimeryzacji rodnikowej. Szczepienie monomerów na chitozanie może zachodzić również w procesie polikondensacji lub polimeryzacji z otwarciem pierścienia [25, 54]. Przykładem monomeru, który ulega szczepieniu na drodze polikondensacji jest kwas mlekowy. Szczepienie monomerów cyklicznych (np. laktonów i epoksydów) zachodzi natomiast w procesie polimeryzacji z otwarciem pierścienia.

Tabela 1. Charakterystyka szczepionych kopolimerów chitozanu [26, 27]
Table 1. Characteristics of chitosan graft copolymers [26, 27]

Metoda inicjowania	Rodzaj inicjatora	Monomer szczepiony na chitozanie
inicjowanie rodnikowe	Ce^{4+} , $K_2S_2O_8$, odczynnik Fentona ($Fe^{2+} + H_2O_2$), boran tributylu	akrylonitryl, <i>N</i> -izopropylakryloamid, metakrylan metylu, monomery winylowe
inicjowanie radiacyjne	promieniowanie γ , ^{60}Co	styren, metakrylan 2-hydroksyetylu
inicjowanie przy wykorzystaniu promieniowania mikrofalowego metoda „szczepienie na”, ang. „ <i>grafting onto method</i> ”	katalizatory różnego typu [4,4' - azobis(kwas 4-cyjanowalerianowy)]	poliakryloamid, polimery telecheliczne, glikol polietylenowy, polidimetylosiloksan
tworzenie dendrymerów na powierzchni chitozanu	<i>N</i> -alkilowanie redukcyjne	poliamidoamina, styren

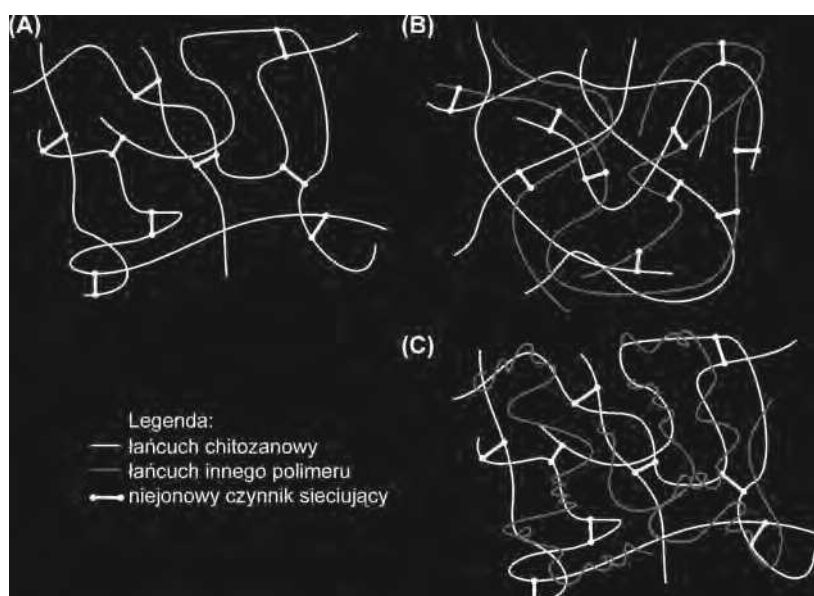
3.3. MODYFIKACJA CHITOZANU PRZEZ SIECIOWANIE

Modyfikacja chitozanu poprzez sieciowanie prowadzi do powstania trójwymiarowej sieci polimerowej. Sieć polimerowa powstaje w wyniku tworzenia wiązań chemicznych lub fizycznych bezpośrednio pomiędzy łańcuchami polimerowymi lub pomiędzy łańcuchami polimerowymi i wielofunkcyjnym czynnikiem sieciującym. Wiązania sieciujące to przede wszystkim wiązania kowalencyjne i/lub wiąza-

nia jonowe. Oprócz wymienionych typów wiązań w sieci polimerowej chitozanu występują wiązania wodorowe i oddziaływania hydrofobowe.

W wyniku sieciowania chemicznego chitozanu mogą tworzyć się różnego typu sieci polimerowe [57, 58]. Na Rysunku 11 przedstawiono struktury proponowane przez autorów niniejszej pracy:

- trójwymiarowej sieci polimerowej tworzonej w wyniku reakcji chitozanu i niejonowego czynnika sieciującego (Rys. 11A);
- hybrydowej sieci polimerowej tworzonej z chitozanu i innego polimeru, wzajemnie powiązanych niejonowym czynnikiem sieciującym (Rys. 11B);
- wzajemnie przenikających się sieci polimerowych z chitozanu i innego polimeru, z których jeden jest usieciowany niejonowym czynnikiem sieciującym (Rys. 11C).



Rysunek 11. Struktura sieci polimerowych tworzonych przez: czysty chitozan (A), hybrydową sieć polimerową (B), wzajemnie przenikające się sieci polimerowe (C)

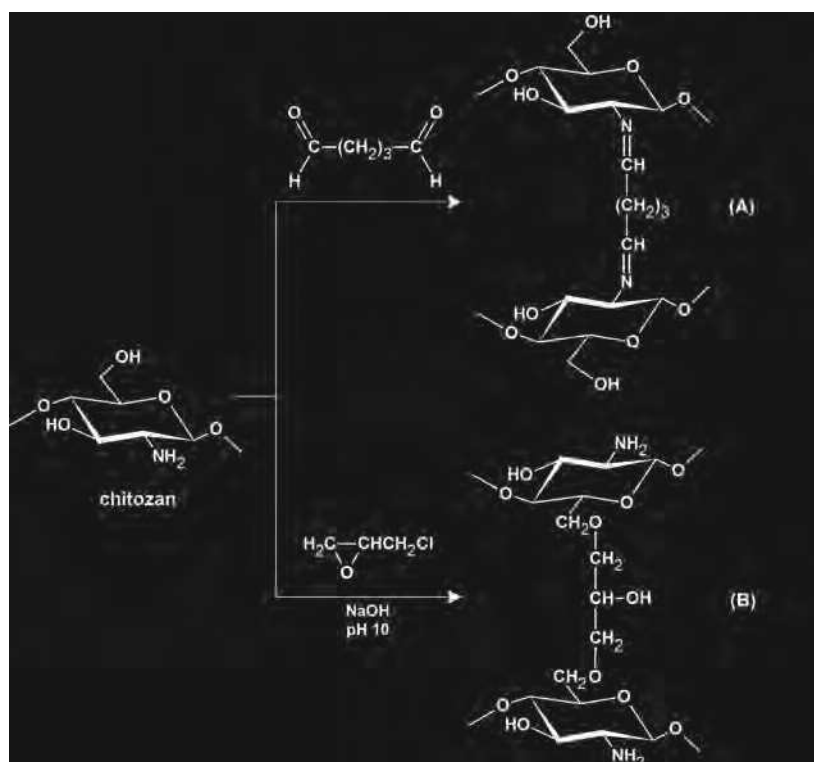
Figure 11. Structure of polymer networks formed by pure chitosan (A), hybrid polymer network (B), semi-interpenetrating networks (C)

Do sieciowania chemicznego chitozanu używane są takie czynniki sieciujące, jak np. dialdehydy (aldehyd glutarowy (GA), glioksal), genipina, epichlorohydryna (ECH), glikol etylenowy, itp. [22, 27, 38, 43, 57–62]. W zależności od rodzaju zastosowanego czynnika sieciującego sieciowanie zachodzi z udziałem grupy aminowej lub grupy hydroksylowej przy atomie C-6 łańcucha.

W przypadku stosowania dialdehydu reakcja sieciowania zachodzi z udziałem grup aminowych chitozanu i grup aldehydowych GA. Produktem reakcji jest kowalencyjne wiązanie iminowe (Rys. 12 A). Wadą sieciowania chitozanu dialdehydami

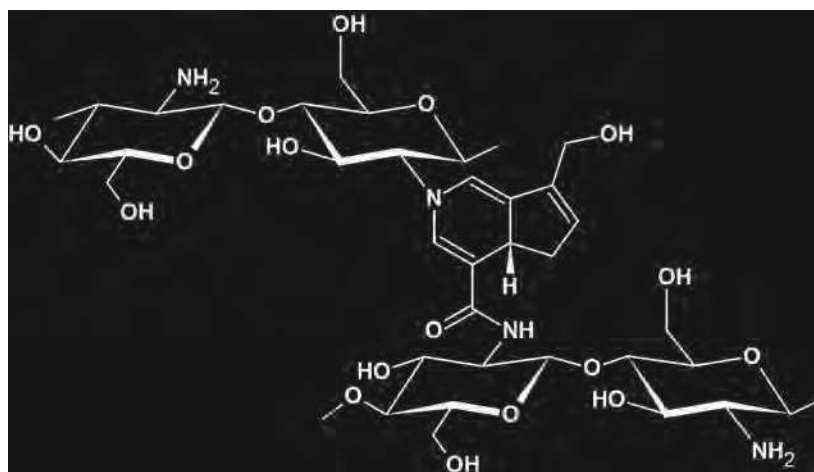
jest ich toksyczność. Aldehyd glutarowy jest neurotoksyczny, natomiast gliksal posiada właściwości mutagenne. Ogranicza to możliwości zastosowania usieciowanego chitozanu w medycynie i farmacji.

W przypadku zastosowania epichlorohydryny w procesie sieciowania bierze udział grupa hydroksylowa chitozanu przy atomie C-6 i cząsteczka ECH, która zawiera bardzo reaktywny pierścień oksiranowy. Produkt końcowy reakcji sieciowania chitozanu przez ECH przedstawiono na Rysunku 12 B. Epichlorohydryna, podobnie jak aldehyd glutarowy, wykazuje silne właściwości toksyczne.



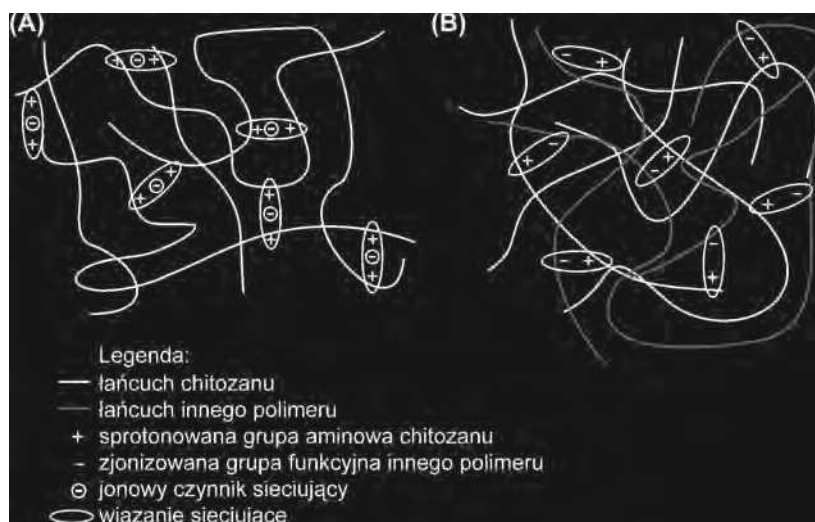
Rysunek 12. Sieciowanie chitozanu przez aldehyd glutarowy (A) i epichlorohydrynę (B)
Figure 12. Chitosan crosslinking through glutaraldehyde (A) and epichlorohydrin (B)

Ze względu na biokompatybilność i bardzo niską cytotoxyczność lepszym czynnikiem sieciującym chitozan, szczególnie w przypadku przeznaczenia tego polimeru do zastosowań biomedycznych, jest genipina [59–64]. Genipina jest naturalnym związkiem, pozyskiwanym z *Gardenia jasmonides*. Związek ten jest ok. 5000–10000 razy mniej toksyczny niż aldehyd glutarowy [64]. Mechanizm procesu sieciowania chitozanu za pomocą genipiny zależy od pH środowiska [28, 63, 64]. Strukturę chitozanu sieciowanego przez genipinę w środowisku kwaśnym przedstawiono na Rysunku 13 [62, 63].



Rysunek 13. Struktura chemiczna chitozanu usieciowanego przez genipinę
 Figure 13. Chemical structure of chitosan crosslinked with genipin

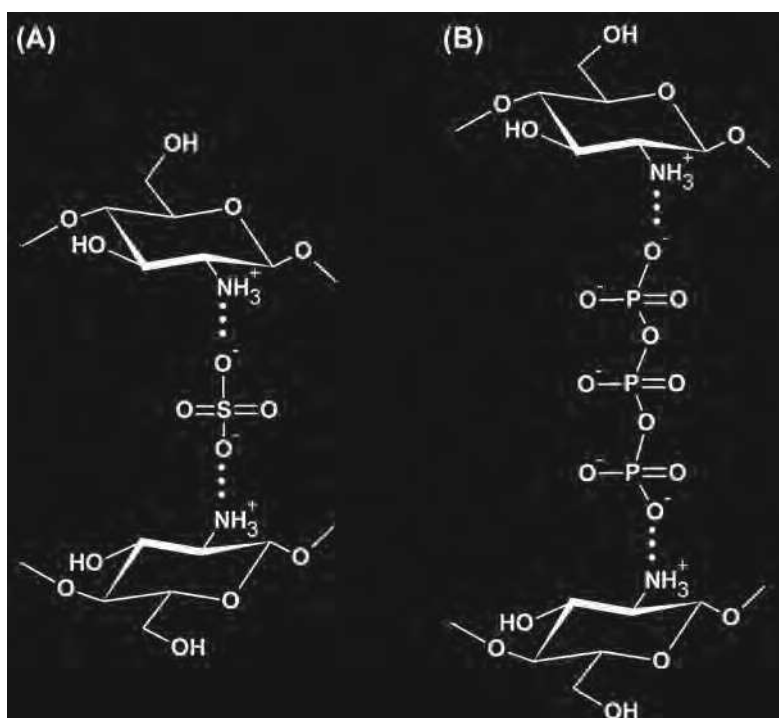
Chitozan jest polimerem kationowym i w środowisku kwaśnym tworzy polikationy, które mogą oddziaływać z ujemnie naładowanymi cząsteczkami lub makrocząsteczkami (anionami lub polianionami), prowadząc do tworzenia trójwymiarowych sieci polimerowych. Zaproponowane przez autorów niniejszej pracy struktury usieciowanego jonowo chitozanu przedstawiono schematycznie na Rysunku 14.



Rysunek 14. Struktura chemiczna chitozanu usieciowanego jonowo poprzez anion (A) oraz polianion (B)
 Figure 14. Chemical structure of chitosan ionically crosslinked with anion (A) and polyanion (B)

Wśród małocząsteczkowych jonowych czynników sieciujących stosowane były dotychczas jony kompleksowe Pt(II), Pd(II) i Mo(VI), kwas siarkowy i siarczany,

kwasy i sole kwasu fosforowego, kwas sulfobursztynowy [57, 61, 62, 65–68]. Sprotonowana grupa aminowa chitozanu, oddziałując z zjonizowaną grupą małowcząstkowego czynnika sieciującego, np. kwasem siarkowym lub fosforanem pentasodu, tworzy usieciowany polimer o strukturze przedstawionej na Rysunku 15. Rodzaj substancji sieciującej i jej stężenie, średnia masa cząsteczkowa chitozanu i jego stopień deacetylacji, stężenie roztworu chitozanu (w przypadku sieciowania w roztworze) oraz czas sieciowania mają wpływ na gęstość sieciowania. Metoda sieciowania jonowego jest prosta, tania i nie wymaga stosowania katalizatorów.



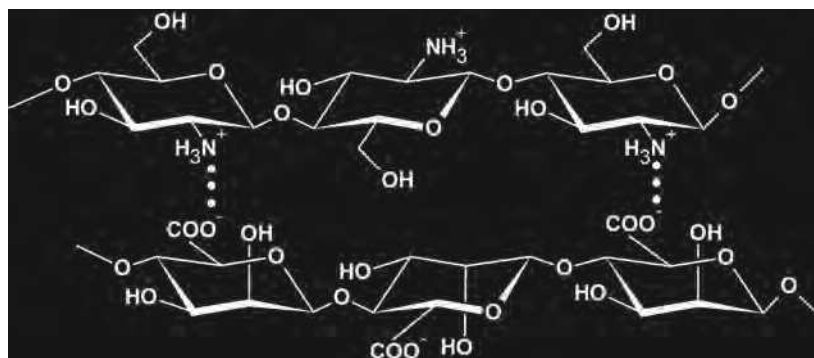
Rysunek 15. Struktura chemiczna chitozanu usieciowanego przez kwas siarkowy (A) i trifosforan pentasodu (B) [65, 66, 68]

Figure 15. Chemical structure of chitosan crosslinked with sulfuric acid (A) and pentasodium tripolyphosphate (B) [65, 66, 68]

W szeregu przypadków stosuje się więcej niż jeden rodzaj środka sieciującego [56, 66, 67]. Zastosowanie dwóch rodzajów czynników sieciujących, tzn. czynników prowadzących równocześnie do sieciowania kowalencyjnego i jonowego, umożliwia dalsze zwiększenie wytrzymałości mechanicznej polimeru, przy zachowaniu jego hydrofilowych właściwości.

Chitozan jako polielektrolit kationowy zdolny jest do reakcji z różnego typu naturalnymi i syntetycznymi polielektrolitami anionowymi i tworzenia kompleksów polielektrolitowych [34, 38, 57, 58, 60, 68–71]. Jako wielkocząsteczkowe jonowe czynniki sieciujące chitozan wykorzystywane były dotychczas polisacharydy (np.

alginian, pektyna, ksantan, karboksymetyloceluloza, kwas hialuronowy), polimery syntetyczne (np. poli(kwas akrylowy), kwas polifosforowy i polifosforany, polilaktyd), DNA i białka. Strukturę chemiczną kompleksów polielektrolitowych chitozan/polielektrolit anionowy przedstawiono na przykładzie kompleksu chitozan/alginian (Rys. 16).



Rysunek 16. Struktura chemiczna kompleksu polielektrolitowego chitozan/alginian sodu [68, 71]
Figure 16. Chemical structure of chitosan/sodium alginate complex [68, 71]

Usieciowany chitozan tworzy się również w procesie radiacyjnego sieciowania [72]. Inicjatorem radiacyjnego sieciowania chitozanu jest strumień elektronów lub promieniowanie gamma. Absorpcja promieniowania przez chitozan powoduje jego homolityczny rozpad na rodniki, jony i cząstki wzbudzone. Wiązania poprzeczne w sieci polimerowej tworzą się w wyniku złożonego mechanizmu z udziałem rodników i/lub jonów. Chitozan może również ulegać fotosieciowaniu, które zachodzi pod wpływem działania promieniowania UV [73]. Sieciowanie chitozanu zachodzi również pod wpływem enzymów, np. peroksydazy, transglutaminazy [23, 73]. Jednym z czynników powodujących sieciowanie chitozanu jest również jego ogrzewanie [73].

3.4. MODYFIKACJA CHITOZANU PRZEZ DEPOLIMERYZACJĘ

Depolimeryzacja chitozanu, polegająca na rozpadzie polimeru na oligomery i monomery, może zachodzić pod wpływem czynników chemicznych, fizycznych lub enzymów [26, 74–77]. Proces degradacji jest wynikiem rozpadu wiązań glikozydowych w łańcuchu chitozanu. Depolimeryzacja chemiczna chitozanu zachodzi w obecności różnych kwasów, takich jak kwas azotowy(III), chlorowodorowy, fosforowy oraz wolnych rodników (pochodzących np. z rozpadu ditlenku diwodoru, nadsiarczanu potasu lub powstających w reakcji ozonowania). Metody degradacji chemicznej z zastosowaniem kwasów (metody hydrolizy kwasowej) są metodami niespecyficznymi i prowadzą do otrzymania różnego typu oligomerów i dużej ilości monomeru D-glukozyaminy. Bardziej specyficzną metodą degradacji chitozanu

jest depolimeryzacja enzymatyczna, zachodząca w obecności różnych enzymów, np. papainy, lipazy, chitanazy [77]. Proces depolimeryzacji chitozanu zachodzi również pod wpływem takich czynników, jak energia cieplna, promieniowanie gamma, ultradźwięki (ultrasonifikacja) oraz plazma [26]. Procesy degradacji chemicznej chitozanu zachodzą według różnych mechanizmów: hydrolizy kwasowej, reakcji utleniania i redukcji oraz specyficznego mechanizmu z udziałem kwasu azotowego(III). Reakcji depolimeryzacji towarzyszą często inne reakcje uboczne, prowadzące do powstawania różnego typu pochodnych, szczególnie, jeśli proces depolimeryzacji zachodzi według mechanizmu wolnorodnikowego.

Chitozan o niskiej masie cząsteczkowej oraz oligomery chitozanu o różnym stopniu *N*-acetylacji są obiektem zainteresowania medycyny, biotechnologii, przemysłu kosmetycznego, rolnictwa i innych dziedzin.

3.5. TWORZENIE KOMPOZYTÓW OPARTYCH NA CHITOZANIE

Nanokompozyty oparte na chitozanie otrzymuje się metodami stosowanymi powszechnie do otrzymywania nanokompozytów polimerowych, wymienionymi w rozdz. 1. Rodzaj zastosowanej metody zależy głównie od zastosowanego nanonapełniacza. W literaturze istnieją doniesienia dotyczące chitozanu zawierającego różnego typu nanonapełniacze, m.in. glinki, hydroksyapatyt, nanocząstki różnych metali, nanorurki węglowe.

Nanokompozyty oparte na chitozanie są ciekawą i obiecującą grupą nanokompozytów, szczególnie ze względu na ich zastosowania medyczne, m.in. w inżynierii tkanki kostnej, jako materiały antybakteryjne i regeneracyjne [78–81].

UWAGI KOŃCOWE

Problem składowania i utylizacji odpadów oraz zwiększająca się troska o ochronę środowiska naturalnego wpłynęły na wzrost zainteresowania polimerami pochodzenia naturalnego. Do polimerów naturalnych należy m.in. chitozan, produkt deacetylacji chityny. Chitozan posiada wiele cennych właściwości fizycznych, chemicznych i biologicznych, takich jak: bioaktywność, biodegradowalność, biogodność, nietoksyczność, zdolność do chelatowania i wiązania jonów metali i substancji organicznych oraz błono- i włóknotwórczość. Wymienione właściwości chitozanu decydują o jego różnorodnym zastosowaniu, począwszy od różnych gałęzi przemysłu, poprzez agrotechnikę, biotechnologię, włókiennictwo, po medycynę i farmację. Z powyższych względów chitozan jest bardzo częstym obiektem badań.

Chitozan posiada jednak szereg właściwości fizykochemicznych, które ograniczają jego zastosowanie w pewnych obszarach. Aby zmienić szereg właściwości fizykochemicznych chitozanu i jednocześnie zwiększyć obszar jego zastosowania, poddaje się go różnorodnym procesom modyfikacji chemicznej i fizycznej.

W niniejszej pracy przedstawiono krótki przegląd głównych metod modyfikacji chitozanu, zwracając szczególną uwagę na modyfikację chemiczną. Spośród materiałów otrzymywanych w wyniku modyfikacji fizycznej scharakteryzowano krótko otrzymywanie kompozytów opartych na chitozanie. Podkreślić należy, że corocznie ukazuje się wiele prac poświęconych otrzymywaniu, badaniu struktury oraz właściwości fizykochemicznych i biologicznych różnego typu produktów modyfikacji chitozanu, przeznaczonych do konkretnych zastosowań przemysłowych, medycznych i farmaceutycznych.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] M.H. Struszczyk, *Polimery*, 2002, **47**, 316.
- [2] M.G. Peter, [w:] *Biopolymers*, E.J. Vandamme, S. De Baets (red.), Wiley, Weinheim, 2002, t. 6, s. 481.
- [3] M. Mucha, *Chitozan – wszechstronny polimer ze źródeł odnawialnych*, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 2010.
- [4] T.S. Demina, A.B. Gilman, T.A. Akopova, A.N. Zelenetskii, *High Energ. Chem.*, 2014, **48**, 293.
- [5] M. Rinaudo, *Prog. Polym. Sci.*, 2006, **31**, 603.
- [6] M.H. Struszczyk, *Polimery*, 2002, **47**, 396.
- [7] T. Chakrabarty, M. Kumar, V.K. Shahi, [w:] *Biopolymers*, M. Elnashar (red.), InTech 2010, rozdz. 10, s. 201. Dostępny w Internecie: <http://www.intechopen.com/articles/show/title/chitosan-based-membranes>.
- [8] S.K. Kim (red.), *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives*, CRC Press, Boca Raton 2011.
- [9] Z. Florjańczyk, S. Penczek (red.), *Chemia polimerów*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa, 1995, t. II.
- [10] J.F. Rabek, *Współczesna wiedza o polimerach*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2008.
- [11] K. Kolar, *Modyfikacja polimerów*, Wydawnictwo Politechniki Poznańskiej, Poznań 1991.
- [12] D. Braun, H. Cherdrón, M. Rehahn, H. Ritter, B. Voit, *Polymer Synthesis: Theory and Practice. Fundamentals, Methods, Experiments*, Springer, Berlin, Heidelberg 2001.
- [13] J.J. Meister, *Polymer Modification: Principles, Techniques and Applications*, Marcel Dekker, New York 2000.
- [14] W. Królikowski, Z. Rosłaniec, *Kompozyty*, 2004, **4**, 3.
- [15] Z. Florjańczyk, M. Dębowski, E. Chwojnowska, K. Łokaj, J. Ostrowska, *Polimery*, 2009, **54**, 609.
- [16] E. Spasówka, E. Rudnik, J. Kijeński, *Polimery*, 2006, **5**, 615.
- [17] R.L. Lundblad, [w:] *Chemical Modification of Biological Polymers*, R.L. Lunberg (red.), CRC Press, Boca Raton 2011, s. 383.
- [18] P. Tomasik, [w:] *Chemical and Functional Properties of Food Saccharides*, P. Tomasik (red.), CRC Press, Boca Raton, 2004, s. 123.
- [19] I. Cumpstey, *ISNR Org. Chem.*, vol. 2013, article ID 417672.
- [20] H. Struszczyk, [w:] *Chemia polimerów*, Z. Florjańczyk, S. Penczek (red.), Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa 1998, t. III, s. 57.
- [21] G.G. D'Áyala, M. Malinconico, P. Laurienzo, *Molecules*, 2008, **13**, 2069.
- [22] K. Kurita, *Prog. Polym. Sci.*, 2001, **26**, 1921.
- [23] H. Sashiwa, S. Aiba, *Prog. Polym. Sci.*, 2004, **29**, 887.
- [24] K. Kurita, *Mar. Biotechnol.*, 2006, **8**, 203.

- [25] V.K. Moruya, N.N. Inamdar, *React. Funct. Polym.*, 2008, **68**, 1013.
- [26] K.V. Harish Prashanth, R.N. Tharanathan, *Trends Food Sci. Tech.*, 2007, **18**, 117.
- [27] D. Sahoo, P.L. Nayak, [w:] *Biopolymers: Biomedical and Environmental Applications*, S. Kalia, L. Averous (red.), Wiley, Hoboken 2011, s. 129.
- [28] J. Li, L. Deng, F. Yao, [w:] *Chitosan – Based Hydrogels. Functions and Applications*, K. Yao, J. Li, F. Yao, Y. Yin (red.), CRC Press, Boca Raton 2012, s. 39.
- [29] J. Ji, L. Wang, H. Yu, Y. Chen, Y. Zhao, H. Zhang, W.A. Amer, Y. Sun, L. Huang, M. Saleem, *Polym. Plast. Technol. Eng.*, 2014, **53**, 1494.
- [30] N. Chopin, X. Guillory, P. Weiss, J. Le Bideau, S. Collic-Jouault, *Curr. Org. Chem.*, 2014, **18**, 867.
- [31] A. Anitha, N.S. Rejinold, J.D. Bumgardner, S.V. Nair, R. Jayakumar, [w:] *Chitosan-Based Systems for Biopharmaceuticals: Delivery, Targeting and Polymer Therapeutics*, B. Sarmiento, J. das Neves (red.), Wiley, Chichester, 2012, s. 107.
- [32] D. Thomas, S. Thomas, [w:] *Biopolymer Nanocomposites: Processing, Properties and Applications*, A. Dufresne, S. Thomas, L.A. Pothen (red.), Wiley, Hoboken 2013, s. 33.
- [33] A. Jain, A. Gulbake, S. Shilpi, A. Jain, P. Hurkat, S.K. Jain, *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, 2013, **30**, 91.
- [34] R.A.A. Muzzarelli, C. Muzzarelli, *Adv. Polym. Sci.*, 2005, **186**, 151.
- [35] N.M. Avec, J.F. Mano, *Int. J. Biol. Macromol.*, 2008, **43**, 401.
- [36] M. Prabakaran, *J. Biomater. Appl.*, 2008, **23**, 5.
- [37] M.E.I. Badawy, E.I. Rabea, *Int. J. Carbohyd. Chem.*, vol. 2011, article ID 460381.
- [38] T.K. Giri, A. Thakur, A. Alexander, A.H. Badwaik, D.K. Tripathi, *Acta Pharm. Sinic. B*, 2012, **2**, 439.
- [39] S.K. Yong, M. Shrivastava, P. Srivastava, A. Kunhikrishnan, N. Bolan, *Rev. Environ. Contam. T.*, 2015, **233**, 1.
- [40] J. Ma, Y. Sahai, *Carbohyd. Polym.*, 2013, **92**, 955.
- [41] S.K. Shukla, A.K. Mishra, O.A. Arotiba, B.B. Mamba, *Int. J. Biol. Macromol.*, 2013, **59**, 46.
- [42] A. Owczarczak, G. Schroeder, [w:] *Chemiczna funkcjonalizacja powierzchni dla potrzeb nanotechnologii*, G. Schroeder (red.), Wydawnictwo Kursiva, Poznań 2011, s. 131.
- [43] G.Z. Kyzas, D.N. Bikiaris, *Mar. Drugs*, 2015, **13**, 312.
- [44] J. Wang, C. Chen, *Bioresource Technol.*, 2014, **160**, 129.
- [45] J. Wang, C. Chen, *Carbohyd. Polym.*, 2014, **113**, 115.
- [46] D.J. Macquarrie, J.J.E. Hardy, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2005, **44**, 8499.
- [47] S. Ahmed, S. Ikram, *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 2015, **6**, 14.
- [48] I. Aranaz, R. Harris, A. Heras, *Curr. Org. Chem.*, 2010, **14**, 308.
- [49] V.K. Mourya, N.M. Inamdar, A. Tivari, *Adv. Mat. Lett.*, 2010, **1**, 11.
- [50] R. Jayakumar, N. Selvamurugan, S.V. Nair, S. Tokura, H. Tamura, *Int. J. Biol. Macromol.*, 2008, **43**, 221.
- [51] R. Jayakumar, N. Nwe, S. Tokura, H. Tamura, R. Jayakumar, *J. Biol. Macromol.*, 2007, **40**, 175.
- [52] S.K. Yong, N.S. Bolan, E. Lombi, W. Skinner, *Crit. Rev. Env. Sci. Technol.*, 2013, **43**, 1741.
- [53] R. Jayakumar, M. Prabakaran, R.L. Reis, J.F. Mano, *Carbohyd. Polym.*, 2005, **62**, 142.
- [54] M.J. Zohuriaan-Mehr, *Iran. Polym. J.*, 2005, **14**, 235.
- [55] M.W. Sabaa, [w:] *Polysaccharide Based Graft Copolymers*, S. Kalia, M.W. Sabaa (red.), Springer, Berlin, Heidelberg 2013, s. 111.
- [56] N.M. Alves, J.F. Mano, *Int. J. Biol. Macromol.*, 2008, **43**, 401.
- [57] J. Berger, M. Reist, J.M. Mayer, O. Felt, N.A. Peppas, R. Gurny, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2004, **57**, 19.
- [58] J. Berger, M. Reist, J.M. Mayer, O. Felt, R. Gurny, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2004, **57**, 35.
- [59] F.L. Mi, H.W. Sung, S.S. Shyu, C.C. Su, C.K. Peng, *Polymer*, 2003, **44**, 6521.

- [60] Y. Yin, J. Li, [w:] *Chitosan - Based Hydrogels: Functions and Application*, K. Yao, J. Li., F. Yao, Y. Yin (red.), CRC Press, Boca Raton 2012, s. 179.
- [61] M.C. Chen, F.L. Mi, Z.X. Liao, H.W. Sung, *Adv. Polym. Sci.*, 2011, **243**, 185.
- [62] S. Aggarwal, S. Pahuja, *Int. Res. J. Pharm.*, 2013, **4**, 45.
- [63] R.A.A. Muzzarelli, *Carbohydr. Polym.*, 2009, **77**, 1.
- [64] F.L. Mi, S.S. Shyu, C.K. Peng, *J. Polym. Sci. A: Polym. Chem.*, 2005, **43**, 1985.
- [65] J. Ostrowska-Czubenko, M. Pieróg, *Pol. J. Appl. Chem.*, 2009, **53**, 155.
- [66] J. Ostrowska-Czubenko, M. Pieróg, M. Gierszewska-Drużyńska, *Pol. J. Appl. Chem.*, 2011, **55**, 49.
- [67] E. Dashtimoghadama, M.M. Hasani-Sadrabadia, H. Moaddele, *Polym. Adv. Technol.*, 2010, **21**, 726.
- [68] M. Gierszewska-Drużyńska, *Trójskładnikowe membrany hydrożelowe do zastosowań biomedycznych i przemysłowych*, rozprawa doktorska, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń, 2010.
- [69] A.V. Il'ina, V.P. Varlamov, *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2005, **41**, 9.
- [70] Y. Luo, Q. Wang, *Int. J. Biol. Macromol.*, 2014, **64**, 353.
- [71] M. Gierszewska-Drużyńska, J. Ostrowska-Czubenko, *Polimery*, 2007, **52**, 517.
- [72] J.M. Rosiak, I. Janik, S. Kadłubowski, M. Kozicki, P. Kujawa, P. Stasica, P. Ulański, *Radiation Formation of Hydrogels for Biomedical Applications. The International Atomic Energy Agency's Report*, 2002, [on line], [dostęp 2016-07-10]. Dostępny w Internecie: AEA report - Radiation Formation of Hydrogels for Biomedical ... - MiTR mitr.p.lodz.pl/biomat/old_site/raport/book_index.html
- [73] M. Padmanabhan, L.S. Nair, [w:] *Chitin and Chitosan for Regenerative Medicine*, P.K. Dutta (red.), Springer, New Delhi. Heidelberg, New York 2016, s. 3.
- [74] V.K. Mourya, N.N. Inamdar, Y.M. Choudhari, *Polym. Sci.*, 2011, **53**, 583.
- [75] G. Lodhi, Y.S. Kim, J.W. Hwang, S.K. Kim, Y.J. Jeon, J.Y. Je, C.B. Ahn, S.H. Moon, B.T. Jeon, P.J. Park, *BioMed Res. Int.*, vol. 2014, article ID 654913.
- [76] B.B. Aam, E.B. Heggset, A.L. Norberg, M. Sørleie, K.M. Vårum, V.G.H. Eijsink, *Mar. Drugs*, 2010, **8**, 1482.
- [77] S.K. Kim, N. Rajapakse, *Carbohydr. Polym.*, 2005, **62**, 357.
- [78] D. Feldman, *J. Macromol. Sci., Part A*, 2016, **53**, 55.
- [79] R.A. Hule, D.J. Pochan, *MRS Bull.*, 2007, **32**, 354.
- [80] E. Stodolak, A. Frączek-Szczypta, M. Błażewicz, *Kompozyty*, 2010, **10**, 322.
- [81] K. Pazdan, K. Pielichowska, K. Gryń, J. Chłopek, *Eng. Biomater.*, 2014, **7**, 31.