KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

Nedas Katkauskis

KATIJONINIO KRAKMOLO DARINIŲ FERMENTINĖ HIDROLIZĖ

Baigiamasis bakalauro darbas

Vadovė
Doc. dr. Joana Bendoraitienė

Kaunas, 2015

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS
POLIMERŲ CHEMIJOS IR TECHNOLOGIJOS KATEDRA

TVIRTINU
Padalinio vadovas
Prof. habil. dr. Juozas Vidas Gražulevičius

KATIJONINIO KRAKMOLO DARINIŲ FERMENTINĖ HIDROLIZĖ

Baigiamasis bakalauro darbas

Studijų programa Pramoninė biotechnologija (kodas 612J7001)

Vadovas
Doc. dr. Joana Bendoraitienė
Recenzentas
Doc. dr. Jolita Ostrauskaitė

Darbą atliko
Nedas Katkauskis

Kaunas, 2015

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS
Nedas Katkauskis
Studijų programa Pramoninė biotechnologija (kodas 612J7001)

Katijoninio krakmolo darinių fermentinė hidrolizė

AKADEMINIO SĄŽININGUMO DEKLARACIJA

2015 m. gegužės mėn. 25 d.
Kaunas

Patvirtinu, kad mano **Nedo Katkauskio** baigiamasis darbas tema „Katijoninio krakmolo darinių fermentinė hidrolizė “ yra parašytas visiškai savarankiškai, o visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena darbo dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymu nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

_____ _____
(studento vardas ir pavardė, įrašyti ranka) (parašas)

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

Tvirtinu:
Cheminės technologijos fakulteto dekanas
Prof. E.Valatka

Dekano įsakymas Nr. ST17-F-02-3
2015 m. balandžio mėn. 16 d.

Suderinta:
Katedros vedėjas
prof. habil. dr. Juozas Vidas Gražulevičius

2015 m. balandžio mėn. 16 d.

BAKALAURO BAIGIAMOJO DARBO UŽDUOTIS

Išduota studentui: Nedui Katkauskiui

1. Darbo tema: „Katijoninio krakmolo darinių fermentinė hidrolizė".
2. Darbo tikslas: nustatyti katijoninio krakmolo fermentinės hidrolizės priklausomybę nuo fermento kiekio ir pakeitimo laipsnio ir parinkti sąlygas, kuriomis galima gauti krakmolo hidrolizatą tinkamą popieriaus gamybai.
3. Darbo uždaviniai:
    1. Atlikti įvairaus pakeitimo laipsnio katijoninio ir tinklinto krakmolo fermentu α-amilaze katalizuojamą hidrolizę
    2. Palyginti gamtinio krakmolo ir modifikuoto krakmolo fermentinės hidrolizės procesus, įvertinant polisacharidų kleisterių klampą ir dekstrozės ekvivalentą
    3. Paruošti ir atlikti gamtinio, katijoninio krakmolo bioskaidumo tyrimus MODA 6 aparatu.
    4. Palyginti gamtinio ir katijoninio krakmolo bioskaidumą po 28 dienų.
    5. Pasiūlyti hidrolizato gamybos liniją tinkamą popieriaus gamybos procesui.

Užduoties išdavimo data 2015 m. vasario mėn. 2 d.
Užbaigto darbo pateikimo terminas 2015 m. gegužės mėn. 25 d.

Vadovas: Joana Bendoraitienė _____

(vardas, pavardė) (parašas, data)

Užduotį gavau: Nedas Katkauskis _____

(studento vardas, pavardė) (parašas, data)

TURINYS

ĮŽANGA 8
1 LITERATŪROS APŽVALGA 9
1.1 Biopolimerai ir polisacharidai 9
1.2 Krakmolo sudėtis ir struktūra 9
1.3 Krakmolo kleisterizacija ir retrogradacija 12
1.4 Modifikuotas krakmolas 13
1.4.1 Chemiškai modifikuotas krakmolas 13
1.4.1.1 Krakmolo oksidinimas 14
1.4.1.2 Krakmolo rūgštinė hidrolizė 15
1.4.1.3 Krakmolo tinklinimas 16
1.4.1.4 Krakmolo katijonizavimas 17
1.4.2 Krakmolo fiziko-mechaninis modifikavimas 17
1.4.3 Kombinuotas krakmolo modifikavimas 18
1.4.4 Fermentinė krakmolo hidrolizė 18
1.5 Bioskaidumas 19
1.6 Krakmolo panaudojimas popieriaus ir kartono pramonėje 19
2 MEDŽIAGOS IR TYRIMŲ METODAI 21
2.1 Naudotos medžiagos 21
2.2 Metodikos 23
2.2.1 Krakmolo viskozimetrinis tyrimas 23
2.2.2 Dekstrozės ekvivalento nustatymas 24
2.2.3 Krakmolo darinių bioskaidumo nustatymas 25
2.2.4 Sausų medžiagų kiekio nustatymas 27
2.2.5 Eksperimento tikslumo įvertinimas 27
3 TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS 28
3.1 Fermentais katalizuojama įvairių krakmolo darinių hidrolizė 28
3.2 Katijoninio krakmolo bioskaidumas 35
4 REKOMENDACIJOS 36
4.1 Krakmolo hidrolizato gamybos linija popieriaus gamybai 36
5 IŠVADOS 38
LITERATŪROS SĄRAŠAS 39

Katkauskis N., *Enzymatic hydrolysis of cationic starch derivatives*. *Bachelor's work in Industrial Biotechnology*. Supervisor dr. Joana Bendoraitienė. Kaunas University of Technology, Faculty of Chemical Technology.

Kaunas, 2015. 41 p.

SUMMARY

During the task effect of the enzymatic hydrolysis to cationic and cross-linked starch derivatives were investigated. Enzymatic hydrolysis were estimated by measuring viscosity of starch suspensions and dextrose equivalent (DE). There was determined starch and its derivatives direct relation between viscosity and DE from the amount of enzyme used. Given larger amounts of enzyme starch suspensions viscosity were decreasing and DE were increasing because of polysaccharide macromolecules hydrolysis. Considering modified starch degree of substitution (DS) were defined that the larger DS the more difficult it is for hydrolysis to take place. When the DS=0,1 the DE value is about 4 times lower than native starch, but when DS is increased 3 times to DS=0,3 DE value is reduced by 2,6 times. The groups linked to polysaccharide macromolecules interfere with enzymatic hydrolysis reaction. The same tendency could be seen when hydrolyzing cross-linked starch, but the influence of cross links is little lower. The results of laboratory test were approved by determining modified starch biodegradability in aerobic conditions while composting. Based on results of starch and its derivatives enzymatic hydrolysis the hydrolyzate production line for papermaking process was proposed.

SANTRUMPOS

BL – bioskaidumo laipsnis, %

BU – Brabenderio vienetai – santykiniai vienetai įvertinantys kleisterių klampą

DE – dekstrozės ekvivalentas, %

KK – katijoninis krakmolas

KK_x – katijoninis krakmolas, kurio pakeitimo laipsnis x

PL – pakeitimo laipsnis

$ThCO_2$ – teorinis anglies dioksido kiekis

TK – tinklinis krakmolas

TK_x – tinklinis krakmolas, kurio tinklinimo laipsnis x

TL – tinklinimo laipsnis, pateiktas pagal tinklinimo procesui naudota tinklinimo agento (epichlorhidrino) ir krakmolo molinį santykį.

ĮŽANGA

Krakmolas yra vienas iš labiausiai gamtoje paplitusių biopolimerų. Dėl palyginti lengvo krakmolo išgavimo, santykinai nedidelės kainos ir bioskaidumo krakmolas įgauna vis didesnį susidomėjimą įvairiose pramonės srityse, tokiose kaip maisto, farmacijos, kosmetikos, tekstilės, bioplastikų, klijų ir popieriaus gamyboje. Tačiau gamtinis krakmolas turi neigiamų savybių tokių kaip retrogradacija ar mažas terminis stabilumas. Todėl norint pagerinti krakmolo savybes ir padidinti panaudojimo galimybes paprastai yra atliekamas cheminis, fiziko-mechaninis ar fermentinis modifikavimas. Modifikuotas krakmolas pasižymi geresnėmis technologinėmis savybėmis ir dėl jų gali būti pritaikytas specifiniuose procesuose. Plačiausiai vartojamas katijoninis krakmolas. Tačiau jis dėl papildomai prijungtų funkcinių grupių pasižymi ne tik kitomis savybėmis, bet gali pakisti tiek jo fermentinės hidrolizės procesas, tiek ir bendras bioskaidumas. Šiuos pokyčius būtina įvertinti gaminant apibrėžtų kokybinių rodiklių hidrolizatus, pvz. popieriaus pramonėje - krakmolinius klijus.

Darbo tikslas: nustatyti katijoninio krakmolo fermentinės hidrolizės priklausomybę nuo fermento kiekio ir pakeitimo laipsnio ir parinkti sąlygas, kuriomis galima gauti krakmolo hidrolizatą tinkamą popieriaus gamybai.

Darbo uždaviniai:

1. Atlikti įvairaus pakeitimo laipsnio katijoninio ir tinklinto krakmolo fermentu α-amilaze katalizuojamą hidrolizę
2. Palyginti gamtinio krakmolo ir modifikuoto krakmolo fermentinės hidrolizės procesus, įvertinant polisacharidų kleisterių klampą ir dekstrozės ekvivalentą
3. Paruošti ir atlikti gamtinio, katijoninio krakmolo bioskaidumo tyrimus MODA 6 aparatu.
4. Palyginti gamtinio ir katijoninio krakmolo bioskaidumą po 28 dienų.
5. Pasiūlyti hidrolizato gamybos liniją tinkamą popieriaus gamybos procesui.

Darbo naujumas ir aktualumas: krakmolas ir krakmolo dariniai plačiai naudojami įvairiose pramonės šakose. Europoje sunaudojama 9 milijonai tonų krakmolo ir jo darinių per metus iš kurių 61% sunaudojama maisto pramonėje, o 29% gofruoto kartono ir popieriaus gamyboje. Pastarojo gamybai ruošiami krakmolo hidrolizatai, todėl svarbu nustatyti fermentinė hidrolizės proceso intensyvumą, nuo katijoninio krakmolo pakeitimo laipsnio, siekiant gauti pasirinktos molekulinės masės polisacharido darinius.

1 LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 Biopolimerai ir polisacharidai

Biopolimerai tai natūraliai susidarančios medžiagos. Biopolimerai yra sintetinami gyvų organizmų tokių kaip bakterijos, augalai, gyvūnai ir grybai. Yra išskiriamos trys biopolimerų grupės, priklausomai nuo prigimties monomerų iš kurių jie sudaryti: polinukleotidai (nukleorūgštys) kurie sudaryti iš nukleotidų, polipeptidai (baltymai) sudaryti iš aminorūgščių ir polisacharidai sudaryti iš cukrų [30].

Polisacharidai tai stambiamolekuliniai junginiai sudaryti iš ilgų monosacharidų grandinių sujungtų glikozidiniais ryšiais. Polisacharidai gali būti linijinės ar šakotos struktūros. Polisacharidai kurie yra sudaryti iš kelių skirtingų monosacharidų yra vadinami heteropolisacharidais, dauguma jų sudaryti iš dviejų skirtingų vienetų. Polisacharidai kuriuose visi monosacharidai vienodi yra vadinami homopolisacharidais. Homopolisacharidams sudarytiems iš gliukozės yra priskiriami glikogenas ir krakmolas [31].

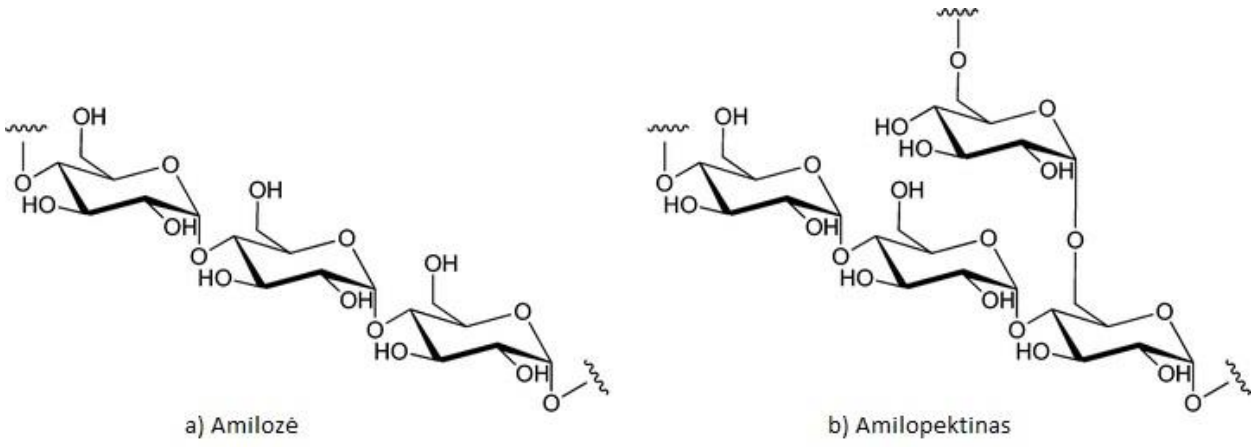
1.2 Krakmolo sudėtis ir struktūra

Krakmolas yra pagrindinis komponentas kaupiamas augaluose kaip energijos atsarga. Jo galima rasti augalų lapuose, šaknyse, šakniagumbiuose, javų gūduose, ankštinių augalų sėklose. Krakmolas turi didelę biologine ir technologine svarbą be to jis yra labiausiai paplitęs karbohidratas žmonių mityboje. Krakmolas patrauklus tuo, kad yra lengvai prieinamas, bioskaidus ir universalus taip pat yra svarstomas kaip energijos ir biodegalų šaltinis kuris pakeistų iškastinį kurą. Išgrynintas krakmolas yra baltų miltelių pavidalo, jo struktūra, cheminė sudėtis, dalelių dydis, forma priklauso nuo to iš kokio augalo jis buvo išgautas ir kokiomis sąlygomis tas augalas augo. Įvairių augalų krakmolo grūdelių dydis gali svyruoti nuo mažiau nei 1 μm iki daugiau nei 100 μm, jie gali būti apvalūs, daugiakampiai, elipsės ir įvairių sudėtingesnių formų [1, 2].

Krakmolas yra polimerų mišinys iš amilozės ir amilopektino makromolekulių kurias sudaro α-D-gliukopiranozės liekanos. Krakmolo cheminė formulė $(C_6H_{10}O_5)_n$. Dvi pagrindinės krakmolo sudedamosios dalys yra amilozė ir amilopektinas (1.1pav), jos sudaro apie 98 – 99% sausos krakmolo grūdelių masės. Tačiau didžiąją dalį sudaro amilopektinas jo kiekis krakmole gali siekti nuo beveik 100% iki mažiau nei 30%. . Kiekvieno jų kiekis priklauso nuo biologinio šaltinio iš kurio buvo išgautas krakmolas apytikriai polisacharidų kiekiai pateikti 1.1 lentelėje. [4, 5].

1.1 lentelė. Amilozės ir amilopektino kiekiai skirtingos botaninės kilmės krakmole.

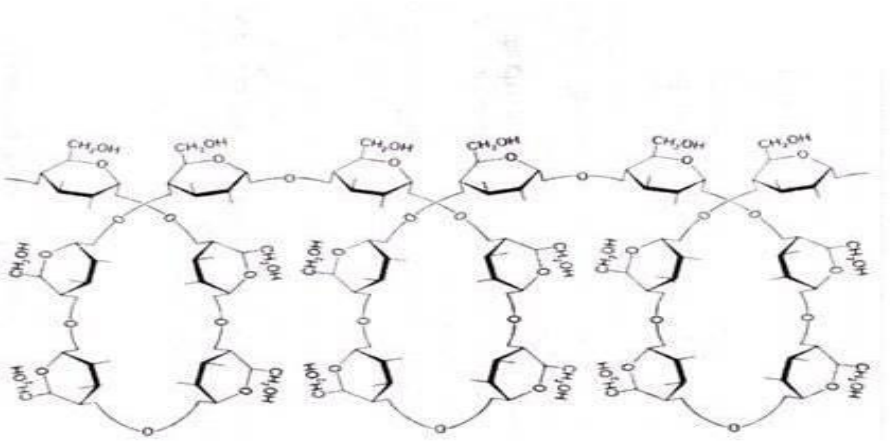
Krakmolo žaliava	Amilozės kiekis, %	Amilopektino kiekis, %
Daug amilozės turintys kukurūzai	50-85	15-50
Kukurūzai	26	74
Vaškiniai kukurūzai	1	99
Kviečiai	25	75
Ryžiai	17	83
Manijokai	17	83
Bulvės	20	80



1.1 pav. Amilozės ir amilopektino makromolekulių fragmentai.

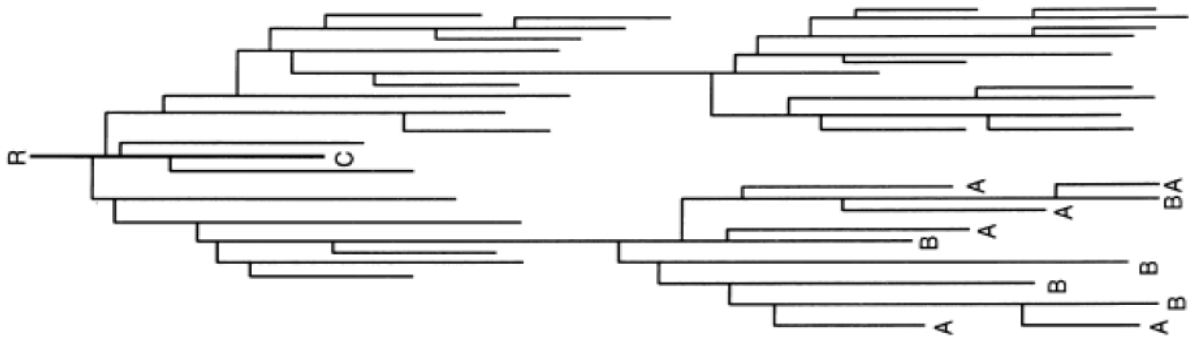
Amilozė ir amilopektinas turi skirtingą struktūrą ir savybes. Amilozė yra palyginti ilga linijinės struktūros makromolekulė sujungta α-1,4-glikozidiniais ryšiais su keliomis šakomis prisijungusiomis α-1,6-glikozidiniais ryšiais, joje gali būti nuo 500 – 20 000 gliukozės liekanų priklausomai nuo žaliavos iš kurios išgautas krakmolas. Vidutinė amilozės molekulinė masė svyruoja nuo $1 \cdot 10^5$ iki $1 \cdot 10^6$ g/mol [3, 6, 7]. Dėl paprastumo amilozė iliustracijose vaizduojama kaip tiesi grandinė, tačiau ji dažnai yra spiralės formos (1.2 pav.). Vandenilio atomai yra vidinėje spiralės dalyje dėl to jos vidus yra hidrofobinis, kas leidžia amilozei sudaryti kompleksus su laisvosiomis riebalų rūgštimis, riebalų rūgščių ir glicerolio sąveikos produktais, kai kuriais alkoholiais ir jodu [8]. Kompleksas su jodu yra mėlynos spalvos, todėl gali būti naudojamas krakmolui turinčiam amilozės nustatyti, reakcija yra labai jautri nes pamėlynuoja net ir labai praskiesti krakmolo tirpalai. Kompleksu sudarymas su lipidais yra gerai žinoma amilozės spiralės savybė ypatingi su mono- ir digliceridais. Ši savybė priklauso nuo įvairių veiksnių tokių kaip temperatūra, pH, maišymo trukmė, riebalų rūgščių ir gliceridų sandaros. Toki kompleksai gali

daryti įtaką krakmolo savybėms: kleisterizacijos temperatūrai, kleisterio struktūrai ir retrogradacijos procesui.



1.2 pav. Amilozės spiralinės struktūros fragmentas.

Amilopektino molekulės yra vienos didžiausių gamtoje, daug didesnės nei amilozės, ir daugelyje krakmolo rūšių yra pagrindinis komponentas jo molekulinė masė gali būti nuo $1 \cdot 10^6$ iki $1 \cdot 10^9$ g/mol priklausomai nuo žaliavos iš kurios išgautas krakmolas. Amilopektinas turi labai šakotą struktūrą kur gliukozės likučiai sujungti α-1,4- ir α-1,6-glikozidiniais ryšiais. Linijinė dalis sudaryta iš α-1,4-glikozidiniais ryšiais sujungtų likučių prie kurių α-1,6-glikozidiniais ryšiais jungiasi šakos[6]. Vidutinėje amilopektino molekulėje α-1,6- ryšiai sudaro apie 4 – 6% visų ryšių. Tai gali atrodyti nedidelis procentas, bet vidutinėje molekulėje susidaro daugiau nei 20 000 šakų, tačiau pačios šakos nėra didelės. Amilopektino grandinės yra skirstomos į tris tipus A, B ir C pagal grandinės ilgį ir prisijungimo vietą (1.3 pav.). Trumpiausio grandinės A neturi atšakų. B tipo grandinės yra šakotos prie jų prisijungia A tipo arba kitos B tipo grandinės. C tipo grandinė būna tik viena, ji turi vieną redukuojantį galą R ir turi prijungtas B tipo grandines. B tipo grandinės dar gali būti suskirstytos i B1, B2 ir B3 pagal ilgį. Dėl trumpų α-1,4-glikozidiniais ryšiais sujungtų grandinių amilopektinas negali sudaryti stabilaus komplekso su jodu. Nuo amilozės atskirtas amilopektinas prijungia tik nedidelį kiekį jodo dėl to susidaro rusvai violetinės spalvos kompleksas [9].



1.3 pav. Vėduoklės pavidalo amilopektino struktūros modelis, vaizduojantis šoninių grandinių jungimasi į makromolekulę.

1.3 Krakmolo kleisterizacija ir retrogradacija

Išgrynintas grūdelių pavidalo krakmolas yra netirpus vandenyje ir organiniuose tirpikliuose kambario temperatūroje. Tačiau gali būti ištirpintas šarmuose ir kai kurių druskų tirpaluose [3]. Kaitinant krakmolą vandenyje jo granulės pradeda brinkti, amilozė pereina į tirpalą granulės išbrinksta ir jų tūris padidėja kelis ar keliolika kartų, susidaro mikrogeliai kurie sąveikauja tarpusavyje, dėl to susidaro klampūs kleisteriai, o toks reiškinys vadinamas krakmolo keisterizacija. Jei krakmolas kaitinamas žemiau kleisterizacijos temperatūros jo granulės išbrinksta tačiau šis procesas yra grįžtamas. Kleisterizacijos savybės priklauso nuo amilopektino struktūros, amilozės kiekio ir fosfatinių grupių kiekio [10]. Krakmolo grūdeliuose amilozė yra amorfinės būsenos kas mažina kristališkumą ir kleisterizacijos entalpijos pokytį. Daug amilozės turinčio krakmolo kleisterizacijos temperatūra yra aukštesnė nei įprasto dėl ilgesnių amilopektino šakų grandinių . Krakmolas kurio amilopektino grandinėje yra prisijungę daugiau fosforo turinčių darinių pasižymi žemesne kleisterizacijos temperatūra [11].

Kai krakmolo kleisteris atvėsinamas ir yra ilgai laikomas jo makromolekulės pradeda rekristalizuotis. Toks procesas vadinamas krakmolo kleisterio retrogradacija. Retrogradacijos greitis priklauso nuo amilozės kiekio, amilopektino struktūros, lipidų kiekio ir laikymo temperatūros. Dėl linijinės struktūros amilozės retrogradacija vyksta greičiau nei amilopektino [12]. Amilopektino retrogradacija gali trukti kelias dienas ar net ilgiau, dėl trumpų šakų grandinių. Amilopektino su labai ilgomis atšakomis retrogradacija yra greitesnė nes jo savybės yra panašios į amilozės. Amilozė kuri yra sudariusi kompleksus su lipidais nėra linkusi retrograduoti.

Dažnai krakmolas kaip gamtinis polimeras naudojamas įvairiose pramonės šakose, visų pirma – maisto, popieriaus, tekstilės pramonėje. Tačiau dažnai dėl aukščiau paminėto trūkumo, t.y. retrogradacijos gamtinio krakmolo vartojimas yra ribotas. Todėl dažniausiai gamtinis polisacharidas modifikuojamas, suteikiant jam naujų vertingų technologinių ir cheminių savybių.

1.4 Modifikuotas krakmolas

Krakmolas gali būti modifikuojamas chemiškai, mechaniškai ar kombinuotai. Modifikuojant krakmolą suteikiama naujų savybių. Įprastai gamtinio krakmolo trūkumai yra per didelė klampa esant mažam sausos medžiagos kiekiui, retrogradacija, mažas terminis stabilumas ir atsparumas pH pokyčiams. Tinkamai modifikuojant galima pakeisti vieną ar daugiau iš šių savybių:

- tirpumą karštame ar kambario temperatūros vandenyje;
- krakmolo molekulių krūvį;
- atsparumą didelės koncentracijos druskų aplinkai;
- atsparumą pH pokyčiams;
- atsparumą temperatūrai;
- brinkimą šaltame vandenyje;
- disociacijos gebą;
- sąveiką su kitomis medžiagomis;
- skaidumą;
- kleisterizacijos charakteristikas;
- retrogradacijos procesą.

1.4.1 Chemiškai modifikuotas krakmolas

Cheminis modifikavimas yra labiausiai pramonėje paplitęs būdas krakmolo savybėms pagerinti. Cheminis modifikavimas apima krakmolo reakcijas ar jo apdorojimą su cheminiais reagentais taip prijungiant naujas grupes, paveikiant makromolekulių destrukciją, pagreitinant oksidaciją ar molekulių persigrupavimą [13].

Kiekviename gliukozės vienete krakmolo makromolekulėje yra dvi antrinės hidroksilo grupės, kurios yra prie 2 ir 3 anglies atomų ir viena pirminė prie 6 anglies atomo. Visos šios hidroksilo grupės yra potencialiai reaktingos ir gali suformuoti vandenilinius ryšius, būti oksiduotos ar redukuotos, tai pat suformuoti esterius ir eterius arba būti pakeistos kitomis funkcinėmis grupėmis [14]. Visos trys hidroksilo grupės turi skirtingus reaktingumus. Pirminė grupė kuri yra prie 6 anglies atomo yra reaktingesnė nei antrinės. Krakmolo cheminės modifikacijos esmė yra pakeisti šias grupes arba prie jų prijungti funkcines grupes, jos gali būti jonogeninės (katijoninės, anijoninės) arba nejonogeninės.

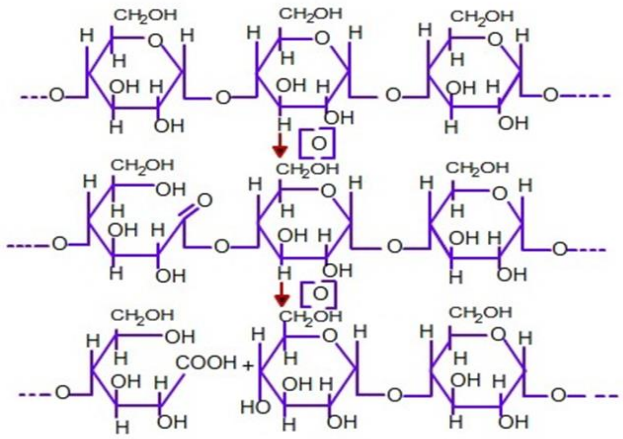
Krakmolo cheminis modifikavimas tai hidrolizė rūgštimis, oksidacija, grupių pakeitimas ir tinklinimas. Cheminis krakmolo modifikavimas paprastai vykdomas praskiestuose tirpaluose, dispersijose arba pusiau sausuoju arba sausuoju būdu [15, 16].

1.4.1.1 Krakmolo oksidinimas

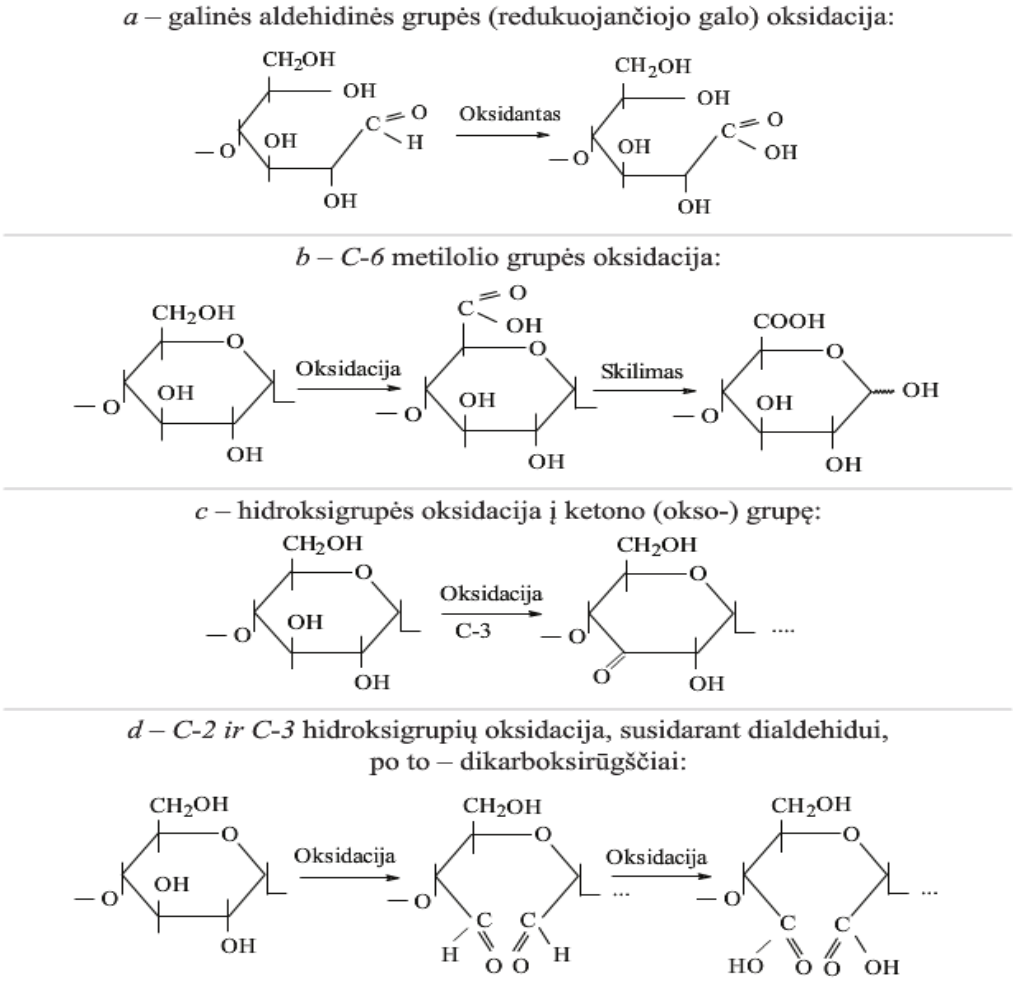
Krakmolą galima oksiduoti tiek suspensijoje, tiek kleisteryje ir naudoti labai įvairius oksidatorius. Priklausomai nuo naudojamo oksidatoriaus ir proceso sąlygų, krakmolo polisachariduose atsiranda karboksi- ir karbonilo grupių, ir tuo pat metu vyksta jų grandinių destrukcija, t.y. vienas modifikatorius dalyvauja dviejose skirtingose reakcijose.

Krakmolo balinimas taip pat priskiriamas silpnai oksidacijai. Balintame krakmole prijungtų karboksigrupių yra mažiau už 0,1 %. Krakmolas laikomas oksiduotu, jeigu jame yra daugiau kaip 0,1 % karboksigrupių. Pramoninio oksiduoto krakmolo PL pagal karboksigrupes yra 0,01–0,04, o pagal karbonilgrupes – 0,005–0,01 [37].

Kai kuriose srityse reikalingi mažos klampos krakmolo tirpalai. Tokiems tikslams vykdoma krakmolo polisacharido makromolekulių destrukcija – molekulinis svoris yra sumažinamas oksidinant (1.4 pav.). Dažniausiai naudojant oksidacijos agentai yra hipochloritai, peroksidai, permanganatai [3]. Hidroksilo grupės krakmolo makromolekulėse pirmiausiai oksiduojamos iki karbonilinių grupių, o po to iki karboksi grupių (1.4 pav.). Oksidinimo laipsnis priklauso nuo to kiek vidutiniškai gliukozės vienete atsirado karbonilinių ir karboksigrupių. Palyginus su paprastu krakmolu oksiduotas krakmolas turi daug mažesne klampa ir didesnį suspensijos stabilumą net esant didelėms koncentracijoms. Oksiduoto krakmolo savybės yra labai panašios į rūgštimis hidrolizuoto krakmolo, bet oksiduoto krakmolo kleisteris yra skaidresnis ir stabilesnis [21].



1.4 pav. Krakmolo makromolekulės perskėlimas oksidacijos metu.

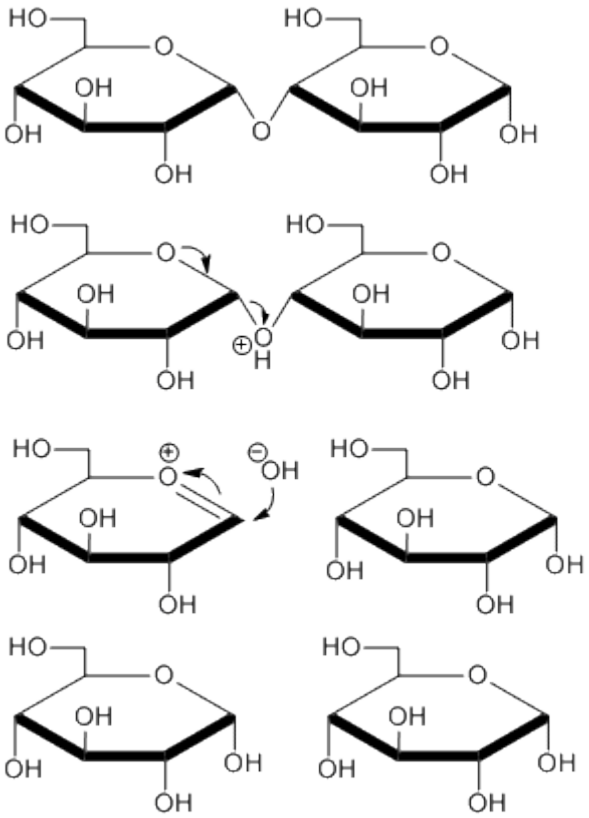


1.5 pav. Krakmolo oksidinimo reakcijos.

1.4.1.2 Krakmolo rūgštinė hidrolizė

Modifikacija rūgštimis gali pakeisti krakmolo struktūrą ir fizikochemines savybes, tokias kaip molekulinė masė, kristališkumas, klampa, kleisterizacijos temperatūra [17]. Paprastai krakmolas veikiamas druskos arba sieros rūgštimis atitinkamą laiką temperatūroje žemesnėje už kleisterizacijos [18]. Vykstant procesui hidroksonio jonai veikia glikozidinio deguonies atomus ko pasekoje nutrūksta glikozidiniai ryšiai (1.5 pav.). Tokiu būdu amorfinės dalys gali būti hidrolizuotos, o kristalinės sritys gali būti atskirtos veikiant mechaniškai [19]. Rūgštimis hidrolizuotas krakmolas paprastai turi didesnį kristališkumo laipsnį nei gamtinis.

Po apdorojimo rūgštimis galima gauti vandeninę nanokristalų suspensiją. Kai kuriais atvejais modifikuojant krakmolą rūgštimis galima padidinti jo tirpumą ir kleisterio stabilumą, taip pat sumažinti jo klampą [20].



1.6 pav. Krakmolo rūgštinės hidrolizės schema.

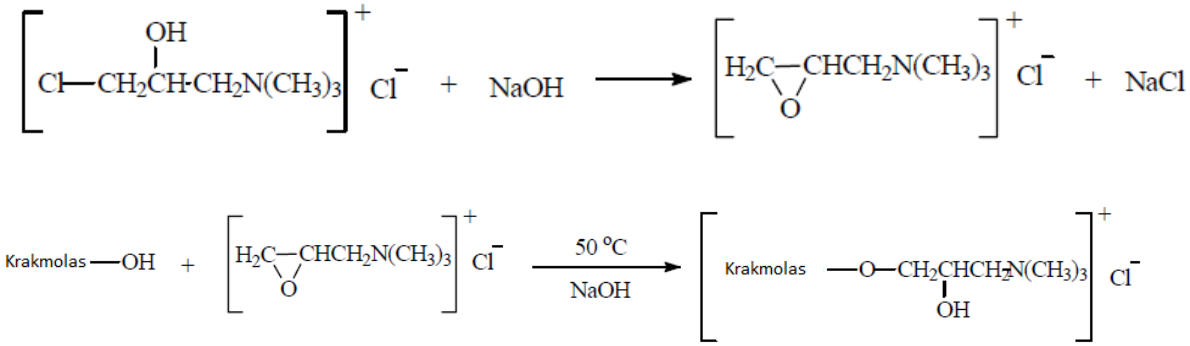
1.4.1.3 Krakmolo tinklinimas

Tinklinimas tai skersinių ryšių sudarymas tarp gretimų makromolekulių. Norint sutinklinti tokius polimerus kaip krakmolas turinčius hidroksigrupes reikia tinklinimo agento kuris galėtų reaguoti bent su dviem hidroksigrupėmis vieno polimero ar gretimose polimerų makromolekulėse. Krakmolo tinklinimui paprastai naudojami bifunkciniai ar daugiafunkciniai reagentai kurie suformuoja eterio, esterines ar kitokias jungtis su hidroksigrupėmis. Natrio trimetafosfatas, natrio trifosfatas, epiclorhidrinas, fosforo chloroksidas yra dažniausiai naudojami tinklinimo agentai. Keičiant tinklinimo agento kiekius, krakmolo koncentraciją, pH ir temperatūrą galima kontroliuoti tinklinimo laipsnį [22, 23].

Tinklinimas gali būti atliekamas kai krakmolas yra granulių ar kleisterio būsenoje. Reakcijos sąlygos priklauso nuo to koks tinklinimo agentas naudojamas ir kokį produktą pageidaujama gauti. Reakcijos paprastai atliekamos neutralioje ar šarminėje aplinkoje. Kai kuriais atvejais kai naudojami aldehidai tinklinimas turėtų būti atliekamas rūgštinėje aplinkoje [23]. Krakmolui sutinklinti be jokių priedų gali būti panaudotas švitinimas. Tam tikromis sąlygomis susidarę laisvieji radikalai gali jungtis tarpusavyje, susidarant kovalentiniams tarpmolekuliniams ryšiams. Lyginant su gamtiniu krakmolu, tinklintas krakmolas yra atsparesnis mechaniniam, terminiam ir cheminiam poveikiui yra netirpus[28].

1.4.1.4 Krakmolo katijonizavimas

Prie polisacharido makromolekulių prijungus fragmentus kurie turi katijonines grupes, gaunamas katijoninis krakmolas. Dažniausiai naudojamas amonio grupių turintis katijoninis krakmolas yra gaunamas naudojant 2,3-epoksipropiltrimetilamonio chloridą arba stabilesnę chlorhidrino formą 3-chloro-2-hidroksipropiltrimetilamino chloridą, 4-chlor-2-butenil-trimetilamino chloridą, 2-dietilaminoetil chloridą ir kitus tretinių ar ketvirtinių amino grupių turinčius eterifikavimo agentus. žemiau pateikta krakmolo reakcija su 3-chloro-2-hidroksipropiltrimetilamino chloridu:



Katijoninio krakmolo dariniai gali būti ruošiami periodiniu būdu granulių suspensijose, kleisteryje ir pusiau sausame būvyje arba tolydiniu ekstruzijos būdu [24].

1.4.2 Krakmolo fiziko-mechaninis modifikavimas

Didžioji dalis fiziko-mechaninių modifikavimo būdų yra atliekami apdorojant vandeniu, kaitinant ir/arba naudojant mechaninį poveikį. Savybės gautos taip modifikuojant krakmolą priklauso nuo naudojamos temperatūros, kaitinimo trukmės ir nuo to iš kokios žaliavos gauta krakmolas. Taip pat labai priklauso nuo drėgmes kiekio krakmole proceso atlikimo metu [25].

Brinkinimas, dalelių smulkinimas, drėgmės pakeitimas yra įprastiniai fiziko-mechaniniai modifikavimo būdai. Kai kuriems specifiniams taikymams, tokiems kaip riebalų pakaitalų gamybai ar plastikinių plėvelių dengimui, reikalingas mažesnis granulių dydis. Malimas rutuliniu malūnu, homogenizavimas aukštame slėgyje ir ekstruzija yra dažniausiai taikomi metodai dalelių smulkinimui. [25, 26].

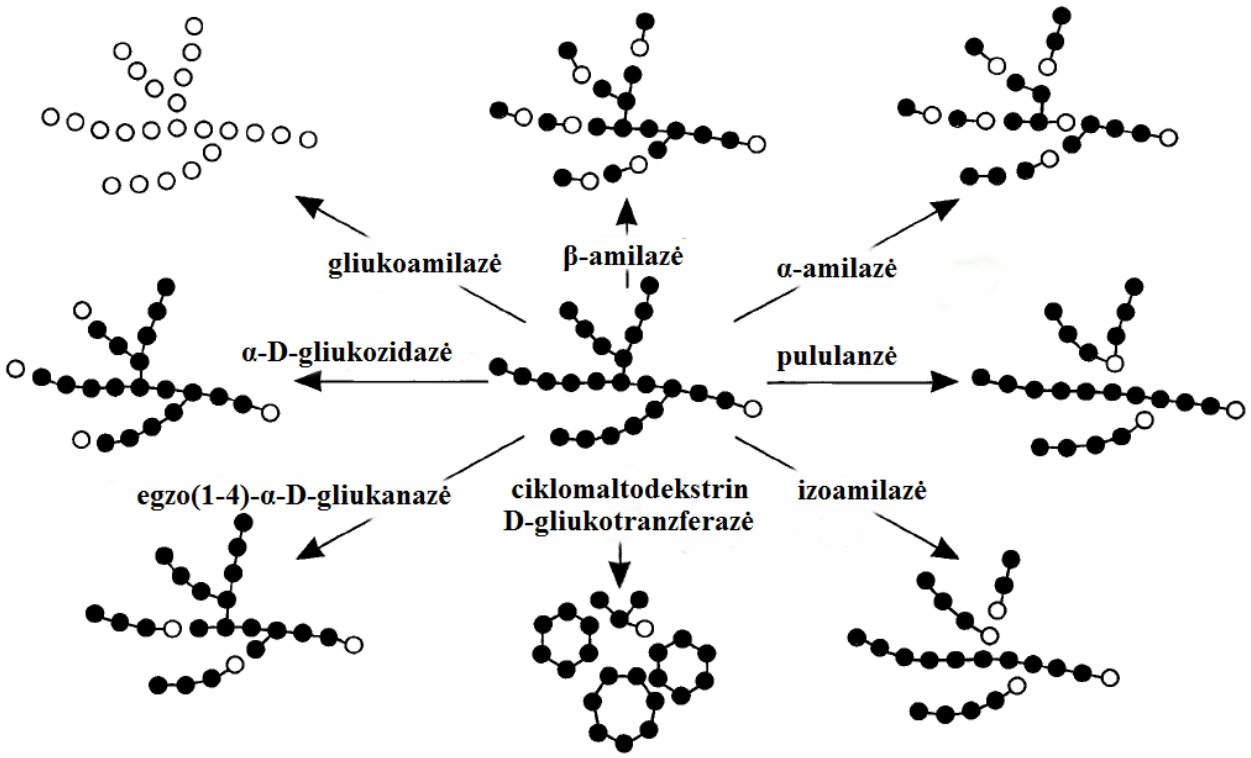
1.4.3 Kombinuotas krakmolo modifikavimas

Daugeliu atveju norint gauti reikiamas krakmolo savybes vieno tipo modifikacijos nepakanka. Todėl naudojamas kombinuotas modifikavimas. Vienas tokių metodų yra cheminė ekstruzija.

Ekstruzija yra pakankamai nesudėtingas procesas krakmolo modifikacijai. Skirtingų savybių krakmolui gauti į ekstruderį galima pridėti įvairių chemikalų, tokių kaip rūgštys, šarmai, tinklinmo agentai ar fermentai, kurie reaguoja su krakmolu. Daug modifikuotų krakmolų, tokių kaip karboksimetilintas krakmolas, krakmolo fosfatai, krakmolo riebalų rūgščių esteriai, katijoniniai krakmolai ir anijominiai krakmolai, galima pagaminti ekstruzijos būdu [15, 16].

1.4.4 Fermentinė krakmolo hidrolizė

Fermentai kurie katalizuoja krakmolo hidrolizę yra α-amilazė, α-D-gliukozidazė, izoamilazė, pululanzė, β-amilazė, gliukoamilazė, egzo(1-4)-α-D-gliukanazė, ciklomaltodekstrin D-gliukotranzferazė. Kai kurie fermentai toki kaip gliukoamilazė hidrolizuoja abu α-1,4 ir α-1,6 ryšius, kiti toki kaip amilazės ar grandinės šakas atskeliantys fermentai hidrolizuoja specifiškai tik α-1,4 arba α-1,6 ryšius (1.6 pav.).



1.7 pav. Fermentai ir jų skeliamos vietos krakmolo grandinėje. ○ – redukuotos grupės, ● – neredukuotos grupės.

Amilazės gali būti išskirtos į du pogrupius, endoamilazes kurios atsitiktinai hidrolizuoja vidinius α-1,4 glikozidinius ryšius nepriklausomai nuo α-1,6 ryšių. Egzoamilazės gali hidrolizuoti tik linijines grandines nuo neredukuoto galo ir kai fermentas pasiekia α-1,6 ryšį hidrolizė sustoja [29].

Visos α-amilazės (α-1,4-gliukano-4-gliukanohidrolazė; EC 3.2.1.1) randamos įvairiuose organizmuose įskaitant bakterijas, grybus, augalus ir gyvūnus turi endo aktyvumą. Hidrolizuojant krakmolą su α-amilaze gaunamas gliukozės, maltozės ir oligosacharidų mišinys. Tarpiniai hidrolizės produktai yra dekstrinai – įvairios molekulinės masės polisacharidai: amilodekstrinai, chemine struktūra ir savybėmis panašūs į krakmolą, mažesni eritrodekstrinai ir maltodekstrinai, savybėmis panašūs į maltozę [27, 29]

Dekstrozės ekvivalentas yra molekulių turinčių aldehidinių ar karbonilinių grupių kiekis produkte išreikštas kaip dekstrozė procentais sausoje medžiagoje.

1.5 Bioskaidumas

Biologinis skaidymas tai procesas kurio metu vietiniai ar papildomai įvesti mikroorganizmai skaido organinius junginius per metabolitinius kelius. Organiniai junginiai yra suskaidomi iki anglies dioksido, vandens, metano, neorganinių junginių ar biomasės. Organinės medžiagos gali būti skaidomos aerobinėmis arba anaerobinėmis sąlygomis. Polimerų bioskaidumas priklauso nuo jų molekulinės masės, kristališkumo laipsnio ir fomos. Kai skaidymo metu polimerai yra suskaidomi į trumpesnes grandines ar mažesnes molekules tokias kaip oligomerai, dimerai ar monomerai toks procesas yra vadinamas depolimerizacija. Kai galutiniai biodegradacijos produktai yra anglies dioksidas, vanduo ar metanas toks procesas vadinamas mineralizacija [32, 33].

1.6 Krakmolo panaudojimas popieriaus ir kartono pramonėje

Krakmolas yra svarbus komponentas popieriaus pramonėje. Krakmolas yra trečioje vietoje pagal sunaudojamą masę popieriaus gamyboje ir perdirbime jį lenkia tik celiuliozės pluoštas ir mineraliniai pigmentai. Krakmolas yra naudojamas kaip flokuliantas taip pat kaip klijai gofruotam kartonui klijuoti, kaip rišamoji medžiaga paviršiams dengti ir kitokiems produktams [34]. Krakmolas yra palyginti nebrangus ir nesunkiai gaunamas produktas, dėl to yra patrauklus popieriaus pramonei. 2013 metų duomenimis Europoje buvo sunaudota 9 milijonai tonų krakmolo ir jo darinių iš kurių 61% sunaudojama maisto pramonėje, 5% farmacijoje, 29% gofruoto kartono ir popieriaus gamyboje ir 5% kitose srityse. Iš sunaudotų 9 mln. tonų krakmolo 24% sudaro

nemodifikuotas krakmolas, 20% modifikuotas krakmolas ir 56%. sunaudota saldikliams gauti [35].

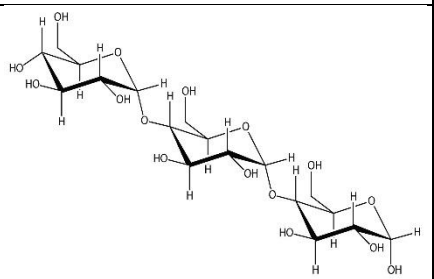
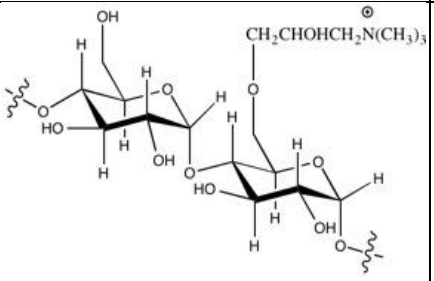
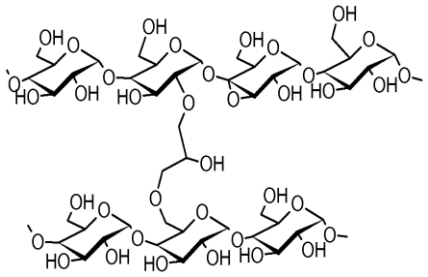
Nemodifikuotas krakmolas retai kada naudojamas popieriaus pramonėje. Tam kad gauti krakmolą su reikalingomis savybėmis popieriaus gamyboje jis yra modifikuojamas. Modifikuojant pakeičiamos tokios savybės kaip kleisterizacijos temperatūra, tirpumas vandenyje, granulių dydis ir kitos. Dažniausiai atliekamos šios modifikacijos rūgštinė hidrolizė, oksidavimas, fermentinė hidrolizė, teminis poveikis ir fiziko-mechaninė modifikacija. Terminiu poveikiu, rūgštine hidrolizė ir fermentine hidrolizė yra naudojama sumažinti krakmolo molekulinę masę suskaidant jo makromolekules. Taip modifikuoto krakmolo klampa sumažėja ir jis gali būti naudojamas popieriaus padengimui

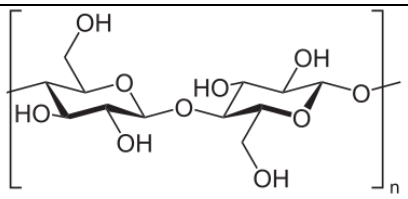
Gofruoto kartono gamyboje krakmolas naudojamas popieriaus lapų suklijavimui. Klijai padaryti iš krakmolo turi turėti gerą atsparumą šlyties jėgoms ir jų retrogradacija turi būti lėta. Kad nepablogėtų goruoto kartono lankstumas gofrą su kartonu reikia suklijuoti naudojant kuo mažesnį klijų kiekį. Tačiau jei klijų užtepama per mažai džiovinant kartono lapus jie pradeda lenktis. Kad kartono gaminimo linija galėtų veikti dideliu greičiu reikalingas klijų atsparumas šlyties jėgoms kitu atveju klijai gali suskystėti ir persigerti per popierių tinkamai jo nesuklijuodami [36].

2 MEDŽIAGOS IR TYRIMŲ METODAI

2.1 Naudotos medžiagos

2.1 lentelė Tyrimų metu naudotos medžiagos

Medžiagos pavadinimas	Gamintojas	Formulė	Pastabos
Bulvių krakmolas	BEROXFOOD, Vokietija		
Katijoninis krakmolas	KTU, Cheminės technologijos fakultetas, polimerų chemijos ir technologijos katedra.		PL = 0,1; 0,2; 0,3; 0,54
Tinklintas krakmolas	KTU, Cheminės technologijos fakultetas, polimerų chemijos ir technologijos katedra.		TL = 0,005; 0,1
Vario sulfato pentahidratas	Eurochemicals,	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	
Kalio natrio tetrato tetrahidratas	VAINESA, Lietuva	$KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$	99%
Natrio hidroksidas	AVSISTA, Lietuva pagaminta Čekija	NaOH	0,1 mol/l fiksanalas ir grynas 99.8%
Kalio jodidas	Eurochemicals, pagaminta Lenkijoje	KI	99.5%

Sieros rūgštis	REACHEM, Slovakija	H_2SO_4	96,7%
Natrio tiosulfatas	AVSISTA, Lietuva	$Na_2S_2O_3$	0,1 mol/l fiksanalas
Druskos rūgštis	AVSISTA, Lietuva	HCl	0,1 mol/l fiksanalas
α – amilazė „Liquozyme supra“	Novozymes, Danija		
Mikrokristalinė celiuliozė)	PENTA, Čekija		
Silikagelis, oranžinis indikatorinis	CENTRO-CHEM, Lenkija	SiO_2	
Kalcio chloridas	REACHEM, Slovakija	$CaCl_2$	97%
Kompostas	Biohumus & soil, Lietuva	sudėtis – biohumusas, durpės, smėlis; maistingos medžiagos (mg/l) – N=90-150; P=20-30; K=160-280; drėgmė – 40-50%.	
	UAB Kaprolita, Lietuva	sudėtis – organinės medžiagos, durpės, smėlis; maistingos medžiagos (%) – N=0.5-1; P=0.03-1; K=0.02-2, Ca=2-4; Mg=0.1-1; drėgmė=55.4%	
Sausas granuliuotas vištų mėšlas	UAB Gepeksa, Lietuva		

2.2 Metodikos

2.2.1 Krakmolo viskozimetrinis tyrimas

Laboratorinėmis sąlygomis krakmolo ir jo mišinių kleisterizacija, hidrolizė tirta firmos BRABENDER prietaisu Micro Visco-Amylo-Graph (Vokietija). Ruošiamos 100 g 3 % krakmolo suspensija iš gamtinio, katijoninio (PL = 0,1; 0,3; 0,54) ar tinklinto (TL = 0,005; 0,1) krakmolo. Į stiklinę įdedama krakmolo ir pripilama distiliuoto vandens iki 100 g. Po pH sureguliavimo dozuojamas fermento tirpalas. Katijoninis krakmolas kurio PL = 0,3 ir 0,54 iš pradžių užpilamas reikiamu kiekiu vandens ir paliekamas kelioms valandoms, kad išbrinktų ir tik tada reguliuojama pH vertė ir dozuojamas fermentas.

Buvo sekamas 100 g pasirinktos koncentracijos vandeninės krakmolo suspensijos klampos (įvertintos santykiniais Brabenderio vienetais (BU)) kitimas, keliant temperatūrą 3^{o}C/min greičiu nuo 20^{o}C iki 80^{o}C, išlaikant šioje temperatūroje 10 min ir 9^{o}C/min greičiu pakaitinama iki 93^{o}C išlaikoma 5 min ir po to 7,5^{o}C/min greičiu aušinant iki 50^{o}C išlaikoma 5min. Suspensija maišoma 250 aps./min greičiu. Temperatūros ir trukmės režimai eksperimentinių tyrimų metu buvo nekeičiami. Iš gautų viskoamilogramų matyti kleisterizacijos pradžia, maksimali klampa ir klampa esant 50^{o}C temperatūrai.

Krakmolo fermentinė hidrolizė

Fermentinė hidrolizė atlikta aukščiau aprašyto viskozimetrinio metodo sąlygomis, naudojant tą patį prietaisą. Suspensijos pH reguliavimui naudoti 0,1N druskos rūgšties ar 0,1N natrio hidroksido tirpalai. Fermentinei krakmolo hidrolizei naudotas fermentas *„Liquozyme supra“*, kuris kleisterizuoto krakmolo makromolekules iki dekstrinų geriausiai suskaldo 45–75^{o}C temperatūroje, kai terpės pH yra 5–7, todėl pasirinkto eksperimento metu nustatyta pH = 6 ± 0,15. Tyrimams naudotas distiliuotu vandeniu 100–10000 kartų skiestas fermento tirpalas, paskaičiuotas fermento kiekis ml tenkantis 1 kg sauso krakmolo. Toks praskiestas tirpalas laikomas šaldytuve iki 2 savaičių, vėliau ruošiamas iš naujo.

2.2.2 Dekstrozės ekvivalento nustatymas

Darbinių tirpalų paruošimas:

Felingo tirpalai

A. Vario sulfato ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) tirpalas yra gaminamas ištirpinant 34,64 g vario sulfato pentahidrato distiliuotame vandenyje ir praskiedžiant iki 500 ml.

B. Kalio natrio tetrato tetrahirato tirpalas ruošiamas ištirpinant 173 g kalio natrio tetrato tetrahidrato ir 50 g natrio hidroksido distiliuotame vandenyje ir praskiedžiant iki 500ml. Paliekamas stovėti per naktį.

30% kalio jodido (KI) tirpalas ruošiamas ištirpinant 150 g kalio jodido distiliuotame vandenyje ir praskiedžiant iki 500 ml. Reagentas turi būti laikomas tamsioje vietoje.

28% sieros rūgšties (H_2SO_4) tirpalas ruošiamas 85 ml koncentruotos sieros rūgšties maišant atsargiai supilama į 400 ml distiliuoto vandens. Kai tirpalas atvėsta iki kambario temperatūros praskiesti iki 500 ml.

250 ml kolboje pasveriama X g krakmolo tirpalo po krakmolo apdorojimo BRABENDER viskoamilografe, įpilama 10 ml vario sulfato ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) ir 10 ml kalio natrio tetrato terahidrato darbinių tirpalų. Viskas sumaišoma ir praskiedžiama iki 50 ml. Į kolbą įdedami 2 ar 3 stikliniai rutuliukai. Kolba uždengiama su piltuvėliu. Kolba su mišiniu kaitinama per 3 min užverdama ir toliau verdama dar 2 min. Po virinimo mišinys greitai ataušinamas ledo vonelėje ar po šaltu vandeniu. Ataušinus mišinį iki kambario temperatūros įpilama 10 ml 28% sieros rūgšties (H_2SO_4) ir 10 ml 30% kalio jodido (KI) tirpalo. Mišinys titruojamas 0,1 N natrio tiosulfato ($Na_2S_2O_3$) tirpalu, jei reikia naudojamas krakmolo indikatorius.

Pagal gautus titravimo rezultatus iš 2.2 lentelės parenkamas dekstrozės kiekis D (mg) ir apskaičiuojamas dekstrozės ekvivalentas (DE), %:

$$DE = \frac{D \cdot 100}{m_{medž} \cdot 1000}$$

Čia : D – dekstrozės kiekis, mg

$m_{medž}$ – bandinio masė, g

Pastaba: V - bandinio titravimui sunaudotas 0,1 N natrio tiosulfato kiekis, ml; V_0- tuščiam bandiniui sunaudotas 0,1 N natrio tiosulfato kiekis, ml

2.2 lentelė Dekstrozės kiekio priklausomybė nuo sunaudoto 0,1 N natrio tiosulfato kiekio [38].

$V_0 - V$	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
0,1 N, $Na_2S_2O_3$, ml	Dekstrozės kiekis, mg									
0.0 mL	0.0	0.3	0.7	1.0	1.3	1.6	1.9	2.2	2.5	2.8
1.0	3.2	3.5	3.8	4.1	4.4	4.7	5.0	5.3	5.6	5.9
2.0	6.3	6.6	6.9	7.2	7.5	7.8	8.1	8.5	8.8	9.1
3.0	9.4	9.8	10.1	10.4	10.7	11.0	11.4	11.7	12.0	12.3
4.0	12.6	13.0	13.3	13.6	14.0	14.3	146	15.0	15.3	15.6
5.0	15.6	16.3	16.6	16.9	17.2	17.6	17.9	18.2	18.5	18.9
6.0	19.2	19.5	19.8	20.0	20.5	20.8	21.1	21.4	21.8	22.1
7.0	22.4	22.7	23.0	23.3	23.7	24.0	24.3	24.6	24.9	25.2
8.0	25.6	25.9	26.2	26.6	26.9	27.3	27.6	28.0	28.3	28.6
9.0	28.9	29.3	29.6	30.0	30.3	30.6	31.0	31.3	31.6	31.9
10.0	32.3	32.7	33.0	33.3	33.7	34.0	34.3	34.6	35.0	35.3
11.0	35.7	36.0	36.3	36.7	37.0	37.3	37.6	38.0	38.3	38.7
12.0	39.0	39.3	39.6	40.0	40.3	40.6	41.0	41.3	41.7	42.0
13.0	42.4	42.8	43.0	43.4	43.7	44.1	44.4	44.8	45.2	45.5
14.0	45.8	46.2	46.5	46.9	47.2	47.6	47.9	48.3	48.6	48.9
15.0	49.3	49.6	49.9	50.3	50.7	51.1	51.4	51.7	52.1	52.4
16.0	52.8	53.2	53.5	53.9	54.2	54.5	54.9	55.3	55.6	56.0
17.0	56.3	56.7	57.0	57.3	57.7	58.1	58.4	58.8	59.1	59.5
18.0	59.8	60.1	60.5	60.9	61.2	61.5	61.9	62.3	62.6	63.0
19.0	63.3	63.6	64.0	64.3	64.7	65.0	65.4	65.8	66.1	66.5
20.0	66.9	67.2	67.6	68.0	68.4	68.8	69.1	69.5	69.9	70.3
21.0	70.7	71.1	71.5	71.9	72.2	72.6	73.0	73.4	73.7	74.1
22.0	74.5	74.9	75.3	75.7	76.1	76.5	76.9	77.3	77.7	78.1
23.0	78.5	78.9	79.3	79.7	80.1	80.5	80.9	81.3	81.7	82.1
24.0	82.6	83.0	83.4	83.8	84.2	84.6	85.0	85.4	85.8	86.2
25.0	86.6	87.0	87.4	87.8	88.2	88.6	89.0	89.4	89.8	90.2
26.0	90.7	91.1	91.5	91.9	92.3	92.7	93.1	93.5	93.9	94.3
27.0	94.8									

2.2.3 Krakmolo darinių bioskaidumo nustatymas

Krakmolo ir jo mišinių bioskaidumas buvo tiriamas SAIDA FDS prietaisu MODA – 6 (Japonija) pagal ISO 14855-2 reikalavimus. Pirmiausia paruošiamas kompostas, kuris buvo naudojamas kaip polisacharidų tyrimo terpė. Svarbu, kad komposte nebūtų didelių dalelių tokių kaip stiklas ar metalo gabalėliai juos reikia pašalinti. Tada kompostas sijojamas sieto akučių dydis 2,5 mm. Bandymui buvo paruoštas komposto mišinys: 46% organinio mišinio biohumuso pagrindu („Kaprolita“), 53% žemės mišinio biohumuso pagrindu („Biohumus and Soil“), 1%

sauso viščiukų mėšlo (prieš naudojimą išbrinkintas). Nustatomas sausų medžiagų kiekis (drėgnomačiu prie 105 °C), kintamų medžiagų kiekis (komposto dalis atėmus mufelyje išdeginto prie 550 °C komposto dalį) ir organinių medžiagų kiekis (komposto dalis atėmus drėgmę ir nekintamą komposto dalį). Tada kompostas sumaišomas su distiliuotu vandeniu, 1 dalis komposto su 5 dalimis distiliuoto vandens. Mišinio pH turėtų būti tarp 7,0 ir 9,0. Paskui analitinėmis svarstyklėmis pasveriamos tiriamos medžiagos: gamtinis, katijoninis (PL = 0,1; 0,2; 0,3; 0,54) krakmolas ir mikrokristalinė celiuliozė. Tada kompostavimo indai užpildomi paruoštu komposto ir tiriamos medžiagos mišiniu, visuose induose turi būti panašus kiekis komposto. Tai pat palyginimui paliekami keli indai be testuojamos medžiagos tik su kompostu, kuriame turi būti toks pat sausų medžiagų kiekis kaip ir induose su tiriama medžiaga. Paruošti indai dedami į testavimo prietaisą kuriame yra aplinka reikalinga procesui. Temperatūra 58°C ± 2°C taip pat turi būti intensyvi aeracija naudojant orą kuriame nėra anglies dioksido. Procesas vykdomas ne ilgiau kaip šešis mėnesius. Indai kuriuose vyksta anglies dioksido ir vandens adsorbcija proceso pradžioje sveriami kelis kartus per dieną, o vėliau kartą per dieną ar kas dvi dienas. Iš gautų duomenų galima apskaičiuoti bioskaidumo laipsnį (BL), % pagal formulę:

$$BL = \frac{(CO_2)_T - (CO_2)_P}{ThCO_2} \times 100$$

Čia:

$(CO_2)_T$ – išsiskyrusio anglies dioksido kiekis inde su tiriama medžiaga, g;

$(CO_2)_T$ – išsiskyrusio anglies dioksido kiekis inde, kuriame buvo tik kompostas, g;

$ThCO_2$ – teorinis anglies dioksido kiekis, g.

$ThCO_2$ apskaičiuojamas pagal formulę:

$$ThCO_2 = m \cdot \left(\frac{6 \cdot 44}{M} \right)$$

Čia:

m - sausos tiriamos medžiagos kiekis, g;

M - tiriamo junginio molinė masė, g/mol. ($M_{krakmolo}$=162, $M_{KK\ (PL=0,1)}$ =177, $M_{KK\ (PL=0,2)}$ =192, $M_{KK\ (PL=0,3)}$ =207, $M_{KK\ (PL=0,54)}$ =243)

2.2.4 Sausų medžiagų kiekio nustatymas

Sausos medžiagos kiekį mėginyje nustatome naudojant drėgnomatį *KERN* (Vokietija). Tuščia lėkštelė įdedama i drėgnomatį ir nunulinamas svoris. Tada paėmus lėkštelę joje plonu sluoksniu paskirstoma medžiaga. Lėkštelė vėl dedama į drėgnomatį nustatoma 105°C temperatūra ir pradedama džiovinti. Džiovinimo procesas turi vykti taip, kad produkto sausosios medžiagos nepakistų. Džiovinama iki pastovios masės, t. y. iki to momento, kai, sveriant tiriamą medžiagą, rodmenys kinta ne daugiau kaip 1 mg. Prietaisas automatiškai sostoja kai masė tam tikrą laiką nesikeičia.

Kitas šiek tiek tikslesnis, bet ilgiau trunkantis būdas nustatyti sausų medžiagų kiekį, džiovinant kelis lygiagrečius bandinius džiovinimo spintoje. Tam paimami švarūs, sausi, tušti biuksai su dangteliais. Biuksai uždengiami dangteliais ir pasveriami. Tada ant biukso dugno paskleidžiama apie 1 g medžiagos. Biuksas uždengiamas ir pasveriamas su medžiaga. Tada atidengti biuksai ir jų dangteliai sudedami į džiovinimo spintą. Džiovinama 105°C laipsnių temperatūroje periodiškai pasveriant iki tol kol mėginio masė nebekinta. Baigus džiovinti, biuksai išimami iš džiovinimo spintos, uždengiami ir dedami į eksikatorių, kad atvėstų iki kambario temperatūros. Atvėsę biuksai su mėginiu pasveriami.

Drėgmės kiekis W (%) procentais apskaičiuojamas pagal formulę:

$$W = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1} \right) \times 100,$$

Čia:

W - drėgmės kiekis medžiagoje %,

W_1 - medžiagos masė gramai prieš džiovinimą,

W_2 - medžiagos masė gramais po džiovinimo.

Sausų medžiagų kiekis SM (%) apskaičiuojamas:

SM = 100-W

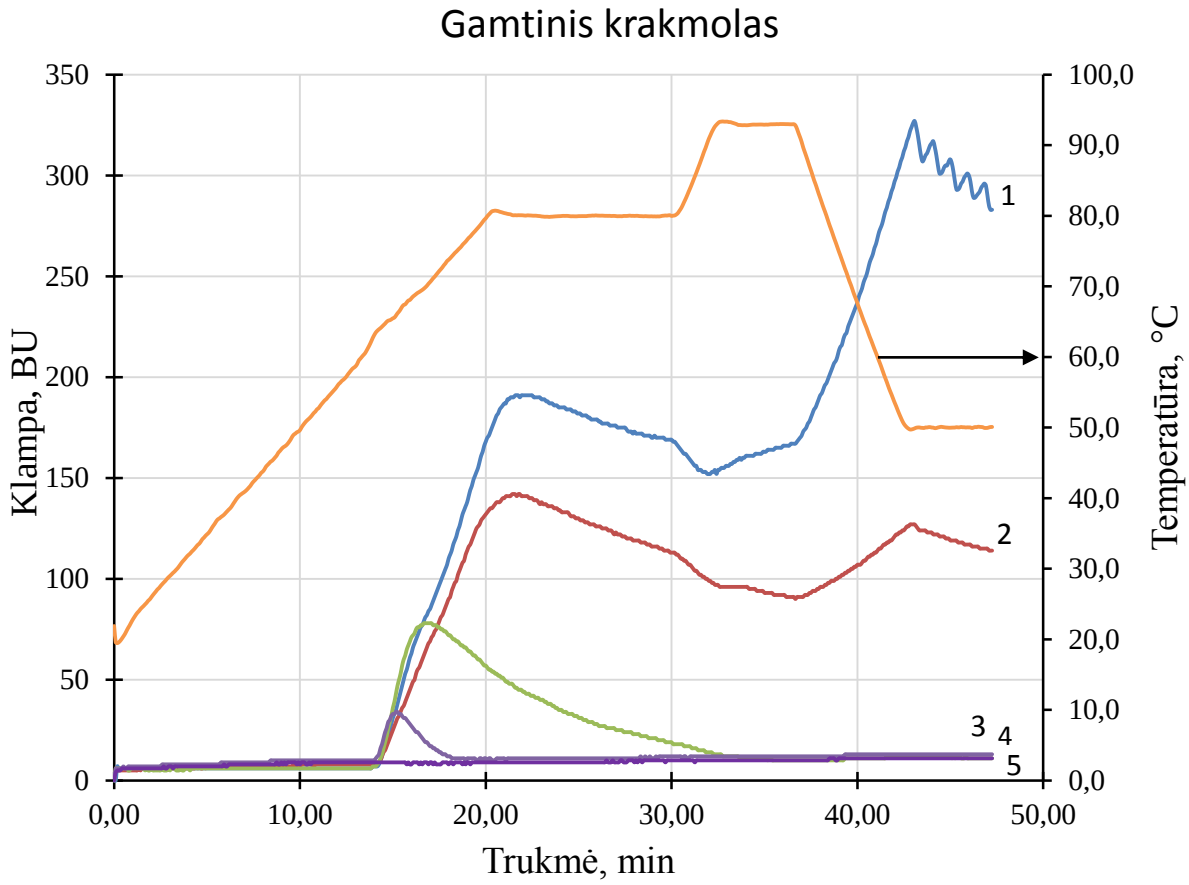
2.2.5 Eksperimento tikslumo įvertinimas

Eksperimento tikslumo įvertinimas atliekamas darant kelis lygiagrečius bandymus ir iš gautų rezultatų išvedant aritmetinį vidurkį.

3 TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1 Fermentais katalizuojama įvairių krakmolo darinių hidrolizė

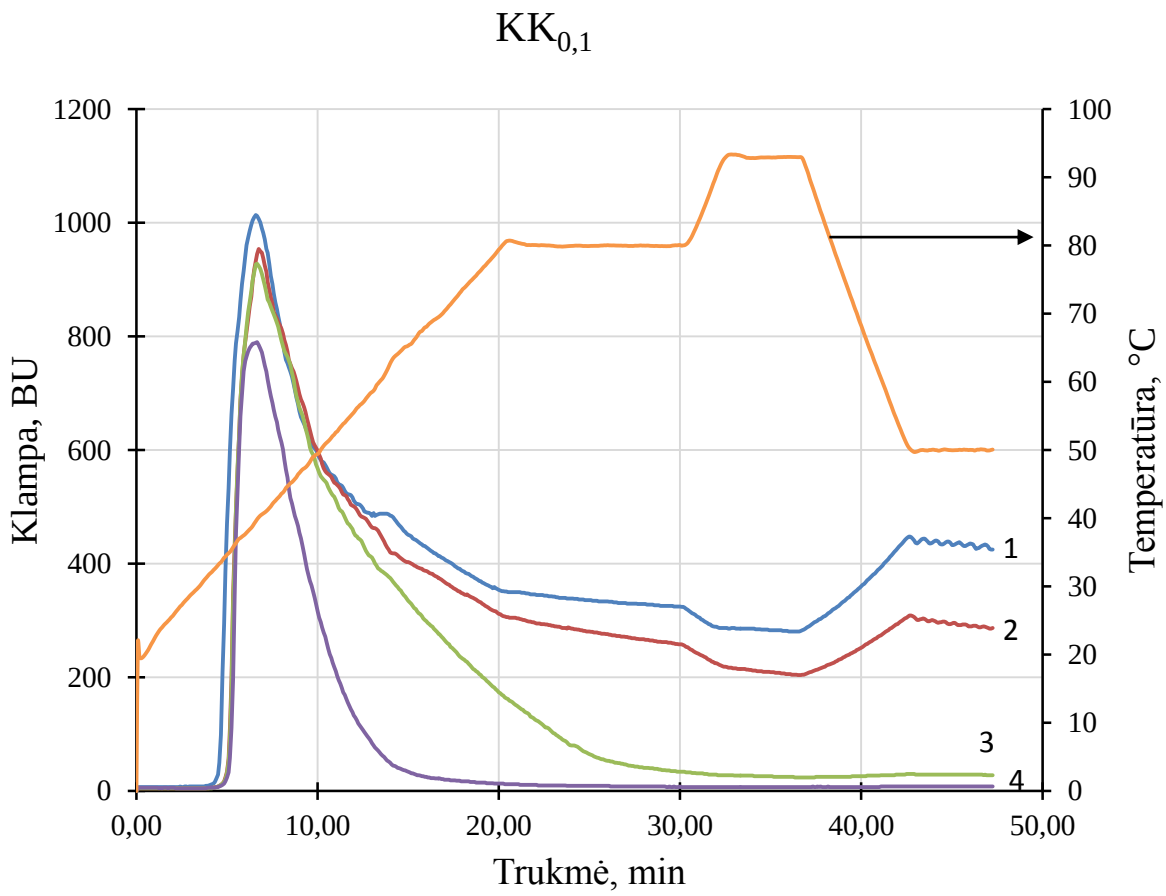
Parinkus tinkamus fermentus ir eksperimento sąlygas vyksta intensyvi polisacharido hidrolizė, kurią galima sekti matuojant krakmolo suspensijos klampą jį kleisterizuojant (3.1 pav.). Paruošta 3 % gamtinio krakmolo suspensija šildoma pasirinktu temperatūriniu režimu, krakmolo grūdeliai brinksta, pasiekus 60 ºC temperatūrą prasideda kleisterizacija, procesas užbaigiamas polisacharido dispersiją ataušinus iki 50 ºC temperatūros - šiame taške fiksuojama klampa, kuri naudojama palyginamuosiuose bandymuose. Gamtinio krakmolo kleisteriai turi apie 300 BU klampą (3.1 pav., 1 kreivė), tačiau tomis pačiomis sąlygomis kleisterizuojant krakmolą ir esant fermento priedams stebimas žymus klampos sumažėjimas (3.1 pav., 2-5 kreivės). Tirpalų klampa tiesiogiai priklauso nuo polimero molekulinės masės. Didėjant katalizatoriaus – fermento kiekiui intensyviau vyksta polisacharidų hidrolizės reakcija, vyksta makromolekulių destrukcija, todėl mažėja kleisterių klampa. Kaip matyti iš pateiktų tyrimų rezultatų fermentų poveikį polisacharido hidrolizei galima tiesiogiai įvertinti viskozimetriniu metodu. Buvo nustatytas taip paruoštų krakmolo kleisterių dekstrozės ekvivalentas (DE), pagal kurį taip pat galima įvertinti hidrolizės proceso intensyvumą, nes iš DE verčių galima spręsti apie aldehidinių ir karbonilinių grupių kiekį makromolekulėse. Kaip matyti iš 3.1 lentelėje pateiktų duomenų, naudojant didesnį fermento kiekį krakmolo DE vertės didesnės. Šie rezultatai sutampa su krakmolo klampos matavimo rezultatais (3.1. pav.), kurie liudija tiesioginę fermento įtaką gamtinio polisacharido hidrolizei.



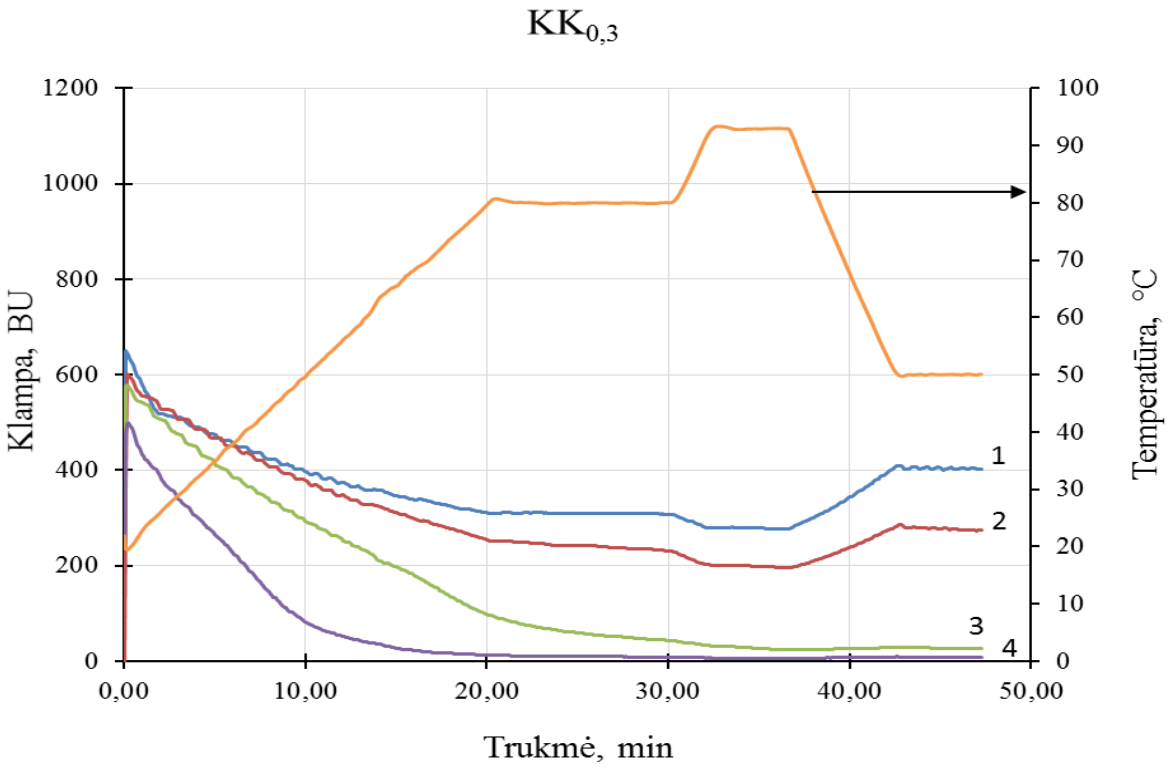
3.1 pav. Gamtinio krakmolo hidrolizė matuojant krakmolo suspensijos klampą, kai naudojamos skirtingos fermento koncentracijos ml/kg$_{krakmolo}$: 1 – 0; 2 – 0,003; 3 – 0,033; 4 – 0,333; 5 – 3,333

Daugelyje pramonės sričių naudojamas chemiškai modifikuotas krakmolas, todėl svarbu nustatyti ir palyginti modifikuoto ir gamtinio krakmolo hidrolizės rodiklius. Popieriaus pramonėje plačiai naudojamas katijoninis krakmolas (KK), buvo ištirta fermentinė hidrolizė įvairaus modifikavimo laipsnio KK, t.y. mažai katijoninių grupių turinčio polisacharido –KK$_{0,1}$ ir didelio PL – KK$_{0,3}$ ir KK$_{0,54}$. Tiriant fermento įtaką KK hidrolizei pirmiausiai buvo paruoštos 3% KK vandeninės dispersijos. Pastebėta, kad kai PL $\geq$ 0,3 katijoninis krakmolas sudaro kleisterius jau kambario temperatūroje (3.3 ir 3.4 pav.), o kai PL = 0,1 KK kleisterizacija prasideda pasiekus 35 ºC (3.2 pav.). Kleisterių klampa visais atvejais yra apie 400 BU tai net 100 BU didesnė nei gamtinio krakmolo kleisterio. Vadinasi, jonogeninės grupės, esančios polisacharido makromolekulėse didina kleisterių klampą, tačiau KK kleisterių klampa nepriklauso nuo PL. Atliekant KK kleisterizaciją esant fermentų priedams pastebėta ta pati fermento koncentracijos įtaka hidrolizės laipsniui: kuo didesnis fermento kiekis – tuo intensyviau vyksta hidrolizė, t.y. stebimas didesnis klampos sumažėjimas (3.2 – 3.4 pav.). Kai PL = 0,1 ir 0,3 klampos kritimas yra labai panašus esant visoms fermento koncentracijoms (3.2 ir 3.3 pav.). Tačiau žiūrint į 3.1 lentelėje pateiktus rezultatus matome, kad esant mažoms fermento koncentracijoms DE yra labai maži ir

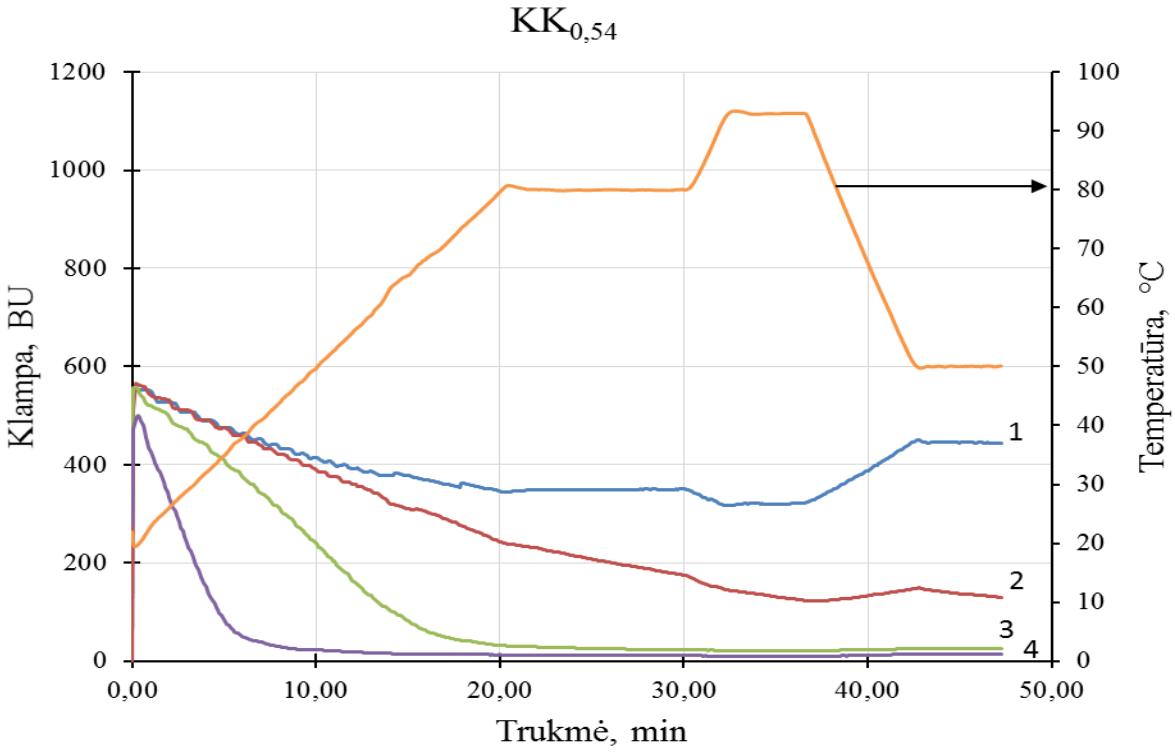
skiriasi nedaug. Esant didesnei fermeto koncentracijai DE yra daug didesni ir pastebimas didesnis skirtumas. Kai PL = 0,54 klampos pokyčiai išsiskiria lyginant su pavyzdžiais kai PL = 0,1 ir 0,3 (3.2 – 3.4 pav.), nors matoujant klampą be fermento ji yra labai panaši į mažesnio PL KK. Kai fermento koncentracija 0,033 $KK_{0,54}$ klampa yra maždaug 100 BU didesnė nei $KK_{0,1}$ ir $KK_{0,3}$. Žiūrint į 3.1 lentelę galima pastebėti, kad $KK_{0,54}$ reikalinga apie 10 kartų didesnė fermento koncentracija nei $KK_{0,1}$ ir$KK_{0,3}$ norint gauti tą pačią klampą. Vadinasi, kuo didesnis modifikuoto krakmolo PL, tuo sunkiau vyksta fermentinė hidrolizė. Šią išvadą patvirtina ir nustatytos DE vertės: krakmolo su PL = 0,54 DE yra labai mažas (1,35 %) net esant didelėms fermento koncentracijoms.



3.2 pav. Katijoninio krakmolo kurio PL = 0,1 hidrolizė matuojant krakmolo suspensijos klampą, kai naudojamos skirtingos fermento koncentracijos ml/$kg_{krakmolo}$: 1 – 0; 2 – 0,003; 3 – 0,033; 4 – 0,333

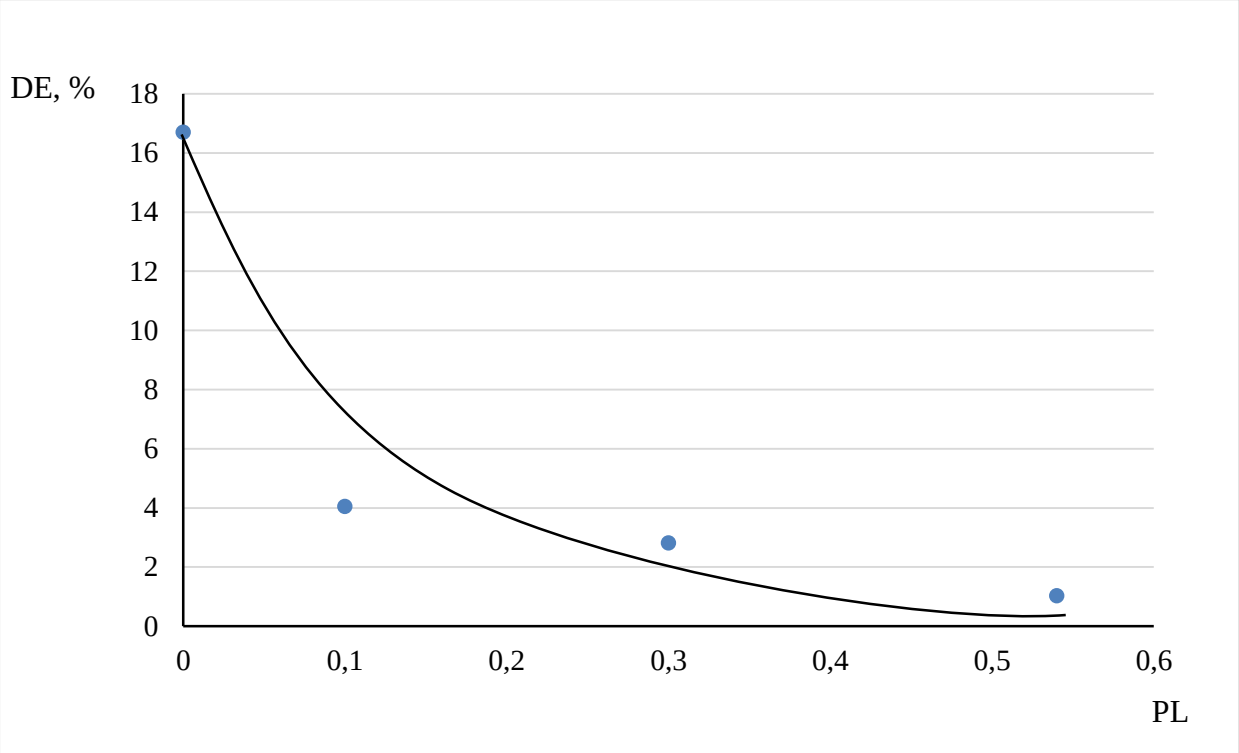


3.3 pav. Katijoninio krakmolo kurio PL = 0,3 hidrolizė matuojant krakmolo suspensijos klampą, kai naudojamos skirtingos fermento koncentracijos ml/kg$_{krakmolo}$: 1 – 0; 2 – 0,003; 3 – 0,033; 4 – 0,333



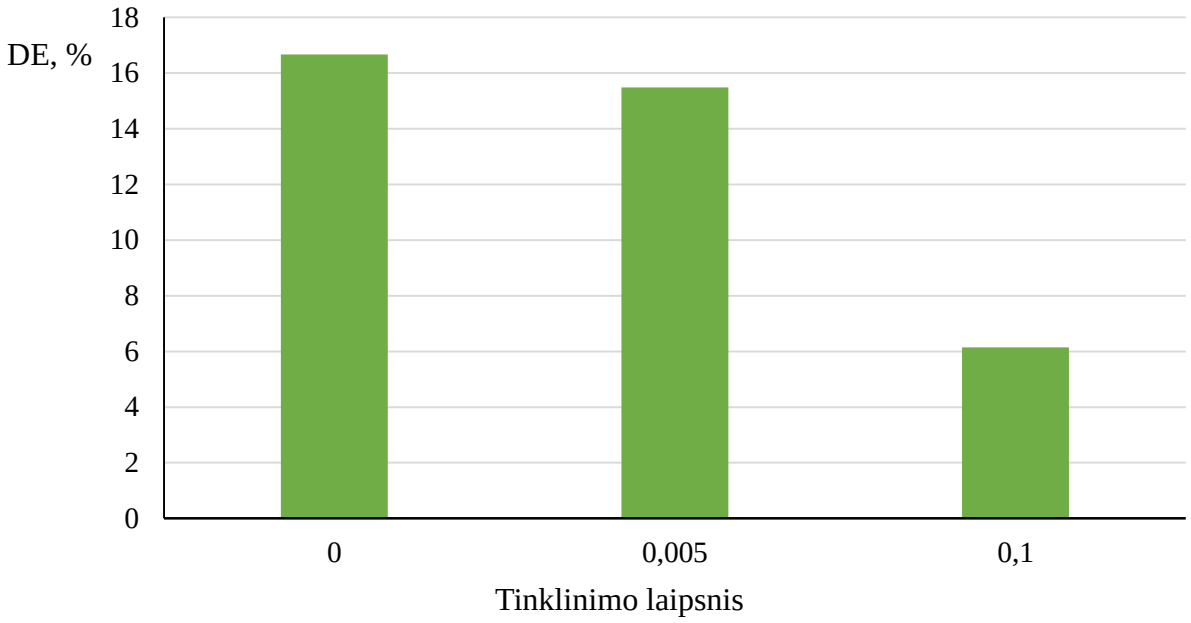
3.4 pav. Katijoninio krakmolo kurio PL = 0,54 hidrolizė matuojant krakmolo suspensijos klampą, kai naudojamos skirtingos fermento koncentracijos ml/kg$_{krakmolo}$: 1 – 0; 2 – 0,033; 3 – 0,333; 4 – 3,333

3.5 paveiksle pateikti apibendrinti duomenys apie DE priklausomybę nuo KK modifikavimo laipsnio kai fermento kiekis 0,333 ml/$kg_{krakmolo}$. Gamtinio krakmolo (PL=0) DE yra palyginti aukštas – apie 17%. Toliau didinat PL iki 0,1 DE vertės sparčiai mažėja. Tačiau toliau didinant PL nėra tokio didelio DE mažėjimo. Vadinasi kai PL>0,1 fermentinė hidrolizės procesas vyksta vangiai ir mažiau priklauso nuo PL.



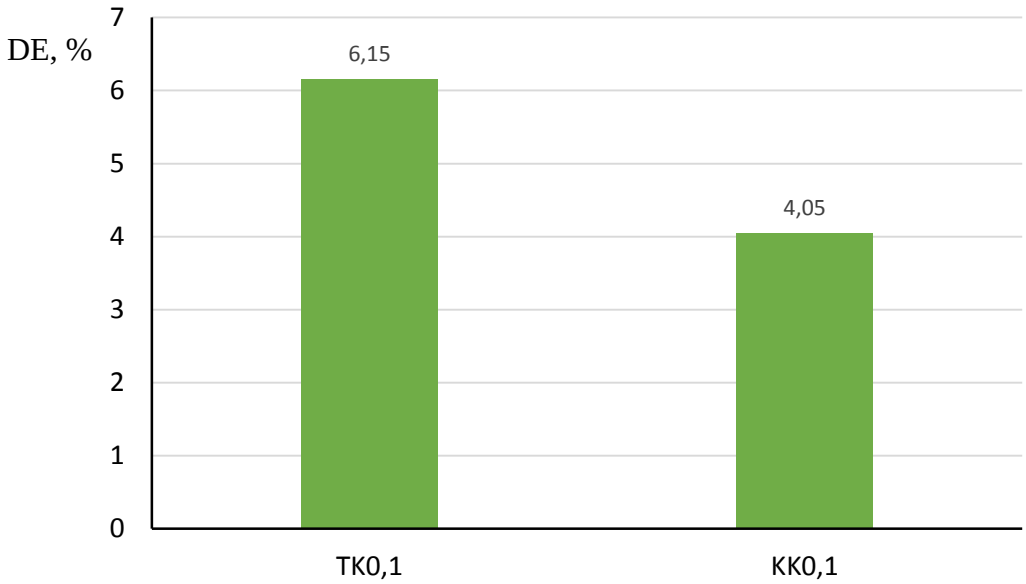
3.5 pav. Dekstrozės ekvivalento priklausomybė nuo krakmolo pakeitimo laipsnio kai fermento kiekis ml/$kg_{krakmolo}$ = 0.333

Krakmolo tinklinimas – dar vienas plačiai vartojamas krakmolo modifikavimo būdas. Tinklinto krakmolo granulės dėl sudarytų skersinių ryšių tarp skirtingų makromolekulių tampa netirpios vandenyje ir dėl riboto brinkumo TK suspensija nesudaro kleisterių. Todėl įvertinant fermento įtaką TK hidrolizei nebuvo matuota klampa, o nustatyta tik DE vertė (3.6 pav.). Kaip matyti iš paveiksle pateiktų duomenų, esant nedideliam TL 0,005 matomas nežymus DE sumažėjimas, o kai TL yra 0,1 jau matomas gana nemažas DE sumažėjimas. Galima teigti, kad fermentinė hidrolizė vyksta sunkiau esant didesniems tinklinimo laipsniams, TL 0,005 didelės įtakos fermentinei hidrolizei neturi.



3.6 pav. Dekstrozės ekvivalento priklausomybė nuo krakmolo tinklinimo laipsnio kai fermento kiekis ml/kg$_{krakmolo}$ = 0.333

Remiantis aukščiau aprašytais duomenimis buvo nustatyta, kad didinant tiek pakeitimo laipsnį tiek tinklinimo laipsnį DE vertės mažėja. 3.7 paveiksle palyginami KK ir TK hidrolizės laipsniai, kai 0,1 PL ir 0,1 TL, o fermento kiekis 0,333ml/kg$_{krakmolo}$. Iš gautų duomenų galima spręsti, kad PL labiau įtakoja hidrolizė, nes gaunamos mažesnės DE vertės.



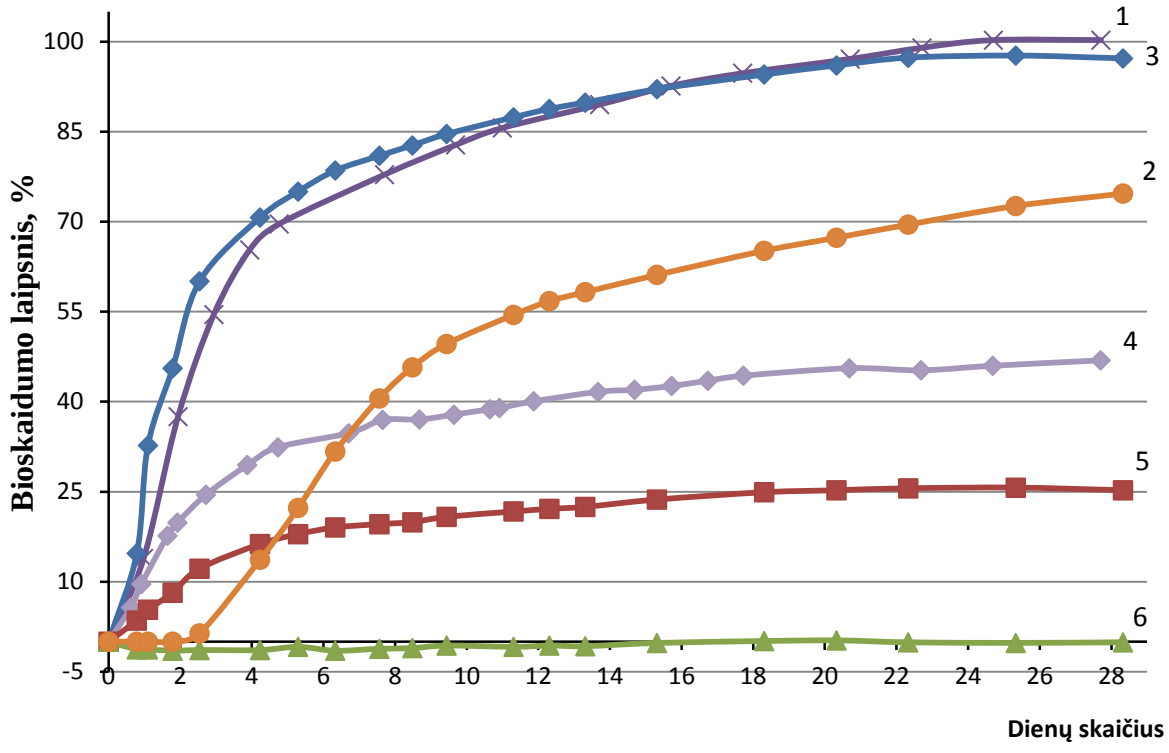
3.7 pav. TK$_{0,1}$ ir KK$_{0,1}$ dekstrozės ekvivalentų skirtumas kai fermento kiekis ml/kg$_{krakmolo}$ = 0.333

3.1 lentelė Tyrimams naudotų krakmolo darinių fermentinės hidrolizės rezultatai.

Pavyzdys	Fermento kiekis, ml/kg	η 50°C, BU	DE, %
Krakmolas	0	283	0
	0,003	114	0,032
	0,033	11	2,36
	0,333	13	16,67
	3,333	11	31,1
$KK_{0,1}$	0	425	0
	0,003	286	0,035
	0,033	28	0,27
	0,333	8	4,05
$KK_{0,3}$	0	402	0
	0,003	274	0,04
	0,033	26	0,89
	0,333	8	2,82
$KK_{0,54}$	0	444	0
	0,033	130	0,32
	0,333	25	1,03
	3,333	13	1,35
$TK_{0.005}$	0,033	-	1,41
	0,333	-	15,49
	3,333	-	28,72
$TK_{0.1}$	0,033	-	0,29
	0,333	-	6,15
	3,333	-	17,8

3.2 Katijoninio krakmolo bioskaidumas

α-amilazė – vienas iš fermentų, kuris skatina krakmolo destrukciją gamtoje. Tačiau natūraliomis sąlygomis polimerų destrukciją įtakoja didelis kiekis medžiagų ir veiksnių. Todėl vien iš fermentinės hidrolizės duomenų negalima spręsti apie krakmolo darinio bioskaidumą. Siekiant pilniau įvertinti KK bioskaidumą buvo atliktas tyrimas kompostuojant KK ir laikant aerobinėmis sąlygomis. Vykstant polisacharido destrukcijai išsiskiria CO_2, kuris surenkamas ir iš jo kieko pokyčio galima spręsti apie polimerų bioskaidumą. 3.8 paveiksle pateikta mikrokristalinės celiuliozės, krakmolo ir įvairaus PL KK bioskaidumo kinetinės kreivės. Iš pateiktų duomenų matyti, kad gamtinio krakmolo ir krakmolo kurio PL=0,1 (3.8 pav. 1 ir 3 kreivės) bioskaidumo laipsniai yra didžiausi jie siekia iki 100%. Tačiau krakmolo kurio PL=0,2 (3.8 pav. 4 kreivė) bioskaidumo laipsnis jau daugiau nei dvigubai mažesnis, o krakmolo su 0,4 PL(3.8 pav. 5 kreivė) bioskaidumo laipsnis siekia tik apie 25%. Beveik neskaidus krakmolas kurio PL=0,54 (3.8 pav. 6 kreivė). Apibendrinant galima teigti, kad kai PL yra iki 0,1 jis bioskaidumui beveik nedaro įtakos, o esant didesniems PL bioskaidumo laipsnis sumažėja kelis kartus.

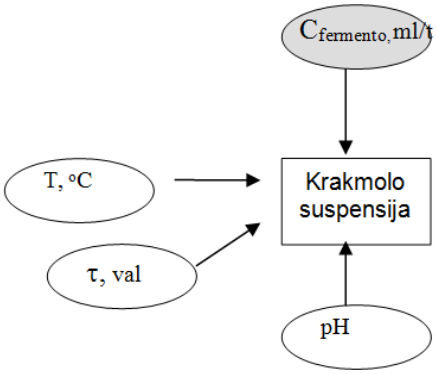


3.8 .pav. Krakmolo (*1*), mikrokristalinės celiuliozės (*2*), ir KK (*3-6*) bioskaidumas kai pakeitimo laipsnis: *3* – PL = 0,1; *4* – PL = 0,2; *5* – PL = 0,3; *6* – 0,54.

4 REKOMENDACIJOS

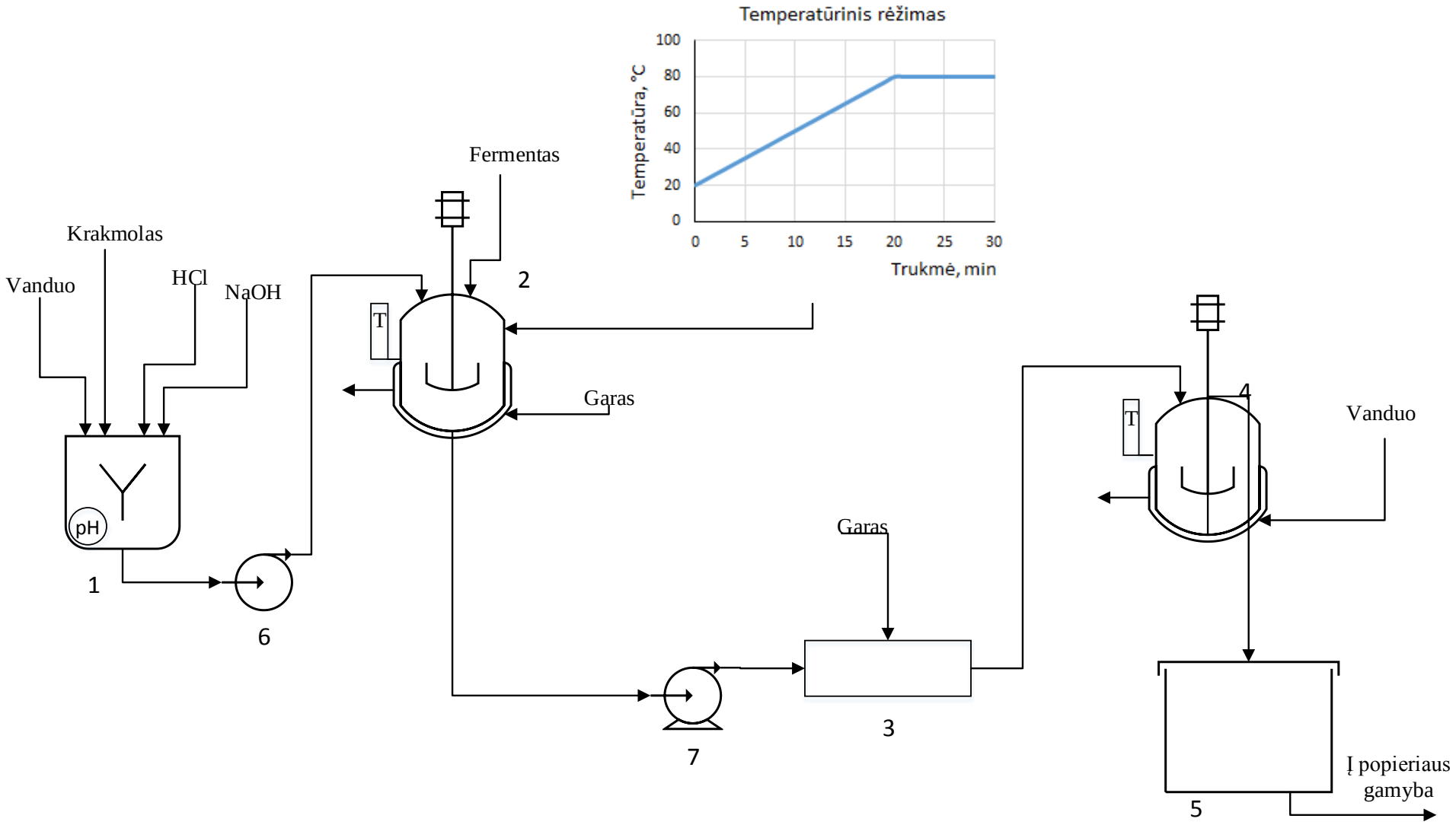
4.1 Krakmolo hidrolizato gamybos linija popieriaus gamybai

Ruošiant popieriaus gamybai didelės koncentracijos (15 %) mažos klampos krakmolo hidrolizatą, kaip jau minėta, pagrindiniai procesą įtakojantys faktoriai yra pH vertė, fermento koncentracija, trukmė ir temperatūra (3.9 pav.). Norint gauti tam tikrų technologinių savybių (reologinių, klijavimo, sausų medžiagų kiekio ir pan.) produktą labai svarbu teisingai sudaryti ir tinkamai palaikyti technologinį krakmolo hidrolizės režimą.



4.1 pav. Pagrindiniai rodikliai įtakojantys krakmolo hidrolizę

Siūloma krakmolo hidrolizato gavimo technologinė schema (3.10 pav.), pagal kurią galima paruošti krakmolo klijus ir naudoti tolydinėje popieriaus gamybos linijoje, t.y. dirbant nepertraukiamu režimu. Paruošta tinkamos koncentracijos krakmolo suspensija turi būti nuolat maišoma, nes krakmolo granulės greitai nusėda ir susidarę nuosėdos labai sunkiai išdisperguojamos. Todėl visose talpose ir reaktoriuose, kur patenka krakmolo dispersija yra įmontuotos maišyklės. Pirmiausiai sureguliuojamas krakmolo dispersijos pH (1) po to ištuštinama talpa (1) suspensija perpilama į talpą (2) kur dozuojamas fermentas ir palaikomas temperatūrinis režimas temperatūra nuo 20°C keliama 3°C/min greičiu iki 80°C, šioje temperatūroje išlaikoma 10 min, po 30 min suspensija patenka į aukštatemperatūrinį apdorojimo įrenginį srautinį pakaitinimo aparatą (angl. *Jet cooker*) (3), jame fermentas dezaktyvuojamas po to krakmolo hidrolizatas patenka aušinimo indą (4) kur per 10 min yra ataušinamas iki 50°C galiausiai ataušintas hidrolizatas patenka į saugojimo talpą (5) iš kur yra tiekiamas į popieriaus gamybą.



4.2 pav. 15 % mažos klampos krakmolo hidrolizato gavimo schema. 1 – krakmolo suspensijos talpa su sraigtinė maišyklė ir pH matavimo elektrodu; 2 – fermentinės hidrolizės reaktorius; 3 – srautinis pakaitinimo aparatas (angl. *Jet cooker)*; 4 – hidrolizato ataušinimo reaktorius; 5 – saugojimo talpa; 6 – krumpliaratinis siurblys; 7 – išcentrinis siurblys

5 IŠVADOS

1. Nustatyta, kad didinant α-amilazės fermento kiekį nuo 0,003 iki 3,333 ml/$kg_{krakmolo}$ krakmolo DE vertė padidėja 970 kartų, o $KK_{0,1}$, $KK_{0,3}$ ir $KK_{0,54}$ atitinkami 115, 70 ir 4 kartų. Tuo tarpu, hidrolizatų klampos $\eta_{50°C}$ sumažėja 20 – 50 kartų – siekia tik 7-13 BU.

2. Nustatyta, kad didinant tinklinimo laipsnį fermentinė hidrolizė vyksta sunkiau. Atliekat tinklinto krakmolo (TK) fermentinę hidrolizę ir didinant α-amilazės fermento kiekį nuo 0,033 iki 3,333 ml/$kg_{krakmolo}$ $TK_{0,005}$ ir $TK_{0,1}$ DE vertės atitinkamai padidėja 20 ir 60 kartų.

3. Naudojant tą patį fermento kiekį pagal didėjantį hidrolizės laipsnį krakmolą ir krakmolo darinius galima būtų išdėstyti tokia seka: $KK_{0,54}$<$KK_{0,3}$<$KK_{0,1}$<$TK_{0,1}$<$TK_{0,005}$<Krakmolas.

4. Nustatyta, kad po 28 dienų gamtinis krakmolas pilnai suskyla – bioskaidumo laipsnis yra 100% panašus ir $KK_{0,1}$ - 97%. $KK_{0,2}$ ir $KK_{0,3}$ bioskaidumas sumažėja 3 – 4 kartus lyginant su gamtinio krakmolo, o $KK_{0,54}$ pasirinktomis sąlygomis visai neskaidus.

5. Remiantis mokslinių tyrimų duomenimis pasiūlyta krakmolo hidrolizato gamybos linija nepertraukiamam popieriaus gamybos procesui.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Jane J., Kasemsuwan, T., Leas, S., Zobel, H. and Robyt, J. F. 1994. Anthology of Starch Granule Morphology by Scanning Electron-Microscopy. Starch-Starke 4, p. 121 – 129.

2. Huang, C. C., Lin, M. C. and Wang, C. C. R. 2006. Changes in morphological, thermal and pasting properties of yam (Dioscorea alata) starch during growth. Carbohydrate Polymers 64, p. 524 – 531.

3. Ramonaitytė D.T. 2013. Cukraus ir krakmolo produktų mokslo ir technologijos pagrindai. Mokomoji knyga, p. 37 – 40, 78 – 85.

4. Lansky, S., Kooi, M., & Schoch, T. J. 1949. Properties of the fractions and linear subfractions from various starches. *Journal of the American Chemical Society*, 71, 4066-4075.

5. Paredes-Lopez, O., Bello-Perez, L. A., & Lopez, M. G. 1994. Amylopectin: Structural, gelatinisation and retrogradation studies. *Food Chemistry*, 50, p. 411-417.

6. Buleon, A., Colonna, P., Planchot, V., & Ball, S. 1998. Mini review. Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 23, p. 85-112.

7. Jane, J. 2004. Starch: structure and properties. p. 81-101 in: Chemical and Functional Properties of Food Saccharides. P. Tomasik, ed. CRC Press: New York.

8. Fennema, O. R. 1985. Water and ice. p. 23-67 in: *Food Chemistry.* O. R. Fennema, Ed. Marcel Dekker, New York.

9. Thompson, D.B. 2000. On the non-random nature of amylopectin branching. *Carbohydrate Polymers* 43, p. 223–239.

10. Srichuwong, S. and Jane, J. 2007. Physicochemical Properties of Starch Affected by Molecular Composition and Structures: A Review. Food Science and Biotechnology16, p. 663-674.

11. Li, L., Jiang, H., Campbell, M., Blanco, M. and Jane, J. 2008. Characterization of maize amylose-extender (*ae*) mutant starches. Part I: Relationship between resistant starch contents and molecular structures. Carbohydr. Polym. 74, p. 396-404.

12. Sievert, D. and Wusch, P. 1993. Amylose chain association based on differential scanning calorimetry. J. Food Sci. 58, p. 1332-1335.

13. Wurzburg, O.B. 1986b. Introduction. In: Modified Starches: Properties and Uses, O.B. Wurzburg (Ed.). Boca Raton, FL: CRC Press, p. 3–16.

14. Tomasik, P. and Schilling, C. H., Chemical modification of starch. Advances in carhohydrate chemistry and biochemistry. D. Horton, 2004. Elsevier Academic Press. 59, p. 175-316.

15. Valle, G. D., Colonna, P. and Tayeb, J., Use of a twin-screw extruder as a chemical reactor for starch cationization. Starch - Stärke, 1991. 43(8), p. 300-307.

16. Miladinov, V. D. and Hanna, M. A., Starch esterification by reactive extrusion. Industrial Crops and Products, 2000. 11(1), p. 51-57.

17. Hoover, R., *Acid-treated starches*. Food Reviews International, 2000. 16(3), p. 369.

18. Wang, Y.-J., Truong, V.-D. and Wang, L., Structures and rheological properties of corn starch as affected by acid hydrolysis. Carbohydrate Polymers, 2003. 52(3), p. 327-333.

19. Kristo, E. and Biliaderis, C. G., *Physical properties of starch nanocrystal-reinforced pullulan films*. Carbohydr. Polym., 2007. 68(1), p. 146-158.

20. Kim, R. E. and Ahn, S. Y., *Gelling properties of acid-modified red bean starch gels*. Agricultural Chemistry and Biotechnology, 1996. 39: 49-53.

21. Jonhed, A., Properties of modified starches and their use in the surface treatment of paper. 2006. Ph.D. Karlstad University.

22. Silva, M. C., Ibezim, E. C., Ribeiro, T. A. A., Carvalho, C. W. P. and Andrade, C. T., Reactive processing and mechanical properties of cross-linked maize starch. Industrial Crops and Products, 2006. 24(1), p. 46-51.

23. Ayoub, A. S. and Rizvi, S. S. H., An overview on the technology of cross-linking of starch for nonfood applications. Journal of Plastic Film and Sheeting, 2009. 25(1), p. 25-45.

24. Ayoub, A. and Bliard, C. 2003. Cationisation of glycerol plasticised wheat starch under microhydric molten conditions. *Starch/Stärke*. 55:297–303.

25. Light, J. M., *Modified food starches: Why, what, where and how*. Symposium on modified food starches at AACC's 74th Annual meeting, 1989. Washington, DC.

26. Jane, J., Shen, L., Wang, L. and Maningat, C. C., *Preparation and properties of small-particle corn starch*. Cereal Chemistry, 1992. 69(3), p. 4.

27. Sutliff T.D., Huang N., Litts J.C., and Rodriguez R.L. 1991. Characterization of an a-amylase multigene cluster in rice. Plant Mol. BioI. 16, p. 579-591.

28. Kim, M. and Lee, S.-J., Characteristics of crosslinked potato starch and starch-filled linear low-density polyethylene films. Carbohydrate Polymers, 2002. 50(4), p. 331-337.

29. Supatcharee Netrphan, Study of starch debranching enzymes In developing wheat kernels, 2002, p. 23-24.

30. Chandra, R., and Rustgi, R., "Biodegradable Polymers", Progress in Polymer Science, 1998 Vol. 23, p. 1273

31. Polysaccharide. 2015. Encyclopædia Britannica Online. Žiūrėta [20 05 2015] http://www.britannica.com/EBchecked/topic/469090/polysaccharide

32. Byrom, D., 1991. Miscellaneous biomaterials. In: Byrom, D. (Ed.), Biomaterials: Novel Materials from Biological Sources. Macmillan, New York, p. 335–359.
33. Gujer, W., Zehnder, A.J.B., 1983. Conversion processes in anaerobic digestion. Water Science and Technology 15, p. 127–167.
34. Glittenberg D., *Wochenbl. Papierfabr*. 2001, 129 (1413) : 1508 .
35. http://www.starch.eu/european-starch-industry/#prettyPhoto žiūrėta [21 05 2015].
36. Herbert Holik, Handbook of paper and board, 2006, p. 358 – 360.
37. Swinkels J. J. M. Industrial Starch Chemistry. Properties, modifications and applications of starches. AVEBE Veendam-Holland. Product Information. Ref.no.:05.00.02.006 EF
38. *Food Chemicals Codex, Fourth Edition* (1996), First Supplement, National Academic Press, p. 18.