

Adhezyjny kompozyt hydrożelowy oraz sposób jego wytwarzania

Przedmiotem wynalazku jest rozciągliwy kompozyt polimerowy o właściwościach adhezyjnych oraz sposób jego wytwarzania.

Istnieje gama wysoce elastycznych hydrożeli, charakteryzujących się wysokim uwodnieniem i zawartością naturalnych polimerów. Hydrożele takie wykazują się często właściwościami adhezyjnymi i mogą służyć jako rezerwuuar wody lub materiał pochłaniający wodę. Z tego względu stosowane są między innymi w kosmetyce, do wytwarzania funkcjonalnych opakowań do żywności lub w medycynie. Przykładem rozciągliwych elastycznych hydrożeli jest kompozycja żelowa, powstająca według patentu z mieszaniny zawierającej naturalne polisacharydy, zawierające co najmniej kwas uronowy i deoksyosacharyd w składowym monosacharydzie, alkohol wielowodorotlenowy i wodę (patent JP4236552B2). Rozciągliwość arkuszy takich kompozytów przekracza 100%, podczas gdy rozciągliwość hydrożeli kurdlanowych, potraktowanych jako konwencjonalny materiał referencyjny, nie przekracza 20% (patent JP4236552B2). Hydrożele takie zgodnie z deklaracją autorów patentu mogłyby służyć jako baza w przemyśle kosmetycznym lub medycynie, po wzbogaceniu w substancje o charakterze aktywnym lub pielęgnującym. Opisano również w innym patencie arkusze żelowe wytworzone z polimeru wrażliwego na temperaturę na bazie eteru (związki z grupy polieterów, poliwinylesterów i alkilowanych pochodnych polisacharydów) oraz żelatyny lub jej pochodnych. Arkusze takie mogłyby, po wzbogaceniu w pielęgnujące substancje aktywne, znaleźć zastosowanie w kosmetyce (patenty JP2009091342A; JP5653573B2; TW200920414A). Opisano również hydrożel, który zawiera polimer wrażliwy na temperaturę na bazie eteru i co najmniej jeden związek oparty na kolagenie lub produktach jego rozkładu. Hydrożel taki mógłby znaleźć zastosowanie w kosmetyce (patent WO2009038030A1). Hydrożele w formie arkuszy sporządzone na bazie chitozanu i kwasu taninowego jako czynnika sieciującego wykazywały zwiększoną odporność mechaniczną (Rivero i wsp., Carbohydrate Polymers, 2010, 82, 270-276). Istnieje również doniesienie o wytworzeniu twardego po wstrzyknięciu do rany hydrożelu złożonego z modyfikowanej chityny, kwasu taninowego i soli żelaza, który jest wrażliwy na temperaturę i pH. Dzięki obecności kwasu taninowego, hydrożel wykazuje aktywność przeciwbakteryjną i antyoksydacyjną, dzięki czemu może znaleźć zastosowanie jako materiał opatrunkowy na zakażone rany (Ma i wsp., Carbohydrate Polymers, 2020, 236, 116096). Kopolimer złożony z kwasu taninowego i eteru triglicydylowego trimetylopropanu wytworzył hydrożel wrażliwy na pH, o właściwościach przeciwbakteryjnych i antyoksydacyjnych (Sahiner i wsp., Int. J. Biol. Macromol., 2016, 82, 150-159), zaś kopolimer kwasu taninowego i poliwinylpiperolidonu – hydrożel o korzystnych właściwościach mechanicznych, również wrażliwy na pH (Zheng i wsp., Macromol. Chem. Phys., 2018, 219, 1800234). Padła propozycja zastosowania mieszaniny gumy guarowej i kwasu taninowego do produkcji włókien pozyskanych metodą elektroprzędzenia o właściwościach antyoksydacyjnych (Yang i wsp., Polymers, 2019, 11, 141). Zespół Wen i wsp. opracował recepturę sieciowania poliuretanu glikolu polietylenowego za pomocą dwóch związków sieciujących: trimetylopropanu i kwasu taninowego, co pozwoliło wyprodukować hydrożel o zdolnościach przylegania do różnych substratów (Wen i wsp., Polymers, 2020, 12, 239). Również zespół Chen i wsp. opracował formułację hydrożelu adhezyjnego sporządzonego przez kopolimeryzację kwasów taninowego i liponowego (Chen i wsp., Green Chem., 2021, 23, 1794-1804), do zastosowań w leczeniu ran skóry.

Wśród elastycznych hydrożeli, można też znaleźć przykłady użycia kurdlanu jako jednego ze składników. Kurdlan (β -1,3-glukan) to naturalny, stosunkowo tani, nierozpuszczalny w wodzie i nietoksyczny polimer, wytwarzany między innymi przez *Alcaligenes faecalis*, bakterię powszechnie występującą w glebie, wodzie i środowiskach

związanych z człowiekiem. W wodnej zawieszynie kurdlan tworzy hydrożele – termo-odwracalne lub termo-nieodwracalne, zależnie od temperatury. Hydrożel termo-odwracalny powstaje poprzez ogrzewanie wodnej zawiesiny polimeru w temperaturach około 55°C i chłodzenie, a jego zachowanie przypomina żele agarowe lub żelatynowe. Z kolei ta sama zawiesina, ogrzewana w temperaturze powyżej 80°C, tworzy wysoko usieciowane, termo-nieodwracalne żele o wysokiej stabilności (Cai & Zhang, *Food Hydrocolloids*, 2017, 68, 128-135; Magnolim i wsp., *PLOS*, 2017, 12, 0171469). Hydrożel taki charakteryzuje się dużą pojemnością wodną, lecz jest stosunkowo delikatny, podczas zgniatania ulega destrukcji w sposób analogiczny jak galaretka i nie poddaje się rozciąganiu (to znaczy w trakcie próby rozciągania ulega rozerwaniu). Hydrożele kurdlanowe są wykorzystywane w produkcji żywności dietetycznej i diabetologicznej, jako zagęstnik i stabilizator. Jako składnik żywności, kurdlan uzyskał w 1996 roku akceptację przez FDA (Agencja Żywności i Leków, USA). W ostatnich latach ten polisacharyd przyciągał coraz większą uwagę w zastosowaniach biomedycznych i farmaceutycznych, gdyż jego pochodne wykazują silne właściwości biologiczne, takie jak przeciwnowotworowe, przeciw HIV, przeciwdrobnoustrojowe i immunomodulujące (Cai & Zhang, *Food Hydrocolloids*, 2017, 68, 128-135; Magnolim i wsp., *PLOS*, 2017, 12, 0171469). Ponadto, mieszanki kurdlanu z innymi polimerami mogą wykazywać interesujące cechy pozwalające na ich wykorzystanie w praktyce. Przykładowo, kurdlan zmieszany z glukomannanem lub żelatyną rybią posłużył do wytworzenia jadalnych i biodegradowalnych folii stosowanych w przechowywaniu żywności i chroniące ją przed utratą lub absorpcją wody (Wu i wsp., *Carbohydr. Polym.*, 2012, 89, 497-503; Ahmad i wsp., *RSC Adv.*, 2015, 5, 99044). Innym przykładem wytwarzania użytecznych polimerów opartych na kurdlanie są jadalne, adhezyjne błony zawierające 5-10% kurdlanu, 0,25-0,5% chitozanu, 1-3% alkoholu poliwinylowego, substancję o charakterze polifenolowym (między innymi kwasu ferulowego, chlorogenowego, galowego, kwasu taninowego lub polifenoli z herbaty) w stężeniu 0,01-0,05% oraz 2-5% plastyfikatora (patent CN108586828A). Kompozyt taki mógłby być używany do wytwarzania opakowań do żywności. Autorzy tego wynalazku opatentowali również sposób wytwarzania podobnego kompozytu opartego na kurdlanie, ale zamiast chitozanu zawierającego karboksymetolochitozan oraz bakteryjną celulozę, stosując jako czynnik sieciujący lakazę (patent CN110240720A). Kompozyt ten mógłby służyć do produkcji opakowań do żywności o właściwościach antyoksydacyjnych i przeciwbakteryjnych, przedłużających okres przydatności do spożycia owoców, warzyw i mięsa dzięki antyoksydacyjnemu działaniu lakazy. Przykładem formułacji zawierających kurdlan są opatentowane hydrożelowe arkusze o zwiększonej wytrzymałości mechanicznej i elastyczności, zawierające; (a) mniej niż 10 % mieszaniny polisacharydów składającej się z; (i) polisacharyd z czerwonych wodorostów; (ii) polisacharyd zawierający mannozę wybrany spośród galaktomannanu, glukomannanu i ich pochodnych lub mieszanin oraz; (iii) polisacharyd fermentacyjny lub jego pochodne; oraz (b) od około 30% do około 99,5% wody (patent WO0102478A1). Kurdlan jest wymieniany w tym patencie jako jeden z przedstawicieli polisacharydów fermentacyjnych lub ich pochodnych (patent WO0102478A1). Arkusze takie mogłyby służyć do kosmetycznych powierzchniowych zastosowań na skórę, ze względu nie tylko na swą elastyczność, ale też właściwości chłodzące i nawilżające. Hydrożel ksantanowo-kurdlanowy z kolei wykazuje podwyższoną elastyczność i zdolność do zachowania wilgoci (Williams i wsp., *J. Food Sci.*, 2011, 76, E427). W 2022 roku doniesiono o wytworzeniu hydrożelu zawierającego 5% kurdlanu i 2,5-10% kwasu taninowego, powstałego przez rozpuszczenie kurdlanu w DMSO i wymieszaniu z roztworem kwasu taninowego, obróbkę termiczną i następnie 12-godzinny proces hartowania w celu utworzenia struktury kompozytowej. Tak powstały przezroczysty hydrożel wykazywał w badaniach właściwości antyoksydacyjne, przeciwbakteryjne i hemostatyczne (Zhou i współ., *Carbohydrate Polymers*, 2022, 285, 119235). Stan wiedzy dotyczący wytwarzania kompozytów hydrożelowych

ujawnia, że zarówno kwas taninowy jak i kurdlan mogą służyć do syntezy hydrożeli użytecznych w różnych zastosowaniach.

Kwas taninowy jest składnikiem aptecznych formułacji leczniczych. Przykładami takich formułacji jest Aesculan (maść na hemoroidy), Taninal (tabletki stosowane w biegunkach i zatruciach pokarmowych) lub Tanno-Hermal (krem stosowany w celu wzmocnienia bariery naskórkowej w zapalnych, sączących i swędzących powierzchownych zmianach skóry, szczególnie w różnego rodzaju wypryskach). Tanina jako proszek jest również dostępna w aptekach jako substancja wykorzystywana w recepturze aptecznej do sporządzania roztworów, maści, past, proszków i czopków stosowanych w leczeniu m.in. owrzodzeń żyłakowych podudzi, hemoroidów, opryszczki, wysypki oraz trądziku. Farmakopea Europejska 10 i Farmakopea Polska XII^o precyzuje jej stężenie lecznicze w przypadku podania zewnętrznego na stężenie od 1,0 do 20,0% dla roztworu i od 0,5 do 10,0% dla maści.

Celem wynalazku jest wytworzenie wysoce elastycznego kompozytu o składzie naturalnym, bez użycia rozpuszczalników organicznych, opartego na wykorzystaniu polisacharydowego polimeru kurdlanowego i kwasu taninowego.

Nieoczekiwanie okazało się, że po wymieszeniu w określonych proporcjach proszku kurdlanu uprzednio namoczonego w wodzie i roztworu kwasu taninowego oraz po odpowiedniej obróbce termicznej takiej mieszaniny uzyskuje się kompozyt o bardzo wysokiej elastyczności, właściwościach adhezyjnych, rozciągliwości, i dużej odporności na zgniatanie. Cech tych czysty hydrożel kurdlanowy nie wykazuje, zatem to dodatek kwasu taninowego wywołuje pojawienie się elastyczności i podatności na rozciąganie kompozytu otrzymanego według wynalazku.

Kompozyt według wynalazku charakteryzuje się tym, że zawiera wodę, kurdlan (zwany też β -1,3-glukanem) oraz kwas taninowy, gdzie składniki występują w następujących ilościach: 8-14g kurdlanu oraz 14-30 g kwasu taninowego na 100 g wody. Korzystnie jest, gdy zawartość kwasu taninowego wynosi 14-25 g na 100 g wody.

Kompozyt dzięki użyciu składników w odpowiednich proporcjach ma postać przylegającą samoistnie do powierzchni skóry, poddaje się zgniataniu bez uszkodzenia swej struktury i przzerwania jej ciągłości dzięki zawartości komponentów oraz przygotowaniu kurdlanu w postaci wodnej zawiesiny zaś kwasu taninowego w postaci wodnego roztworu. Potwierdzono możliwość zastosowania kompozytu w kombinacji z adhezyjnym plasterem poliuretanowym jako warstwą zewnętrzną plastra opatrunkowego.

Kompozyt uzyskany według wynalazku charakteryzuje się istotną aktywnością przeciwbakteryjną. Wiąże się to w właściwościami denaturującymi kwasu taninowego w stosunku do roztworów białka. Kompozyt można przechowywać przez długi czas zarówno w postaci wysuszonej, jak i mokrej (dzięki działaniu kwasu taninowego nie poddaje się on zakażeniom bakteryjnym). Nadaje się on po wysuszeniu do sterylizacji metodą z zastosowaniem tlenu etylenu. Wysterylizowany kompozyt po namoczeniu w wodzie lub roztworach wodnych takich jak między innymi roztwór soli fizjologicznej, PBS, symulowany płyn tkankowy, bufory o różnych pH odzyskuje swoje elastyczne, rozciągliwe i adhezyjne właściwości.

Kompozyt ponadto należy do materiałów wrażliwych na pH. W zależności od pH środowiska, jest całkowicie stabilny (pH 2-5), częściowo stabilny (w pH 6-8 – jego struktura nieco się rozluźnia bez znacznej utraty właściwości) lub niestabilny (w pH 10-12 – dochodzi do stopniowego rozpuszczania). Efekt ten postępuje w czasie i jest w znacznym stopniu zależny od proporcji między kurdlanem i kwasem taninowym w kompozycie, w ten sposób, że im więcej kurdlanu w stosunku do kwasu taninowego zawiera próbka, tym większa jest stabilność kompozytu. Z tym zjawiskiem wiąże się też różna dynamika uwalniania kwasu taninowego

jako substancji czynnej z kompozytu, a mianowicie niższe pH środowiska (np. pH 5,5) zmniejsza tempo uwalniania kwasu taninowego z kompozytu podczas gdy w pH wyższym (np. pH 7,4) to uwalnianie ulega zwiększeniu. Ponadto w zależności od pH środowiska zwiększa się zdolność kompozytu do wchłaniania płynów. Na przykład w pH 6,0 kompozyt wchłania około 2 razy więcej płynu niż w pH 4-5. Wytworzony kompozyt w warunkach pH skóry oraz wysięków z ran skórnych (pH 5,5 do 7,4) zachowuje swoje korzystne właściwości mechaniczne (rozciągliwość, adhezyjność, odporność na zgniatanie) jednocześnie uwalniając kwas taninowy jako substancję leczniczą (antybakteryjną) oraz wchłaniając istotne ilości płynów, co sprawia, że może mieć zastosowanie w materiałach opatrunkowych. W związku z działaniem denaturującym kwasu taninowego kompozyt działa na wszystkie szczepy bakterii łącznie z lekoopornymi, dominującymi w szpitalach.

Przedmiotem wynalazku jest również sposób otrzymywania kompozytowego materiału elastycznego. Sposób według wynalazku polega na tym, że kurdlan poddaje się całkowitemu uwodnieniu w wodzie, a kwas taninowy osobno poddaje się całkowitemu rozpuszczeniu w wodzie, gdzie ilość użytych składników wynosi: 8-14 g kurdlanu oraz 14-30 g kwasu taninowego na 100 g wody, następnie zawiesinę kurdlanu oraz roztwór kwasu taninowego łączy się poprzez wymieszanie do uzyskania jednorodnej zawiesiny, którą wlewa do przygotowanej formy i natychmiast poddaje polimeryzacji termicznej, na przykład poprzez umieszczenie w gorącej kąpieli wodnej, w inkubatorze o regulowanej temperaturze lub na płycie grzejnej, w temperaturze 70-110°C, korzystnie 90-100°C, na czas 5-60 minut. Korzystnie jest, gdy grubość zawiesiny woda-kurdlan-kwas taninowy po wylaniu do formy jest nie mniejsza niż 1,5 mm.

Zaletą opisanego sposobu otrzymywania kompozytu jest bardzo prosta metoda jego wytworzenia, gdyż wymaga ona jednoetapowego postępowania, proces jest krótkotrwały (minimalny czas syntezy to 5 minut), zawiera on wyłącznie wodę i naturalne składniki polimerowe oraz nie wymaga zastosowania rozpuszczalników organicznych. Dzięki czemu w stosunku do znanego stanu techniki jest ekologiczny i nie toksyczny.

Można go wytwarzać w formie różnych kształtek (np. w postaci cylindrycznej, kwadratowej lub mniej regularnej), zależnej od zastosowanej do syntezy formy, przy czym kształt może być różnej grubości. Możliwe jest uzyskanie kompozytu w formie filmów o grubości minimalnej 1,5 mm i zróżnicowanej powierzchni.

Istotne są także odpowiednio duże ilości występowania składników w kompozycie, a mianowicie 8-14 g kurdlanu oraz 14-30 g kwasu taninowego na 100 g wody, co zapewnia wytworzenie jednorodnego materiału, który może mieć zastosowanie do wytwarzania opatrunków.

Przykładem zastosowania opisanego kompozytu według wynalazku może być zastosowanie go jako adhezyjnego plastra opatrunkowego stosowanego na skórę. Z uwagi na swoje właściwości adhezyjne, rozciągliwe, ściągające i przeciwbakteryjne, mógłby znaleźć zastosowanie w gojeniu sączących się i krwawiących ran, zainfekowanych lub podatnych na infekcję bakteryjną. Innym potencjalnym zastosowaniem kompozytu, ze względu na dużą zdolność chłonięcia i zatrzymywania wody oraz właściwości przeciwbakteryjne, jest użycie go jako elementu opakowań do przechowywania żywności podatnej na wysychanie i psucie się wskutek rozpadu mikrobiologicznego.

Przedmiot wynalazku ilustrują przedstawione poniżej przykłady.

Przykład I. 1,2 g kurdlanu odważono, wsypano do naczynia zawierającego 5 g wody i pozostawiono do uwodnienia, a w drugim naczyniu rozpuszczono 1,5 g kwasu taninowego w 5 g wody (co oznacza, że w wytworzonej próbce składniki występowały w ilościach: 12 g kurdlanu i 15 g kwasu taninowego na 100 g wody). Zawiesinę kurdlanu i roztwór kwasu taninowego połączono, zmieszano do uzyskania jednorodności i wylano do polistyrenowej

płytki na grubość 2,5 mm. Następnie płytkę wstawiono do termobloku ustawionego na temperaturę 93°C i inkubowano 15 minut, po czym płytkę wyjęto i pozostawiono do wystudzenia. Cienki film kompozytu wyjęto z płytki. Elastyczność powstałego kompozytu i kształty, jakie może on przybierać ilustruje Fig 1.

Przykład II. 1,2 g kurdlanu odważono, wsypano do naczynia zawierającego 5 g wody i pozostawiono do uwodnienia, a w drugim naczyniu rozpuszczono 2 g kwasu taninowego w 5 g wody (co oznacza, że w wytworzonej próbce składniki występowały w ilościach: 12 g kurdlanu i 20 g kwasu taninowego na 100 g wody). Zawiesinę kurdlanu i roztwór kwasu taninowego połączono, zmieszano do uzyskania jednorodności i wylano do polistyrenowej płytki na grubość 3 mm. Następnie płytkę wstawiono do termobloku ustawionego na temperaturę 90°C i inkubowano 17 minut, po czym płytkę wyjęto i pozostawiono do wystudzenia. Cienki film kompozytu wyjęto z płytki. Przyleganie filmu kompozytowego do skóry, nawet w trakcie wykonywania ruchów dłonią, ilustruje sekwencja zdjęć przedstawionych na fig. 2. Na fragmentach filmu kompozytowego o wymiarach 3 cm x 1 cm wykonano badanie na rozciąganie w teksturometrze EZ-Test XS, przy długości bazy pomiarowej 1 cm i szybkości przemieszczenia 25 mm/min. Maksymalna siła dla tej próbki wynosiła 0,51 N, naprężenie 17 kN/m², a odkształcenie mierzone jako stosunek przemieszczenia do długości bazy pomiarowej wyrażone w procentach wynosiło 434,6 %. Natomiast maksymalne przemieszczenie przy pęknięciu wynosiło 623%. Rozciąganie próbki kompozytu ilustruje sekwencja zdjęć obrazująca zachowanie kompozytu po przyłożeniu, a następnie ustąpieniu siły rozciągającej, przedstawiona na fig. 3.

Przykład III. 1 g kurdlanu odważono, wsypano do naczynia zawierającego 7,5 g wody i pozostawiono do uwodnienia, a w drugim naczyniu rozpuszczono 1,4 g kwasu taninowego w 2,5 g wody (co oznacza, że w wytworzonej próbce składniki występowały w ilościach: 10 g kurdlanu i 14 g kwasu taninowego na 100 g wody). Zawiesinę kurdlanu i roztwór kwasu taninowego połączono, zmieszano do uzyskania jednorodności i wylano do polistyrenowej płytki na grubość 3 mm. Następnie płytkę wstawiono do termobloku ustawionego na temperaturę 93°C i inkubowano 15 minut, po czym płytkę wyjęto i pozostawiono do wystudzenia. Cienki film kompozytu wyjęto z płytki. Budowę chemiczną filmu przebadano techniką FTIR z użyciem spektroskopu Vertex 70 z oprogramowaniem OPUS 7.1, w zakresie 400-4000 cm⁻¹. Widma kompozytu oraz kwasu taninowego i kurdlanu jako składników wyjściowych dla syntezy kompozytu przedstawiono na fig.4. Z widma kompozytu wynika, że większość występujących w nim pasm pochodzi od kwasu taninowego. Widoczne są w nim jednak pasma charakterystyczne dla kurdlanu: ślad pasma 1365 cm⁻¹ (typowe dla wiązań CH₂ i C-OH jednostek glukozowych) i 1154 cm⁻¹ (typowe dla konfiguracji β w wiązaniach międzyjednostkowych). Pasma przy długości 1154 cm⁻¹ jest wypadkową pasma 869 cm⁻¹ w kwasie taninowym i 889 cm⁻¹ w kurdlanie, co może świadczyć o wystąpieniu niespecyficznych interakcji pomiędzy tymi dwoma polimerami. Na fragmentach filmu kompozytowego o wymiarach 3 cm x 1 cm wykonano badanie na rozciąganie w teksturometrze EZ-Test XS, przy długości bazy pomiarowej 1 cm i szybkości przemieszczenia 25 mm/min. Maksymalną siłą dla tej próbki wynosiła 1,47 N, naprężenie 49 kN/m², a odkształcenie mierzone jako stosunek przemieszczenia do długości bazy pomiarowej wyrażone w procentach wynosiło 232,3 %. Natomiast maksymalne przemieszczenie przy pęknięciu wynosiło 380%. Wrażliwość na pH kompozytu oznaczono poprzez inkubację próbek w buforach o pH 2-12. Po 24 h inkubacji stwierdzono, że we wszystkich pH próbki kompozytu są stabilne, natomiast w pH ≥ 6 zaobserwowano zwiększenie objętości i przezroczystości próbek, związane ze zwiększonym wchłanianiem płynu przez kompozyt. Po 72 h inkubacji, kompozyt był stabilny lub częściowo stabilny w zakresie pH 2-8. Badanie uwalniania kwasu taninowego z kompozytu wykazało, że po 24 h próbka uwolniła 21,4% kwasu taninowego w pH 5,5, zaś blisko 100% kwasu taninowego w pH 7,4. (Fig. 5). W stosunku do krwi pełnej potwierdzono te zdolności testem

bezpośredniego kontaktu kompozytu z krwią, który wykazał, że po 20 minutach około 50% erytrocytów uległo denaturacji i uwolniło hemoglobinę. Test aktywności przeciwbakteryjnej metodą dyfuzji w studni agarowej (średnica studzienek 7,5 mm) wykazał zony inhibicji wzrostu szczepów *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 i *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 odpowiednio: 16 mm i 19 mm, co potwierdza jego właściwości przeciwbakteryjne.

Przykład IV. 0,8 g kurdlanu odważono, wsypano do naczynia zawierającego 5 g wody i pozostawiono do uwodnienia, a w drugim naczyniu rozpuszczono 2 g kwasu taninowego w 5 g wody (co oznacza, że w wytworzonej próbce składniki występowały w ilościach: 8 g kurdlanu i 20 g kwasu taninowego na 100 g wody). Zawiesinę kurdlanu i roztwór kwasu taninowego połączono, zmieszano do uzyskania jednorodności i wylano do polistyrenowej płytki na grubość 3 mm. Następnie płytkę wstawiono do termobloku ustawionego na temperaturę 93°C i inkubowano 12 minut, po czym płytkę wyjęto i pozostawiono do wystudzenia. Cienki film kompozytu wyjęto z płytki. Na fragmentach filmu kompozytowego o wymiarach 3 cm x 1 cm wykonano badanie na rozciąganie w teksturometrze EZ-Test XS, przy długości bazy pomiarowej 1 cm i szybkości przemieszczenia 25 mm/min. Maksymalna siła dla tej próbki wynosiła 0,27 N, naprężenie 9 kN/m², a odkształcenie mierzone jako stosunek przemieszczenia do długości bazy pomiarowej wyrażone w procentach wynosiło 330%. Natomiast maksymalne przemieszczenie przy pęknięciu wynosiło 576%. Wrażliwość na pH kompozytu oznaczono poprzez inkubację próbek w buforach o pH 2-12. Po 24 h inkubacji stwierdzono, że we próbki kompozytu są stabilne w pH 2-4, natomiast w pH ≥ 6 zaobserwowano destabilizację, zwiększenie objętości i przezroczystości próbek, związane ze zwiększonym wchłanianiem płynu przez kompozyt. Dowodzi tego porównanie procentowego wzrostu mokrej masy próbek kompozytu inkubowanych przez 24 godziny w temperaturze 25°C w buforach o różnych pH w stosunku do próbek suchych. Wynosił on 318% dla pH 4,0, 384% dla pH 5,0 oraz 667% dla pH 6,0 (dla porównania, masa mokra kompozytu wyjściowego nieinkubowanego w żadnym z buforów wynosiła 300% w stosunku do masy suchej). Z kolei wszystkie te próbki inkubowane w wyżej wymienionych buforach wytrzymały odpowiednio obciążenie: 100,438N; 100,345N; 97,92N przy kompresji odpowiednio: 93,18%, 92,18%, 96,83% bez zniszczenia, co potwierdza ich wysoką wytrzymałość mechaniczną i odporność na zgniatanie. Badanie uwalniania kwasu taninowego z kompozytu wykazało, że po 24 h próbka uwolniła 28,1% kwasu taninowego w pH 5,5, zaś 54,3% kwasu taninowego w pH 7,4. (Fig. 6). Kwas taninowy uwalniany z kompozytu wykazał zdolności denaturujące białka, które wykazano w teście monitoringu absorpcji mieszaniny ekstraktu z kompozytu (1 g mokrej masy kompozytu/10 ml buforu o pH 5,5 lub 7,4, inkubacja przez 72 h w 37°C) i roztworu albuminy ludzkiej (w końcowym stężeniu 1 mg/ml). Zmętnienie mieszaniny poreakcyjnej, będące funkcją denaturacji albuminy przez uwolniony z kompozytu kwas taninowy, mierzono jako absorpcja przy 660 nm. Wartości tych absorpcji wynosiły odpowiednio: 0,785 (15s) i 0,862 (60 s) dla pH 7,4 oraz 0,680 (15s) i 0,748 (60 s) dla pH 5,5. Wynik denaturacji białka przez uwolniony z kompozytu kwas taninowy potwierdza jego właściwości ściągające. W stosunku do krwi pełnej potwierdzono te zdolności testem bezpośredniego kontaktu kompozytu z krwią, który wykazał, że po 20 minutach około 45% erytrocytów uległo denaturacji i uwolniło hemoglobinę. Test aktywności przeciwbakteryjnej metodą dyfuzji w studni agarowej (średnica studzienek 7,5 mm) wykazał zony inhibicji wzrostu szczepów *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 i *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 odpowiednio: 16 mm i 17 mm, co potwierdza jego właściwości przeciwbakteryjne.

Przykład V. 1 g kurdlanu odważono, wsypano do naczynia zawierającego 2,5 g wody i pozostawiono do uwodnienia, a w drugim naczyniu rozpuszczono 3 g kwasu taninowego w 7,5 g wody (co oznacza, że w wytworzonej próbce składniki występowały w ilościach: 10 g kurdlanu i 30 g kwasu taninowego na 100 g wody). Zawiesinę kurdlanu i roztwór kwasu taninowego połączono, zmieszano do uzyskania jednorodności i wylano do polistyrenowej

płytki na grubość 3 mm. Następnie płytkę wstawiono do termobloku ustawionego na temperaturę 93°C i inkubowano 12 minut, po czym płytkę wyjęto i pozostawiono do wystudzenia. Cienki film kompozytu wyjęto z płytki. Na fragmentach filmu kompozytowego o wymiarach 3 cm x 1 cm wykonano badanie na rozciąganie w teksturometrze EZ-Test XS, przy długości bazy pomiarowej 1 cm i szybkości przemieszczenia 25 mm/min. Maksymalna siła dla tej próbki wynosiła 0,62 N, naprężenie 20,7 kN/m², a odkształcenie mierzone jako stosunek przemieszczenia do długości bazy pomiarowej wyrażone w procentach wynosiło 234%. Natomiast maksymalne przemieszczenie przy pęknięciu wynosiło 630,5%. Test aktywności przeciwbakteryjnej metodą dyfuzji w studni agarowej (średnica studzienek 7,5 mm) wykazał strefy inhibicji wzrostu szczepów *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 i *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 odpowiednio: 19 mm i 20 mm, co potwierdza jego właściwości przeciwbakteryjne.