



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Plėvelių kolageno pagrindu su įterptomis bioaktyviomis medžiagomis tyrimai

Baigiamasis magistro projektas

Inesa Degutytė

Projekto autorė

prof. dr. Virgilijus Valeika

Vadovas

Kaunas, 2025



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Plėvelių kolageno pagrindu su įterptomis bioaktyviomis medžiagomis tyrimai

Baigiamasis magistro projektas

Chemijos inžinerija (6211EX020)

Inesa Degutytė

Projekto autorė

prof. dr. Virgilijus Valeika

Vadovas

doc. dr. Egidijus Griškonis

Recenzentas

Kaunas, 2025



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Inesa Degutytė

Plėvelių kolageno pagrindu su įterptomis bioaktyviomis medžiagomis tyrimai

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

1. baigiamąjį projektą parengiau savarankiškai ir sąžiningai, nepažeisdama(s) kitų asmenų autoriaus ar kitų teisių, laikydamasi(s) Lietuvos Respublikos autorių teisių ir gretutinių teisių įstatymo nuostatų, Kauno technologijos universiteto (toliau – Universitetas) intelektinės nuosavybės valdymo ir perdavimo nuostatų bei Universiteto akademinės etikos kodekse nustatytų etikos reikalavimų;
2. baigiamajame projekte visi pateikti duomenys ir tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti teisėtai, nei viena šio projekto dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar elektroninių šaltinių, visos baigiamojo projekto tekste pateiktos citatos ir nuorodos yra nurodytos literatūros sąrašė;
3. įstatymų nenumatytų piniginių sumų už baigiamąjį projektą ar jo dalis niekam nesu mokėjęs (–usi);
4. suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo ar kitų asmenų teisių pažeidimo faktui, man bus taikomos akademinės nuobaudos pagal Universitete galiojančią tvarką ir būsiu pašalinta(s) iš Universiteto, o baigiamasis projektas gali būti pateiktas Akademinės etikos ir procedūrų kontrolieriaus tarnybai nagrinėjant galimą akademinės etikos pažeidimą.

Inesa Degutytė

Patvirtinta elektroniniu būdu



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Tvirtinu:
Cheminės technologijos fakulteto dekanas
prof. dr. V. Kitrytė-Syrpa
Dekanės potvarkis Nr. V25-02-22
(2025 gegužės 20 d.)

Suderinta:
Polimerų chemijos ir technologijos katedra
doc. Audrius Bučinskas

2025 m. kovo mėn. 4 d.

Baigiamojo magistro projekto užduotis

Projekto tema Plėvelių kolageno pagrindu su įterptomis bioaktyviomis medžiagomis tyrimai

Darbo tikslas ir uždaviniai

Tikslas: ištirti įvairių kompozicijų iš kolageno hidrolizės produktų, plastifikatorių ir bioaktyviųjų medžiagų tinkamumą plėvelėms gauti, jas pagaminus nustatyti jų fizikines, mechanines ir mikrobiologines savybes.

Uždaviniai:

1. sukomponuoti įvairių sudėčių kolageno hidrolizės produktų ir plastifikatorių tirpalus, išliejus juos organoleptiškai įvertinti gautas plėveles ir pasirinkti perspektyvias sudėtis;
2. nustatyti plastifikatoriaus rūšies, jo savybių ir kiekio kompozicijoje su baltyminėmis medžiagomis įtaką plėvelių fizikinėms ir mechaninėms savybėms;
3. į kompozicijas plėvelėms inkorporuoti įvairias bioaktyviasias medžiagas – sintetines ir gamtines – bei nustatyti jų įtaką plėvelių fizikinėms ir mechaninėms savybėms;
4. plėvelių termostabilumo ir cheminės struktūros savybes įvertinti termogravimetrinės ir IR spektroskopijos analizės metodais;
5. ištirti plėvelių su įterptomis bioaktyviomis medžiagomis mikrobiologines savybes;
6. sudaryti technologinės linijos schemą, skirtą kompozicinės plėvelės su kolageno hidrolizatu, želatina, plastifikatoriumi ir inkorporuota bioaktyviaja medžiaga.

Reikalavimai ir sąlygos

Turi būti visos privalomos baigiamojo projekto sudėtinės dalys kaip nurodyta dekanu 2024 m. kovo 6 d. potvarkiu Nr. V25–02–10 patvirtintuose „Pirmosios pakopos studijų programos Cheminė technologija ir inžinerija ir antrosios pakopos studijų programos Chemijos inžinerija baigiamųjų projektų rengimo ir gynimo metodiniuose reikalavimuose“.

Vadovas

prof. dr. Virgilijus Valeika

2025-03-04

(vadovo pareigos, vardas, pavardė, parašas)

(data)

Užduotį gavau:

Inesa Degutytė

2025-03-04

(studento vardas, pavardė)

(parašas, data)

Degutytė, Inesa. Plėvelių kolageno pagrindu su įterptomis bioaktyviomis medžiagomis tyrimai. Magistro studijų baigiamasis projektas / vadovas prof. dr. Virgilijus Valeika; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): Inžinerijos mokslai, Chemijos inžinerija

Reikšminiai žodžiai: kolageno hidrolizatas, želatina, polietilenglikolis, triazolas, augaliniai ekstraktai

Kaunas, 2025. 64 p.

Santrauka

Magistro baigiamojo darbo tema – „Plėvelių kolageno pagrindu su įterptomis bioaktyviomis medžiagomis tyrimai“. Projekto tikslas buvo ištirti įvairių kompozicijų iš kolageno hidrolizės produktų, plastifikatorių ir bioaktyviųjų medžiagų tinkamumą plėvelėms gauti, jas pagaminus nustatyti jų fizikines, mechanines ir mikrobiologines savybes.

Kolagenas ir jo dariniai yra gerai suderinamas su žmogaus oda, todėl dažnai yra naudojamas medicinos pramonėje. Darbe aprašytos kolageno, želatinos ir kolageno hidrolizato pagrindinės savybės, išgavimas ir pritaikymas. Atliekama įvairių kompozicijų plėvelių su kolageno hidrolizatu ir želatina bei skirtingais plastifikatoriais (PEG 1500, PEG 20000, PEG 100000, glicerolis) gamyba, vertinamos jų organoleptinės savybės bei atliekami mechaniniai ir fizikiniai bandymai. Nustatyta, kad tinkamiausia kompozicija baltymų pagrindo plėvelėms yra naudojant kolageno hidrolizatą ir želatina, santykiu 1:1 ir inkorporuojant plastifikatorių polietilenglikolį, kurio molekulinė masė yra 20000 g/mol.

Nustačius tinkamiausią plėvelių kompoziciją – kai baltymų ir plastifikatoriaus santykis yra 2:3 – į jas buvo inkorporuojamos sintetinės ir gamtinės bioaktyviosios medžiagos: triazolas 7-20, konservantas Euxyl® 9010 PE, iš siauralapio gauromečio (lot. *Chamaenerion angustifolium L.*) išgautas ekstraktas ir iš jonažolių žolės (lot. *Hypericum perforatum L.*) išgautas ekstraktas. Su šiomis plėvelėmis buvo atlikti mechaniniai, fizikiniai ir mikrobiologiniai bandymai, lyginama, kaip skirtinga bioaktyvi medžiaga keičia plėvelės savybes. Taip pat buvo vertinamas ir lyginamas visų plėvelių termostabilumas bei cheminė sudėtis. Remiantis atliktais tyrimais ir literatūroje pateiktais duomenimis, buvo nustatyta tinkamiausias ir geriausias savybes turinti plėvelė (su baltymais, polietilenglikoliu ir bioaktyviąja medžiaga) sudėtis, sudaryta technologinės linijos schema.

Degutytė, Inesa. Investigation of Collagen-based Films with Incorporated Bioactive Materials. Master's Final Degree Project / supervisor prof. dr. Virgilijus Valeika; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Study field and area (study field group): Engineering Sciences, Chemical Engineering

Keywords: collagen hydrolysate, gelatin, polyethylene glycol, triazole, plant extracts

Kaunas, 2025, 64 p.

Summary

The topic of the Master's thesis is „Studies of collagen-based films with embedded bioactive substances". The aim of the project is to investigate the suitability of various compositions from collagen hydrolysis products, plasticizers and bioactive substances for obtaining films, and to determine their physical, mechanical and microbiological properties after their manufacture.

Collagen and its derivatives are compatible with human skin, therefore they are often used in the medical industry. This work describes the main properties, extraction and application of collagen, gelatin and collagen hydrolysate. Films of various compositions with collagen hydrolysate, gelatin and different plasticizers (PEG 1500, PEG 20000, PEG 100000, glycerol) are produced, their organoleptic properties are evaluated and mechanical and physical tests are performed. It was determined that the most suitable composition for protein-based films is using collagen hydrolysate and gelatin, in a ratio of 1:1 and incorporating the plasticizer polyethyleneglycol (molecular weight 20000 g/mol).

After determining the most suitable composition of the films – when the protein to plasticizer ratio is 2:3. Using this composition, synthetic and natural bioactive substances are incorporated: triazole 7-20, preservative Euxyl® 9010 PE, extract obtained from fireweed (lot. *Chamaenerion angustifolium* L.) and extract obtained from St. John's wort (lot. *Hypericum perforatum* L.). Mechanical, physical and microbiological tests are performed with these films, comparing how different bioactive substances change the properties of the film. The thermostability and chemical composition of all films are also evaluated and compared. Based on the conducted research and data presented in the literature, the most suitable and best-performing composition of the film with proteins, polyethyleneglycol and bioactive substance is determined, and a principal technological scheme was suggested.

Turinys

Lentelių sąrašas	9
Paveikslų sąrašas	10
Santrumpų ir terminų sąrašas	11
Įvadas.....	12
1. Literatūros apžvalga	13
1.1. Kolagenas	13
1.1.1. Kolageno struktūra	13
1.1.2. Kolageno šaltiniai ir ekstrakcija	14
1.1.3. Kolageno panaudojimas	15
1.2. Kolageno hidrolizė	16
1.2.1. Želatinos ekstrakcija.....	16
1.2.2. Kolageno hidrolizato gavimas	17
1.2.3. Kolageno ir jo darinių savybių palyginimas.....	19
1.3. Priemonės kūno žaizdoms izoliuoti ir gydyti	19
1.3.1. Medicininių plėvelių gamyba	20
1.3.2. Kolageno ir jo darinių panaudojimas medicininėms plėvelėms.....	21
1.4. Biopolimerinių plėvelių gamyboje naudojami priedai	22
1.4.1. Plastifikatoriai.....	22
1.4.2. Bioaktyvios medžiagos.....	22
2. Tiriamoji dalis.....	24
2.1. Medžiagos ir metodai	24
2.1.1. Tyrimo objektas.....	24
2.1.2. Naudojamos medžiagos.....	24
2.1.3. Plėvelių gavimas.....	24
2.1.4. Plėvelių su inkorporuotomis bioaktyviomis medžiagomis gavimas	25
2.1.5. Bioaktyvių medžiagų gavimas ir paruošimas.....	25
2.1.6. Plastifikatorių tirpalų paruošimas.....	26
2.1.7. Plėvelių organoleptinių savybių nustatymas	26
2.1.8. Ekstrakcijos išeigos apskaičiavimas.....	26
2.1.9. Plėvelių fizikinių, mechaninių ir cheminių savybių nustatymas	27
2.1.9.1. Plėvelių mechaninių savybių nustatymas	27
2.1.9.2. Plėvelių džiūvimo trukmės nustatymas	27
2.1.9.3. Storio nustatymas	27
2.1.9.4. Vandens garų sorbcijos nustatymas.....	27
2.1.9.5. Plėvelių masės sumažėjimo laikant vandenyje įvertinimas.....	28
2.1.9.6. Plėvelių termogravimetrinė analizė (TGA)	28
2.1.9.7. Furjė transformacijos infraraudonosios spinduliuotės spektroskopija (FTIR)	28
2.1.10. Plėvelių mikrobiologinių savybių nustatymas.....	29
2.1.10.1. Plėvelių antibakterinių savybių nustatymas	29
2.1.10.2. Plėvelių antioksidacinio aktyvumo nustatymas.....	29
2.2. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas	30
2.2.1. Biopolimerinių plėvelių paruošimas ir preliminarinių sudėčių parinkimas	30
2.2.2. Plastifikatorių parinkimas ir organoleptinių savybių įvertinimas	30
2.2.3. Plastifikuotų plėvelių tyrimai	31

2.2.3.1.	Plėvelių mechaninių savybių nustatymas ir plėvelių perdirbimo įvertinimas	31
2.2.3.2.	Plėvelių vandens garų sorbcijos įvertinimas	35
2.2.3.3.	Plastifikuotų plėvelių savybių nustatymo rezultatų apibendrinimas	36
2.2.4.	Bioaktyvių medžiagų inkorporavimas į plėveles	37
2.2.5.	Plėvelių mechaninių savybių nustatymas	39
2.2.6.	Plėvelių fizikinių ir cheminių savybių tyrimai	41
2.2.6.1.	Plėvelių džiūvimo trukmės nustatymas	41
2.2.6.2.	Plėvelių storio nustatymas	41
2.2.6.3.	Plėvelių drėgmės sorbcijos įvertinimas	42
2.2.6.4.	Plėvelių masės sumažėjimas laikant vandenyje	43
2.2.6.5.	Plėvelių termogravimetrinė analizė	43
2.2.6.6.	Plėvelių infraraudonųjų spindulių spektroskopijos analizė	44
2.2.7.	Plėvelių mikrobiologinių savybių tyrimai	45
2.2.7.1.	Antibakterinių savybių nustatymas	45
2.2.7.2.	Plėvelių antioksidacinių savybių įvertinimas	46
3.	Inžinerinė dalis.....	47
4.	Darbuotojų sauga ir sveikata	50
	Išvados	54
	Literatūros sąrašas	55
	Priedai.....	65
1	priedas. Plėvelių drėgmės sorbcijos skirtinguose santykinuose drėgniuose priklausomybė nuo baltymų ir plastifikatoriaus PEG 20000 santykio.....	65
2	priedas. Plėvelių, plastifikuotų su PEG 20000 plastifikatoriumi išvaizdos. Baltymai : Plastifikatorius.....	66
3	priedas. Baltyminių ir PEG plėvelių su bioaktyviomis medžiagomis išvaizdos	67
4	priedas. Sorbuotos plėvelės drėgmės kiekio priklausomybė nuo plėvelės laikymo trukmės... ..	68
5	priedas. Plėvelių termogravimetrinės kreivės.....	69
6	priedas. Plėvelių su skirtingomis bioaktyviosiomis medžiagomis FTIR spektrai.....	70
7	priedas. Plėvelių su bioaktyviomis medžiagomis antibakterinių savybių tyrimo nuotraukos. Bakterijų kultūra: Bacillus Subtilis	71
8	priedas. Plėvelių su bioaktyviomis medžiagomis antibakterinių savybių tyrimo nuotraukos. Bakterijų kultūra: E. Coli	72
9	priedas. Fizikinių veiksnių sukeltų pavojų, galinčių pakenkti sveikatai, identifikavimas	73
10	priedas. Fizinių veiksnių sukeltų pavojų, galinčių pakenkti sveikatai, identifikavimas	74
11	priedas. Cheminių veiksnių sukeltų pavojų, galinčių pakenkti sveikatai, identifikavimas	75
12	priedas. Biologinių veiksnių sukeltų pavojų, galinčių pakenkti sveikatai, identifikavimas.....	76
13	priedas. Ergonominių ir psichosocialinių veiksnių sukeltų pavojų, galinčių pakenkti sveikatai, identifikavimas	77

Lentelių sąrašas

1 lentelė. Tyrimo metu naudojamos cheminės medžiagos.....	24
2 lentelė. Tyrimo metu naudojamos techninės medžiagos.....	24
3 lentelė. Tyrimo metu naudojami tirpalai, skirtingam santykiniam oro drėgniui palaikyti	27
4 lentelė. Plėvelių be plastifikatorių sudėtis.....	30
5 lentelė. Plėvelių su PEG plastifikatoriumi sudėtys	31
6 lentelė. Plėvelių su plastifikatoriumi glicerolių sudėtys	31
7 lentelė. Bioaktyvios medžiagos ir jų kiekiai	38
8 lentelė. Skirtingų augalų ekstraktų išeiga	39
9 lentelė. Gamybinėje linijoje naudojami įrenginiai	48
10 lentelė. Naudojamų cheminių medžiagų galimų pavojų informacija.....	50
11 lentelė. Naudojamų cheminių medžiagų pirmosios pagalbos priemonių duomenys	51
12 lentelė. Naudojamų cheminių medžiagų priešgaisrinių priemonių duomenys	52
13 lentelė. Naudojamų cheminių medžiagų profesinio poveikio ribiniai dydžiai [132].....	53

Paveikslų sąrašas

1 pav. Kolageno trigubos spiralės erdvinė struktūra [11]	13
2 pav. Pramoninis želatinos ekstrakcijos būdas [30]	16
3 pav. Pramoninis kolageno hidrolizato ekstrakcijos būdas [3].....	18
4 pav. Kolageno, želatinos ir kolageno hidrolizato klampios mažėjimas priklausomai nuo temperatūros [16].....	19
5 pav. Medicininės plėvelės gamyba tirpiklio liejimo metodu [40].....	21
6 pav. Triazolo 7–20 struktūrinė formulė	25
7 pav. Euxyl® 9010 PE sudėtis: a) Fenoksietanolis b) Etilheksilglicerinas	25
8 pav. Plėvelių stiprio tempiant priklausomybė nuo jos sudėties, kai plastifikatorius yra PEG 1500	32
9 pav. Plėvelių ištisos trūkio metu priklausomybė nuo jos sudėties, kai plastifikatorius yra PEG 1500	33
10 pav. Plėvelių Jungo modulio priklausomybė nuo jos sudėties, kai plastifikatorius yra PEG 1500	33
11 pav. Plėvelių stiprio tempiant priklausomybė nuo plastifikatoriaus PEG 20000 kiekio joje.	34
12 pav. Plėvelių ištisos trūkio metu priklausomybė nuo plastifikatoriaus PEG 20000 kiekio joje. .	34
13 pav. Plėvelių Jungo modulio priklausomybė nuo plastifikatoriaus PEG 20000 kiekio joje.....	34
14 pav. Plėvelių stiprio tempiant priklausomybė nuo bioaktyvios medžiagos rūšies ir jos kiekio...	39
15 pav. Plėvelių ištisos trūkio metu priklausomybė nuo bioaktyvios medžiagos rūšies ir jos kiekio	40
16 pav. Plėvelių Jungo modulio priklausomybė nuo bioaktyvios medžiagos rūšies ir jos kiekio	40
17 pav. Tirpalų plėvelėms gauti masės kitimo priklausomybė nuo džiūvimo trukmės.....	41
18 pav. Bioaktyvios medžiagos rūšies ir jos kiekio įtaka plėvelės storiui	42
19 pav. Plėvelių masės sumažėjimo laikant vandenyje priklausomybė nuo bioaktyviosios medžiagos ir jos kiekio plėvelėje.....	43
20 pav. Plėvelių su skirtingomis bioaktyviomis medžiagomis antibakterinių savybių įvertinimas .	45
21 pav. Plėvelių su skirtingomis bioaktyviomis medžiagomis antioksidacinių savybių įvertinimas	46
22 pav. Kolageno hidrolizato ir želatinos pagrindu pagamintos plėvelės su inkorporuotu gauromečio ekstraktyvu technologinės linijos schema: 1a, 1b – distiliuoto vandens talpykla; 1c – kolageno hidrolizato talpykla; 1d – želatinos talpykla; 1e – 10 % konc. PEG tirpalo talpykla; 2a, 2b – nerūdijančio plieno talpykla su maišykle ir kaitinimo funkcija; 3a, 3b, 3c, 3d – siurblys; 4 – 50 µm filtras; 5 – tirpalo padengimo aplikatorius; 6 – džiovinimo kamera su kontroliuojama temperatūra ir oro srautu; 7 – laminavimo mašina; 8 – pjaustymo mašina; 9 – pakavimo mašina.	49
23 pav. Asmeninių apsaugos priemonių ženklavimas: a) būtina dėvėti apsauginius akinius; b) būtina mūvėti apsaugines pirštines	53

Santrumpų ir terminų sąrašas

Santrumpos:

PEG 100000 - 100000 g/mol molekulinės masės polietilenglikolis

PEG 20000 – 20000 g/mol molekulinės masės polietilenglikolis

PEG 1500 - 1500 g/mol molekulinės masės polietilenglikolis

Terminai:

Ekstraktyvas – medžiaga, ekstrahavimo metu ištirpstanti ekstrahente.

Ivadas

Kolagenas yra dominuojantis žinduolių tarpląstelinės matricos komponentas. Jis randamas beveik visuose gyvūnų audiniuose [1]. Dėl savo unikalių savybių, tokių kaip geras biologinis suderinamumas, ši medžiaga sulaukia nemažo susidomėjimo maisto, farmacijos, kosmetikos, biomedicinos ir odos pramonėje [2]. Odos pramonė jau nuo labai senų laikų yra labai plačiai paplitusi visame pasaulyje [1]. Tačiau odos gamybos metu susidaro didelis kiekis atliekų, kurios nebūna panaudojamos [3]. Vienas iš būdų, kaip šias atliekas galima naudingai panaudoti – iš jų išgauti kolageną ar jo hidrolizatus, kurie vėliau gali būti panaudojami medicinos ar kitose srityse.

Kolageno hidrolizė vykdoma rūgštinės arba šarminės hidrolizės būdu, kolageną skaidant į mažesnės molekulinės masės peptidus. Taip yra išgaunama želatina ir kolageno hidrolizatas. Tokie kolageno dariniai pasižymi geresniu tirpumu vandenyje ir geresniu biologiniu suderinamumu žmogui [4].

Kolagenas ir jo dariniai dėl savo natūralumo gali būti pritaikomi žaizdų gydymo procesuose, kaip tvarsčių / plėvelių sudedamoji medžiaga. Deja, tokios medžiagos dažnai turi nemažai trūkumų, pavyzdžiui prastos mechaninės savybės [5]. Dėl šios priežasties labai svarbu parinkti tinkamą natūralų ar sintetinį priedą, kuris užtikrintų, plėvelių stabilumą ir elastingumą.

Šiame darbe atliekami tyrimai su kolageno hidrolizato ir želatinos plėvelėmis, į jas iš pradžių inkorporuojant įvairius plastifikatorius. Pridedant skirtingus jų kiekius stebima, ar tokios plėvelės gali būti gaminamos baltymų pagrindu, ar visgi naudojami baltymai, kaip pagrindinė medžiaga, negali suteikti plėvelėms reikiamų mechaninių savybių. Ištyrus šias savybes, į plėveles inkorporuojant skirtingų tipų bioaktyvias medžiagas stebimi plėvelių savybių pokyčiai.

Šio darbo tikslas yra ištirti įvairių kompozicijų iš kolageno hidrolizės produktų, plastifikatorių ir bioaktyviųjų medžiagų tinkamumą plėvelėms gauti, jas pagaminus nustatyti jų fizikines, mechanines ir mikrobiologines savybes.

Tikslui pasiekti iškelti šie uždaviniai:

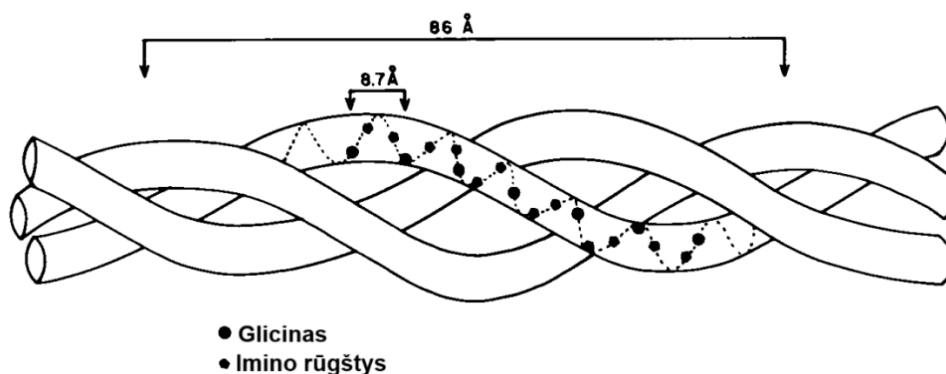
1. sukomponuoti įvairių sudėčių kolageno hidrolizės produktų ir plastifikatorių tirpalus, išliejus juos organoleptiškai įvertinti gautas plėveles ir pasirinkti perspektyvias sudėtis;
2. nustatyti plastifikatoriaus rūšies, jo savybių ir kiekio kompozicijoje su baltyminėmis medžiagomis įtaką plėvelių fizikinėms ir mechaninėms savybėms;
3. į kompozicijas plėvelėms inkorporuoti įvairias bioaktyvias medžiagas – sintetines ir gamtines – bei nustatyti jų įtaką plėvelių fizikinėms ir mechaninėms savybėms;
4. plėvelių termostabilumo ir cheminės struktūros savybes įvertinti termogravimetrinės ir IR spektroskopijos analizės metodais;
5. ištirti plėvelių su įterptomis bioaktyviomis medžiagomis mikrobiologines savybes;
6. sudaryti technologinės linijos schemą, skirtą kompozicinės plėvelės su kolageno hidrolizatu, želatina, plastifikatoriumi ir inkorporuota bioaktyviaja medžiaga.

1. Literatūros apžvalga

1.1. Kolagenas

1.1.1. Kolageno struktūra

Kolagenas yra heterogeninis baltymas, kuris dalyvauja formuojantis fibrilinėms ir mikrofibrilinėms struktūroms ekstraląstelinėje matricoje, ląstelių augimo ir audinių formavimo procesuose [1, 2]. Tai yra dominuojantis žinduolių organizmo baltymas, sudarantis apie 30 % visos baltymų masės ir randamas visuose jungiamuosiuose gyvūnų audiniuose [6, 7]. Kolageno baltymų šeimai yra būdinga didelė įvairovė struktūros, funkcijų ir išgavimo prasme [1]. Kolageno plaušelių išsidėstymas priklauso nuo audinio, pavyzdžiui, sausgyslėse jie yra išsidėstę lygiagrečiais pluoštais, o odoje išsibarstę visame jos tūryje [7]. Šio baltymo plaušeliai veikia kaip struktūrinė atrama visiems kūno organams ir užtikrina stangrumą, elastingumą ir stiprumą, reikalingą efektyviam judėjimui ir audinių regeneracijai [8]. Kolageną žinduolių organizmuose iš aminorūgščių sintetina fibroblastai, baltymo sintezė vyksta įprastuoju būdu, kuris apima aminorūgščių aktyvavimą, sintezės inicijavimą, grandinės augimą ir sintezės pabaigą (terminaciją) [9]. Dėl savo fizikinių ir cheminių savybių kolagenas lemia audinių vientisumą, stiprumą ir elastingumą. Organizme šis baltymas yra sintetinamas įvairiose ląstelėse ir įvairiais kiekiais, priklausomai nuo esamo poreikio [1]. Šiuo metu yra fiksuojama, jog iš viso egzistuoja 29 kolageno baltymų tipai, kiekvieno iš jų struktūroje yra susipynusios trys spirалės [3, 7]. Pavyzdžiui, I, II ir III tipo kolagenas yra fibrilinis kolagenas, kuris sudaro skaidulas, o IV tipo kolagenas fibrilių nesudaro, tačiau jis atsakingas už membranų formavimą. VI tipo kolagenas formuoja mikrofibriles jungiamuosiuose audiniuose, tokiuose kaip raumenys ir nervai, o VII tipo – odoje [10]. Visiems kolageno baltymams yra būdingas didesnis už vidutinį mechaninis stiprumas, kuris atsiranda dėl jo erdvinės struktūros, kuri pavaizduota 1 paveiksle [11].



1 pav. Kolageno trigubos spirалės erdvinė struktūra [11]

Kolageno trigubą spirалę, dar vadinamą superspirale, sudaro trys kairiojo sukimo prokolageno grandinės, tarpusavyje sujungtos kovalentiniais ryšiais. Šios grandinės susisuka tarpusavyje ir sudaro dešinio sukimo spirалę [12, 13]. Dėl šios spirалės ir jos gebėjimo išlaikyti vandenį, kolagenas yra netirpus vandenyje [1]. Natūralus kolagenas taip pat netirpsta organiniuose tirpikliuose, bet gali šiek tiek tirpti tam tikruose vandeniniuose tirpaluose, pavyzdžiui, neutralių druskų tirpaluose, praskiestoje acto rūgštyje. Taip pat, kolagenas gali tirpti veikiant proteolitiniams fermentams, tokiems kaip pepsinas, tripsinas, chemotripsinas, nors kolageno triguba spirалė yra atspari šių fermentų denatūraciniam poveikiui, kai temperatūra yra žemesnė nei 20 °C [14]. Šios molekulės sudėtyje yra 19 skirtingų aminorūgščių, viena iš jų yra hidroksiprolinas, kuris nėra būdingas beveik nei vienam

kitam baltymui [12]. Hidroksiprolinas, kartu su glicinu ir prolinu, sudaro 57 % visų aminorūgščių kolagene [9].

Spiralinei kolageno struktūrai įtakos turi alaninas, fenilalaninas, asparaginas, glutaminas, histidinas, leucinas, metioninas ir tirozinas. Spiralinę struktūrą daugiausiai sudaro Gly–X–Y aminorūgščių pasikartojimai. Kaip X ir Y dažniausiai randami prolino ir hidroksiprolino aminorūgštys, kurios dar vadinamos imino rūgštimis [15]. Serinas ir treoninas, dėl jų sudėtyje esančios hidroksilo grupės ir papildomų vandenilinių ryšių, trikdo taisyklingą spiralės formą. Dėl prolino, esančio šioje struktūroje, kolageno grandinė gali sudaryti kilpas ar išsilenkti [12]. Triguba kolageno spiralė gali virsti atsitiktine spiralės konfigūracija, kai šis junginys yra kaitinamas tokioje temperatūroje, kurioje pradeda vykti kolageno denatūracija. Denatūravimo metu, dėl trigubos spiralės struktūros suirimo, pakinta kolageno fizikinės savybės, tokios kaip klampumas, tirpumas ir optinis aktyvumas [16].

1.1.2. Kolageno šaltiniai ir ekstrakcija

Vieni iš pagrindinių natūralių kolageno išgavimo šaltinių yra galvijų ir kiaulių oda bei kaulai [17, 18]. I, II ir III tipo kolagenai yra labiausiai paplitę ir gerai ištirti biomedicininiais tikslais kaip plastinės medžiagos medicinoje ir kosmetikoje, taip pat farmacijos pramonėje kaip junginiai, pailginantys vaistų veikimą. Skirtingi kolageno tipai randami skirtingose gyvūno dalyse, pavyzdžiui, I tipo kolagenas randamas visuose audiniuose ir organuose, II tipo – kremzlėse, III tipo – odoje, kraujagyslėse ir organuose, IV tipo – bazinėse membranose, V tipo – citoskelete [15]. Taip pat, tokiu pačiu principu skirtingų tipų kolagenas yra išgaunamas iš skirtingų dalių organų. Galvijų achilo sausgyslės naudojamos I tipo kolagenui gauti, placenta – IV tipo, o sąnarių kremzlės – II tipo kolagenui gauti [17]. Iš kiaulių ir galvijų išgautas kolagenas turi mažą imunogeniškumą ir didelį biologinį suderinamumą žmogui [2]. Tačiau nustatyta, kad maždaug 3 % žmonių pasaulyje yra alergiški galvijų kolagenui, o iš kiaulių išgautas kolagenas dažniausiai nesukelia alerginių reakcijų, kadangi šis kolagenas yra labiau panašus į žmogaus organizme sintetinamą kolageną [17]. Be galvijų ir kiaulių, kolagenas taip pat gali būti išgaunamas iš vištų, kengūrų, avių, ančių ir kitų gyvūnų [2, 17]. Dar vienas alternatyvus kolageno išgavimo šaltinis yra jūrų gyvūnai [18]. Kolagenas, išgautas iš žuvų ir kitų vandens gyvūnų turi mažesnę molekulinę masę, todėl turi didesnę sorbcijos gebą, tačiau dėl mažesnio aminorūgščių kiekio turi pakankamai mažą terminį stabilumą. Dėl šios priežasties jūrinio kolageno denatūracijos temperatūra siekia 25–30 °C, o iš žinduolių išgauto kolageno denatūracijos temperatūra yra aukštesnė, ji siekia 39–40 °C [8, 18].

Yra žinomi labai įvairūs kolageno baltymų ekstrakcijos metodai, jie priklauso nuo norimos gauti išėigos bei naudojamos gyvūninės žaliavos, todėl norint pasiekti geriausią efektyvumą ir geriausias kolageno savybes norimam panaudojimui, kiekvienai žaliavai turi būti nustatomas tinkamiausias kolageno išgavimo būdas. Populiariausi kolageno ekstrakcijos metodai yra cheminis (naudojant rūgštinius tirpalus, šarminius tirpalus, neutralių druskų tirpalus) arba fermentinis (naudojant įvairius fermentus) [15, 19]. Cheminė ekstrakcija dažniau naudojama pramonėje, tačiau naudojant fermentus yra išgaunami aukštesnės maistinės vertės ir patobulinto funkcionalumo produktai. Taip pat, fermentinių procesų metu susidaro mažiau atliekų, bet šis procesas yra gana brangus [19].

Įprastai kolageno ekstrakcija prasideda nuo pirminio žaliavos paruošimo – ji yra nuplaunama, mirkoma šaltame vandenyje arba silpnai šarminiuose ar rūgštiniuose tirpaluose keletą dienų, keičiant vandenį kas kelias valandas [20]. Toks apdorojimas padeda pašalinti nekolagenines medžiagas ir nutraukti kovalentinius tarpmolekulinius skersinius ryšius tarp kolageno molekulių [19, 20].

Suskaidžius skersinius ryšius, kolageno grandinės lieka nepažeistos. Tada oda yra supjaustoma į mažesnius gabalėlius ir pradedama vykdyti kolageno ekstrakcija tirpalu, kurio sudėtis priklauso nuo pasirinkto ekstrakcijos metodo. Galiausiai, po ekstrakcijos gautas produktas yra valomas, tai vyksta keliais etapais, kurie gali apimti filtravimą ir centrifugavimą, o nepageidaujami baltymai gali būti nusodinami į ekstraktą pridodant didelės koncentracijos druskų tirpalų [20].

Kaip jau minėta anksčiau, gauto kolageno išeiga priklauso nuo jo ekstrakcijos metodo. Pavyzdžiui, nagrinėjant fermentinės ekstrakcijos pavyzdžius literatūroje, Nagai ir kt. [21] atlikdami kolageno ekstrakciją 4 paras laikant odas 10 % pepsino tirpale, pasiekė 27,30 % išeigą. Wang'as ir kt. [22] atlikdami rūgštinę hidrolizę gavo tik 0,37 % išeigą. Panašūs rezultatai buvo gauti ir Noorzai ir kt. [23] tyrimuose. Atlikus ekstrakciją iš galvijų odos rūgštiniu–fermentiniu metodu buvo gauta 75,13 % išeiga, o rūgštinės ekstrakcijos metu išeiga siekė tik 3,80 % [23]. Dėl šios priežasties galima teigti, jog ekstrakcijos metu naudojama silpna rūgštis ištirpina tik labai mažą dalį odoje esančių baltymų. Taip pat, fermentinės hidrolizės metu naudojamas pepsinas padeda suskaidyti telopeptidus, kurie yra svarbūs skersinių kolageno ryšių palaikyme, dėl kurių atskiros kolageno molekulės „susijungia“ tarpusavyje [24]. Taigi, išgaunant kolageną tokiu būdu, telopeptidai nėra išsaugojami, tačiau pati kolageno spiralinė struktūra nėra pažeidžiama [24]. Be visų šių skirtingų ekstrakcijos metodų, išeiga taip pat priklauso ir nuo naudojamos žaliavos – gyvūno amžiaus, lyties, mitybos bei kūno dalies, iš kurios yra išgaunamas kolagenas [23].

Nuo ekstrakcijos metodo taip pat priklauso tokios produkto savybės kaip vidutinis polipeptidinių grandinių ilgis, tirpumas, tirpalo klampumas, terminis stabilumas, emulsinimo geba ir vandens sulaikymas [19]. Pavyzdžiui, kai kuriuose šaltiniuose teigiama, kad geriausias būdas išgauti kolageną iš žuvų yra naudoti ekstrakcijos tirpikliais metodą [25]. Didžiausią įtaką gauto kolageno savybėms turi tokie parametrai kaip ekstrakcijos temperatūra, trukmė, panaudotas tirpiklis ir jo koncentracija. Pavyzdžiui, atliekant fermentinę ekstrakciją, rekomenduojama iš pradžių palaikyti žemesnę temperatūrą, kadangi tam tikri fermentai yra labai jautrūs aukštai temperatūrai. Vėliau, pasibaigus skilimo reakcijoms, temperatūra trumpam pakeliama, kad fermentai inaktyvuotųsi. Taip pat, atliekant ekstrakciją, kolageno išsiskyrimas didėja, ilgėjant ekstrakcijos trukmei. Tačiau svarbu yra tai, kad per ilgą ekstrahavimo trukmę gali lemti gauto kolageno skilimą. Tokiu atveju rūgšties tirpalas pradeda ardyti kolageno grandines, jas skaldydamas ir mažindamas galutinę ekstrahavimo išeigą [8].

1.1.3. Kolageno panaudojimas

Dėl savo fizikinių ir cheminių savybių, tokių kaip mažas antigeniškumas, gebėjimas prisijungti prie ląstelių, biologinis skaidumas ir biologinis suderinamumas, kolagenas dažnai naudojamas biomedicinos ir nanotechnologijų srityse, taip pat farmakologijoje ir implantologijoje [1, 17]. Dėl savo specifinės struktūros ir savybių, kolagenas gali būti panaudojamas kaip baltymų nešiklis vaistų tiekimo sistemose, žaizdų gydymo tvarsčių gamyboje, gydant vėžį ir genetines ligas [1].

Medicinoje kolagenas naudojamas kaip medžiaga, gaminant tvarsčius nuo nudegimų ar pragulų. Dažnai šiam tikslui iš kolageno yra išgaunamos „kempinės“, kurios gaunamos liofilizuojant rūgštinius arba šarminius gyvūninio kolageno tirpalus. Tokios kolageno kempinės dažnai būna išmirkytos antibiotikuose ar kitose medžiagose, kurios padeda apsaugoti audinius nuo infekcijos. Taip pat, iš kolageno išgaunamas hidrogelis, kuris naudojamas dermos, širdies raumenų, kremzlių ir kitų audinių regeneracijoje [1]. Chirurgijos, ortopedijos ir odontologijos srityse kolagenas

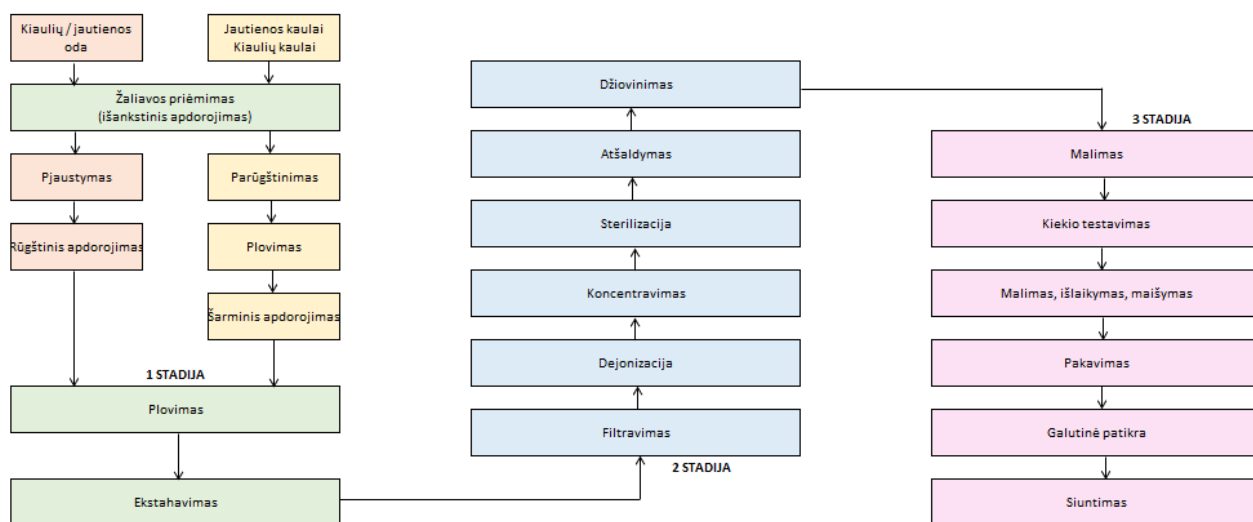
naudojamas dirbtinės odos pakaitalų gamyboje, gydant sunkius nudegimus, dantų implantų gamyboje ir daugelyje kitų sričių [7].

1.2. Kolageno hidrolizė

Odos pramonė yra viena iš seniausiai gyvuojančių pramonių pasaulyje. Tačiau odos išgavimo metu, yra panaudojama tik 26 % žaliavos, o visa likusi dalis sudaro atliekas. Mokslininkai teigia, kad 51 % atliekų, kurios lieka po odos išgavimo, yra kolageno atliekos [3]. Odos atliekos gali būti padalintos į tris kategorijas: neišdirbtos, išdirbtos ir dažytos bei apdailintos odos atliekos, o dauguma šių atliekų gali sukelti didelę taršą [26]. Didžiausia rizika šalinant šias atliekas yra galimas chromo(III) junginių oksidavimasis į chromą(VI), kuris yra labai toksiškas aplinkai [27]. Viena iš odos išdirbimo metu susidariusių atliekų yra kalkintos skeltinės atliekos. Jos yra mažiau užterštos cheminėmis medžiagomis nei tanidintos odos ar dažytos odos atliekos, jose nėra chromo junginių, ir jos gali būti didelės vertės produktų, pavyzdžiui, kolageno, želatinos ir kolageno hidrolizato, šaltinis [16]. Tam, kad būtų sumažintas odos atliekų išmetimas ir sumažinta aplinkos tarša, ieškoma naujų ir pažangių būdų, kurie padėtų naudingai panaudoti likusias odos atliekas [3]. Vienas iš būdų, kaip jos gali būti panaudojamos, yra baltymų ar jų hidrolizatų išgavimas iš tokių atliekų [26].

1.2.1. Želatinos ekstrakcija

Želatina yra biopolimeras, kuris yra gaunamas iš dalies hidrolizuojant kolageną [2]. Pagal ekstrahavimo būdą gaunama želatina skirstoma į dvi rūšis. A tipo želatina gaminama ekstrahuojant rūgštimi, o B tipo želatina – ekstrahuojant šarminiu būdu [28]. Šių hidrolizių metu yra suardomi nekovalentiniai ryšiai ir baltymo struktūra, dėl to padidėja tirpumas vandenyje. Tolimesnio apdorojimo metu skyla vandeniliniai ir kovalentiniai ryšiai, trispiralinė spirale destabilizuoja ir suvira į viengubas spirales bei kolagenas virsta želatina [29]. Pramoninio želatinos išgavimo schema pateikta 2 paveiksle [30].



2 pav. Pramoninis želatinos ekstrakcijos būdas [30]

Želatinos, kaip ir kolageno, išgavimo išeiga priklauso nuo jos išgavimo būdo. Ji taip pat gali svyruoti nuo 1 % iki 20 % [30]. Roy'us ir kt. [31] atliko tyrimus su skirtingais želatinos ekstrahavimo būdais – vieni mėginiai buvo apdoroti tik termiškai, kiti – termiškai ir fermentais. Taikant tik terminį

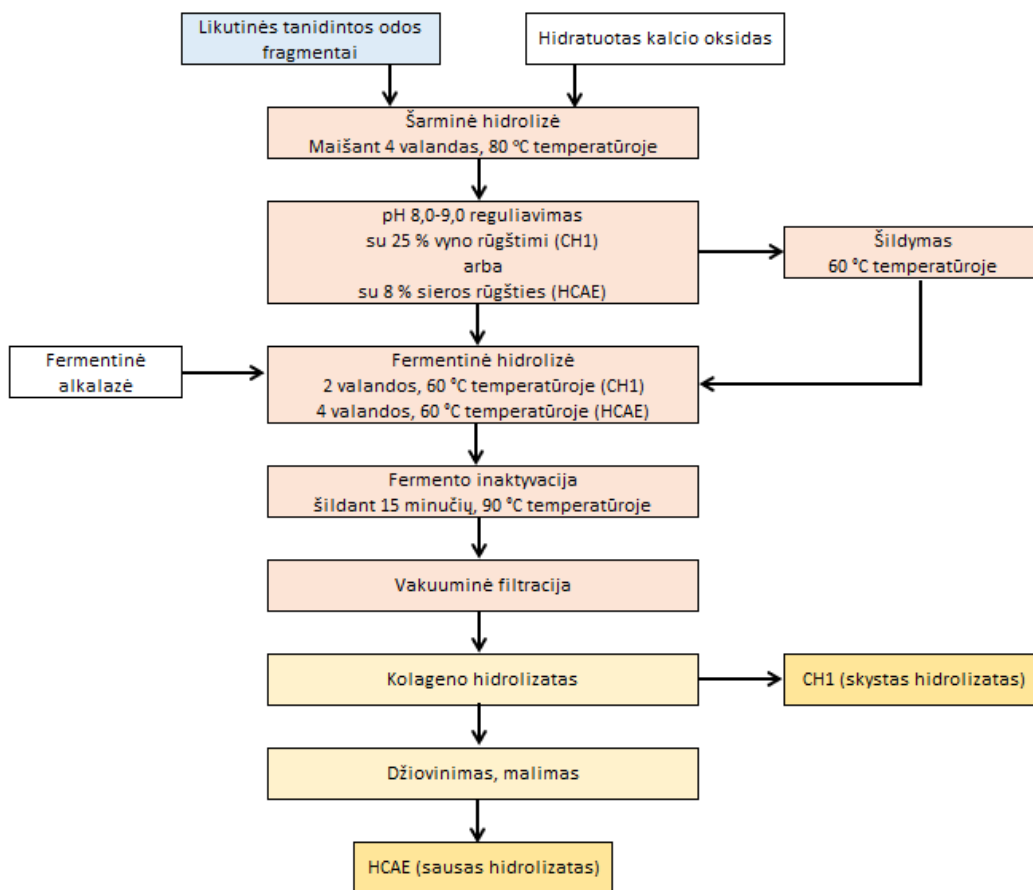
ekstrahavimo būdą, želatinos išeiga siekė tik 0,22 %, o apdorojant ją fermentu pepsinu, išeiga padidėjo iki 2,38 % [31]. Ahmad'as ir kt. [32], taikydami ekstrakcijos metodus, naudodami tetraacto rūgštį arba tetraacto rūgštį ir papajų fermentą, nustatė, kad pirmuoju atveju išeiga siekia 15,52 %, o antruoju – 23,68 %. Antra vertus, nors metodas, naudojant tiek rūgštį, tiek fermentą duoda didesnę išeigą, tačiau gautos želatinos gelis yra mažesnio stiprio [32]. Taigi, palyginus keletą skirtingų tyrimų rezultatų, galima daryti išvadą, kad efektyviausias būdas išgauti didžiausias kolageno ar želatinos išeigas, yra naudojant tiek rūgštinį, tiek fermentinį metodus kartu.

Želatina lengvai tirpsta vandenyje ir yra lengvai virškinama [2]. Paprastai želatina yra tablečių, granulių arba miltelių pavidalo, ji dažnai yra naudojama konditerijoje, maisto pramonėje bei kosmetikos, farmacijos ir medicinos srityse, vaistų tiekimo sistemose, vaistų kapsulių gamyboje [2, 16, 30]. Želatina taip pat yra ištirta dėl biologinės naudos, tokios kaip antihipertenzinis, priešvėžinis, antifotosenėjimo ir cholesterolio kiekį mažinantis poveikis [33]. Iš želatinos gali būti formuojamos specialios plėvelės (ang. *gelatin lifters*), kurios naudojamos teismo medicinos srityje. Šios plėvelės naudojamos imant įspaudus nusikaltimo vietoje – jos uždedamos ant norimos vietos, o visos dulės ir batų bei pirštų įspaudai prilimpa prie plėvelės, kai ji nuimama nuo paviršiaus [30]. Želatinos dariniai, tokie kaip želatinos metakrililo (GelMA) hidrogeliai, plačiai naudojami 3D matricų, injekcinių gelių, biospausdintų matricų ir žaizdų gijimo preparatų kūrime [34]. Nors geliai gali būti formuojami tiek su kolagenu, tiek su želatina, jų susidarymo mechanizmai yra labai skirtingi. Tiek kolageno, tiek želatinos gelifikacijos procesas yra termiškai grįžtamas, tačiau vyksta priešingomis kryptimis: kolageno geliai tirpsta mažinant temperatūrą, o želatinos geliai tirpsta keliant temperatūrą [29].

1.2.2. Kolageno hidrolizato gavimas

Dar vienas kolageno polipeptidų terminės hidrolizės produktas yra hidrolizuotas kolagenas (ar kolageno hidrolizatas) – tai mažos molekulinės masės peptidų mišinys [2]. Kolageno hidrolizato susidarymą lemia gilesnė fermentinė arba cheminė kolageno hidrolizė [4, 35, 36]. Cheminė hidrolizė apima šarminę ir rūgštinę hidrolizę. Rūgštinė hidrolizė gali būti vykdoma su įvairiomis organinėmis ir neorganinėmis rūgštimis, pavyzdžiui, pieno, citrinos, acto ar druskos rūgštis. Rūgštinės hidrolizės privalumai yra tai, kad ji pigi ir lengvai kontroliuojama, taip pat, jos išeiga yra didelė, todėl galima išgauti didelį kiekį kolageno hidrolizato. Šarminė hidrolizė yra procesas, kurio metu kolagenas hidrolizuojamas naudojant kalio hidroksidą, bario hidroksidą, natrio hidroksidą arba ličio hidroksidą. Šis hidrolizės metodas dažniausiai laikomas pranašesniu už rūgštinį metodą todėl, nes jos metu yra geriau išsaugoma baltymų struktūra [4].

Taip pat, literatūros šaltiniuose nurodoma, kad iš chromuotos odos atliekų dažniausiai yra ekstrahuojamas ne grynas kolagenas, o gaunami kolageno hidrolizatai [3, 26, 37]. Literatūros šaltiniuose nurodoma keletą skirtingų būdų, kaip gali būti išgaunami tokie hidrolizatai, tačiau populiariausi yra jau anksčiau minėti šarminiai ekstrakcijos metodai [26]. Pavyzdžiui, kolageno hidrolizatui gauti siūloma odos miltelius maišyti su $\text{Ca}(\text{OH})_2$, NaOH (arba su CaO) ir distiliuotu vandeniu bei fermentu, o gautą mišinį centrifuguoti [3, 26]. Kitas metodas aprašo panašų procesą, vietoje $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ir NaOH naudojant MgO ir vykdant 3 stadijų reakcijas [26]. Po hidrolizės susidaro du produktai: kolageno hidrolizatas ir kietas produktas, kurio sudėtyje yra daugiausiai netirpūs chromo ir kalcio / magnio junginiai [37]. Kolageno hidrolizato pramoninė išgavimo schema pavaizduota 3 paveiksle [3].



3 pav. Pramoninis kolageno hidrolizato ekstrakcijos būdas [3]

Kolageno hidrolizatas pasižymi puikiomis techninėmis ir funkcinėmis savybėmis, tokiomis kaip emulsinimo ir putojimo geba, vandens bei aliejaus sugertis, taip pat jis yra klampus. Šios jo savybės kolageno hidrolizatą tinkamu panaudoti maisto ir farmacijos pramonėje [4]. Jis, kaip ir želatina, lengvai tirpsta vandenyje, yra lengvai sorbuojamas, emulguojamas ir stabilizuojamas, gerai pasiskirsto žmogaus organizme, pasižymi chemotaksinėmis savybėmis kraujyje ir padeda odai bei plaukams atstatyti savo struktūrą [2, 38].

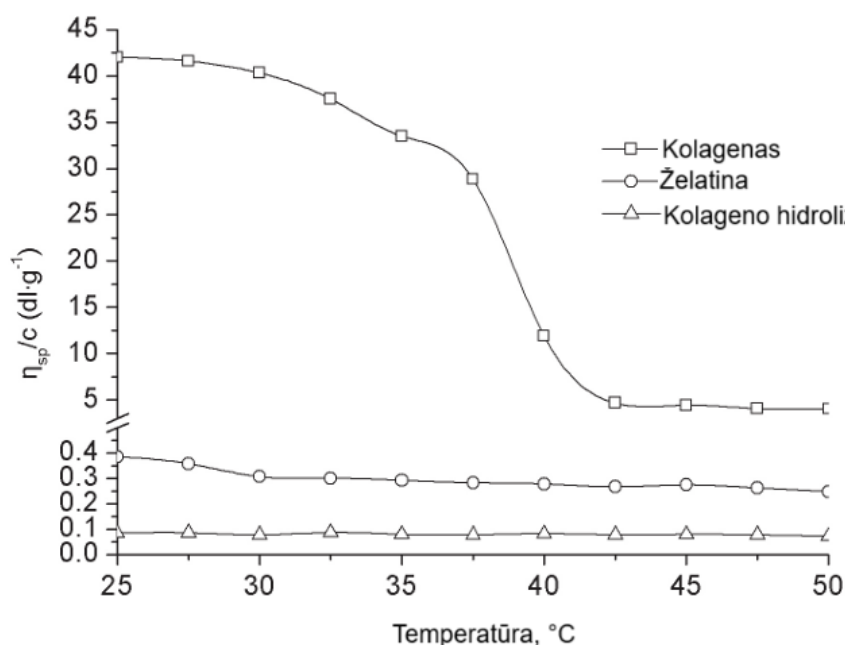
Vis daugiau tyrimų įrodo, kad kolageno hidrolizatas turi teigiamą poveikį kūno sveikatai. Be jau anksčiau išvardintų savybių, jis taip pat pasižymi tokiomis biologinėmis savybėmis kaip antioksidacinės, antiuždegiminės, antibakterinės, taip pat turi antihipertenzinį aktyvumą ir lipidų kiekį mažinantį aktyvumą [35, 39]. Dėl tokio poveikio, kolageno hidrolizatas yra naujas ir potencialus sveikatos priežiūros priedas, skirtas ligų prevencijai ar gydymui, jis naudojamas vaistų ir maisto produktuose. Moksliniai tyrimai parodo, kad hidrolizuotas kolagenas drėkina odą, gerina jos elastingumą ir padeda sulėtinti raukšlių atsiradimą, todėl jis yra naudojamas kosmetikoje. Tyrimai rodo, kad kartu su kalciumu ir vitaminu D vartojamas kolageno hidrolizatas padeda osteoporozės ir osteoartrito profilaktikai ir gydymui [35].

Ši medžiaga dėl savo savybių gali būti panaudota plėvelių gamyboje [37]. Deja, skirtingai nuo kolageno, tam, kad kolageno hidrolizato plėvelės įgautų geras mechanines savybes, jį dažniausiai reikia derinti su kitais sintetiniais arba gamtiniais polimeriais [27, 38]. Vienas iš dažniausiai naudojamų biopolimerių, kartu su kolageno hidrolizatu ir želatina sudarant plėveles yra chitozanas

[27, 40]. Sumaišius kolageno hidrolizatą su kitomis plėvelės formuojančiomis medžiagomis ir įvertinus gautų plėvelių mechanines savybes nustatyta, kad plėvelės atsparumas tempimui ir ištįsa pagerėja [37].

1.2.3. Kolageno ir jo darinių savybių palyginimas

Lyginant ekstrahuoto kolageno, želatinos ir kolageno hidrolizato savybes, kolageno molekulinė masė siekia apie 200–300 kDa, želatinos molekulinės masės pasiskirstymas yra labai platus ir siekia nuo 20 iki 200 kDa, o kolageno hidrolizato molekulinė masė dažniausiai siekia nuo 0,3 iki 8 kDa [4, 16, 41]. Lyginant želatinos ir kolageno hidrolizato savybes nustatyta, kad hidrolizuotas kolagenas yra geriau absorbuojamas ir turi didesnį biologinį prieinamumą nei želatina [27, 35]. Taip pat, denatūravimo proceso metu, keliant temperatūrą, kolageno klampa, dėl trigubų spiralių suardymo, labai sparčiai mažėja. Želatinos ir kolageno hidrolizato atveju, kylant temperatūrai, klampa mažėja tik šiek tiek, kadangi šiose kolageno struktūrose tokių spiralių yra likę ženkliai mažiau nei gryname kolagene, todėl jų suardymas nesukelia tokios didelės įtakos klampai. Kolageno, kolageno hidrolizato ir želatinos klampos mažėjimo priklausomybė nuo temperatūros pateikta 4 paveiksle [16].



4 pav. Kolageno, želatinos ir kolageno hidrolizato klampos mažėjimas priklausomai nuo temperatūros [16]

1.3. Priemonės kūno žaizdoms izoliuoti ir gydyti

Žmogaus oda yra didžiausias kūno organas, kuris atlieka svarbią funkciją – saugo organizmą nuo išorinių aplinkos trukdžių, tokių kaip patogenai ir cheminės medžiagos. Kai odos struktūra yra pažeidžiama traumų, chirurginių operacijų, nudegimų, įbrėžimų metu, šios vietos pasidaro lengvai prieinamos mikroorganizmams bei atsiranda rizika žaizdų infekcijai. Dėl šios priežasties žaizdų gijimo skatinimas po odos sužalojimų yra labai svarbus organizmo homeostazės palaikymui [42]. Vienas iš efektyviausių žaizdų gydymo ir komplikacijų išvengimo būdų yra antibakterinių žaizdų tvarsčių taikymas [5]. Žaizdų tvarščiai yra efektyvus ir plačiai taikoma žaizdų gydymo būdas, užtikrinantis greitesnį gijimą ir sumažinantis randų susidarymo riziką [42]. Tinkamas žaizdos tvarstis turi sugerti išsiskiriančius audinių skysčius ir lengvai atsiskirti nuo žaizdos paviršiaus nesukeldamas dirginimo, taip pat būti pralaidus vandens garams ir deguoniui, izoliuojantis šilumą, antibakterinis,

netoksiškas ir nesukeliantis alergijų [5, 40]. Žaizdų tvarsčiai pagal medžiagos sudėtį gali būti skirstomi į tradicinius, sintetinių polimerų, natūralių polimerų ir mišrių polimerų tvarsčius [40, 43].

Tradiciniai žaizdų tvarsčiai buvo naudojami jau nuo XIX amžiaus, juos dažniausiai sudaro marlė, medvilniniai audiniai ir linas. Tokie tvarsčiai vis dar plačiai naudojami dėl mažos kainos, patogaus naudojimo, gana paprasto gamybos proceso ir apsauginio poveikio ūmiai žaizdai. Tačiau tokios medžiagos nesugeba palaikyti drėgnos aplinkos ir turi silpną hemostatinį poveikį. Tvarsčiai, sudaryti iš sintetinių polimerų, pasižymi patraukliomis savybėmis, tokiomis kaip puikios mechaninės savybės, lengvas funkcionalizavimas ir neimunogeniškumas [43]. Sintetiniai polimerai, kurie gali atitikti žaizdų tvarsčių reikalavimus, daugiausia yra polivinilo alkoholis (PVA), polipieno rūgštis (PLA), poliuretanai (PU), poliglikolio rūgštis (PGA), polietilenglikolis (PEG), polivinilpirolidonai (PVP) [43]. PVA tinka ūmių žaizdų dangalams dėl savo privalumų – netoksiškumo, vandens sulaikymo, skaidrumo, biologinio suderinamumo ir galimybės prasiskverbti mažoms molekulėms. PEG dėl mažo imunogeniškumo ir toksiškumo bei stipraus hidrofiliškumo suteikia minkštą segmento struktūrą hidrogeilams ir taip pat yra vienas iš dažniausiai naudojamų polimerų plėvelių gamyboje [43].

Natūralūs polimerai yra organiniai junginiai, kuriuos gamina gyvi organizmai, jie pasižymi puikiu biologiniu suderinamumu, dideliu biologiniu aktyvumu ir skaidumu, taip pat antibakteriniu ir priešuždegiminiu poveikiu, todėl tai yra viena iš alternatyvių žaliavų plėvelių gamybai [43]. Natūralūs polimerai gaunami iš gyvūnų, augalų ir mikroorganizmų, pavyzdžiui, chitozanas, alginatas, celiuliozė, krakmolas, šilko baltymai, keratinas, kolagenas, želatina [40, 43]. Biopolimerai turi nemažai unikalių savybių, tokių kaip lengvas apdorojimas, antibakterinės savybės ir žaizdų gijimo skatinimas [42]. Kolagenas, kaip pagrindinis odos komponentas, jau ilgą laiką yra tiriamas lėtinių odos žaizdų gydymo srityje, gaminant plėveles, tvarsčius, granules, karkasus. Kolageno pagrindu išgautos plėvelės vaidina svarbų vaidmenį žaizdų gijimo, pažeistų audinių sutvirtinimo ir regeneracijos procesuose [44]. Pavyzdžiui, chitozanas, celiuliozė, alginatai ir krakmolas dėl savo nekenksmingumo gali būti naudojami plėvelėms burnos ertmėje [40].

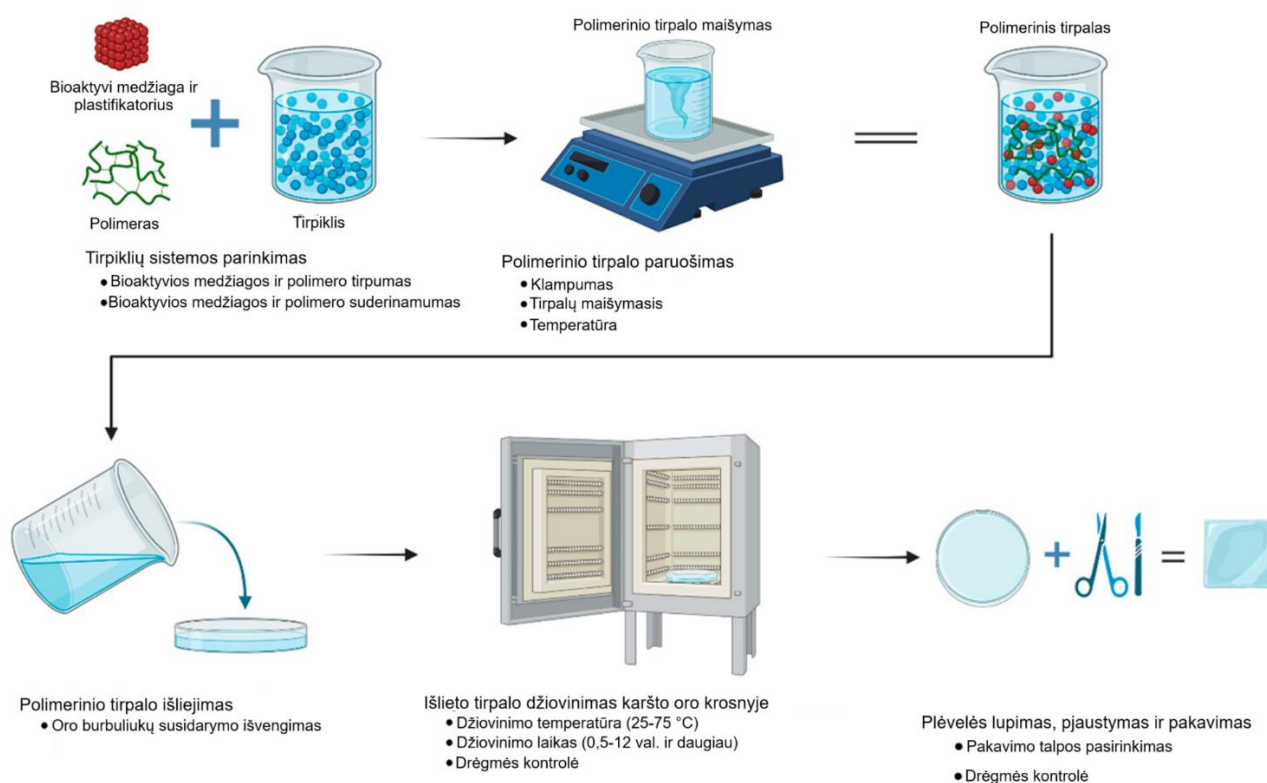
Gaminant tvarsčius iš mišrių polimerų, gali būti maišomos gamtinės ir sintetinės žaliavos. Maišant skirtingus polimerus, galima gauti abiejų polimerų pranašumus turinčią plėvelę, kuri turi geresnes fizikines, chemines ir mechanines savybes. Tačiau maišant polimerus labai svarbu pasiekti suderinamumą, nes priešingu atveju gauto mišinio savybės gali pablogėti [45].

1.3.1. Medicininių plėvelių gamyba

Dažniausiai naudojamas plėvelių liejimo būdas yra taikant tirpiklio liejimo metodą [46]. Šis metodas yra paprastas ir turi daug privalumų – plėvelės fizikinių ir cheminių savybių išlaikymas, nebrangus apdorojimas ir pakankamas storio vienodumo išlaikymas [40]. Vis dėlto, naudojant didesnę tirpiklio kiekį, gaminant plėveles pramoniniu mastu, gamyba tampa brangesnė ir sudėtingesnė, dėl šios priežasties turi būti atliekamas įvairių parametrų, tokių kaip maišymo temperatūra ir greitis, liejimo greitis, džiovavimo laikas, optimizavimas [46].

Visų pirma, gaminant plėveles tirpiklio liejimo metodu, polimeras, plastifikatorius ir naudojamas ekstraktas yra ištirpinami tirpiklyje. Svarbu, kad visos medžiagos būtų tirpios parinktame tirpiklyje, o gautas tirpalas būtų homogeniškas. Sunkiai tirpiems polimerams įprasta naudoti prietaisus, kuriais galima didinti slėgį ir temperatūrą ir taip padidinti jų tirpumą. Dažniausiai maisto ir medicinos pramonėje naudojamas tirpiklis plėvelių gamyboje yra vanduo [40]. Tirpinimo ir maišymo metu labai svarbu parinkti tinkamą maišymo greitį ir temperatūrą [46]. Ištirpinus kietas žaliavas tinkamame

tirpiklyje, tirpalas supilama į formelę, išdžiovinamas, supjaustomas, nulupamas ir supakuojamas. Dažniausiai, kaip plėvelės liejimo pagrindai, yra naudojamos stiklo, plastiko, nerūdijančio plieno arba teflono plokštės [47]. Taip pat, svarbu yra optimizuoti džiovinimo parametrus [46]. Per didelis džiovinimo greitis gali padidinti burbuliukų susidarymą plėvelėje, todėl svarbu parinkti tinkamą džiovinimo temperatūrą [46]. Dažniausiai plėvelės džiovinimo temperatūra siekia 25–75 °C laipsnių, o jos džiovinimo laikas gali svyruoti nuo 0,5 iki 12 ar net daugiau valandų, todėl plėvelė gali būti džiovinama net ir kambario temperatūroje. Medicininės plėvelės gamybos schema pavaizduota 5 paveiksle [40].



5 pav. Medicininės plėvelės gamyba tirpiklio liejimo metodu [40]

1.3.2. Kolageno ir jo darinių panaudojimas medicininėms plėvelėms

Kolagenas, želatina ir kolageno hidrolizatas taip pat gali būti naudojami kaip bioaktyvių komponentų nešikliai ir būti pritaikomi apsauginių žaizdų plėvelių gamyboje. Jų plėvelių praturtinimas natūraliais antioksidantais ar antimikrobinėmis medžiagomis pailgina šių biologiškai skaidžių plėvelių funkcines savybes. Visas šių plėvelių savybes labiausiai lemia molekulinės masės pasiskirstymas ir aminorūgščių sudėtis – silpnesnės ir lengviau deformuojamos plėvelės yra gaunamos, kai naudojamame želatinos preparate vyrauja mažos molekulinės masės fragmentai. Taip pat, plėvelės elastingumas labai priklauso ir nuo aminorūgščių sudėties, pavyzdžiui, Gly, Pro ir Hyp aminorūgštys suteikia plėvelei standumo ir stiprumo, o plėvelės, turinčios mažiau šių aminorūgščių yra daugiau elastingos, tačiau mažiau atsparios plyšimui [29]. Taip pat, tiriant skirtingų aminorūgščių įtaką antioksidacinėms savybėms, nustatyta, kad daugiausiai įtakos šiai želatinos ir kolageno hidrolizato savybei turi Trp, Tyr ir Met aminorūgštys, tačiau taip pat svarbu, kad šios aminorūgštys būtų išsidėsčiusios tam tikra tvarka [29]. Kolageno hidrolizės produktų pagrindu suformuotos plėvelės pasižymi palyginti geromis deguonies barjerinėmis savybėmis ir mechaniniu atsparumu esant mažam arba vidutiniam santykiniam oro drėgnumui. Vis dėlto, šios savybės suprastėja esant dideliame

santykiniam drėgniui dėl želatinos ir kolageno hidrolizato hidrofiliskumo, nes kontaktuodamos su didelę drėgmę turinčiais paviršiais plėvelės išbrinksta ir gali pradėti tirpti [29, 33]. Antra vertus, į šias plėveles įterpus įvairias natūralias ir sintetines medžiagas, galima pagerinti jų mechaninį ir terminį stabilumą, elastingumą ir lankstumą [28].

Kadangi tiek želatina, tiek kolageno hidrolizatas turi pakankamai mažą mechaninį stiprumą, tai yra vienas iš jų pritaikymo trūkumų, bet šias medžiagas naudojant kartu su kitomis medžiagomis, kurios turi didesnę mechaninį stiprumą ir elastingumą, galima gauti gerų savybių plėveles [5]. Dažniausiai literatūros šaltiniuose yra aprašomos plėvelės, pagamintos iš želatinos ir chitozano, į jas inkorporavus papildomų plastifikatorių ir bioaktyvių medžiagų [5, 42].

Želatinos ir kolageno hidrolizato plėvelės ruošiamos tokiu pačiu principu, kaip ir kitos medicininės plėvelės. Dažnai naudojamas metodas – tirpiklio liejimo. Iš pradžių želatina / kolageno hidrolizatas yra ištirpinami šiltame vandenyje, po to tirpalas pilamas ant lėkštės arba padėklo ir džiovinamas krosnyje. Prieš parenkant džiovinimo temperatūrą labai svarbu atkreipti dėmesį į naudojamų baltymų denatūracijos temperatūrą, kad plėvelė nepakeistų savo savybių [33].

1.4. Biopolimerinių plėvelių gamyboje naudojami priedai

1.4.1. Plastifikatoriai

Dažnai plėvelių gamyboje naudojamos polimerinės ar biopolimerinės žaliavos nepasižymi pakankamu lankstumu (elastingumu ir plastiškumu), todėl šioms savybėms pagerinti yra naudojami plastifikatoriai. Plastifikatoriai yra nelakieji junginiai, dažniausiai naudojami kaip priedai, kurių pagrindinis tikslas – pagerinti polimerų lankstumą, perdirbimo galimybes ir sumažinti stiklėjimo temperatūrą (T_g), t. y. temperatūrą, kurioje polimerai iš standžios būsenos pereina į lankstesnę [40]. Įprastas plastifikatorių veikimo mechanizmas yra jų įsiterpimas tarp polimero grandinių, susilpninantis polines sąveikas bei vandenilinius ryšius tarp baltymo molekulių, dėl to sumažėja grandinių tarpusavio traukos (ang. *van der Waals*) jėgos ir padidėja baltyminių grandinių tarpusavio judrumas bei drėgmės sulaikymas [48]. Plastifikatoriai susilpnindami tarp molekulinės jėgas tarp polimero grandinių padidina laisvą erdvę ir grandinių judrumą [40].

Dėl plastifikatoriaus buvimo paprastai padidėja plėvelių lankstumas ir elastingumas, tačiau sumažėja jų tampros modulis ir tempiamasis stipris. Vis dėlto tam tikros sąveikos gali padidinti lankstumą, tampros modulį ir tempiamąjį stiprį. Renkantis plastifikatorių žaizdų gijimui skirtoms plėvelėms gaminti, reikėtų atsižvelgti į tokius veiksnius kaip plastifikatoriaus toksiškumas, suderinamumas su polimeru ir vaistu ar biologiškai aktyviu komponentu, įtaka vaisto išsiskyrimui ir poveikis plėvelės mechaninėms savybėms [40]. Dažniausiai literatūroje aprašomi su biopolimerais naudojami plastifikatoriai yra glicerolis, polietilenglikolis, sorbitolis, maltitolis, polivinilo alkoholis [48]. Skirtinguose literatūros šaltiniuose nurodomos skirtingos naudojamų plastifikatorių koncentracijos baltyminėse plėvelėse, ji gali siekti nuo 15 iki 50 % nuo baltymų masės [48, 49].

1.4.2. Bioaktyvios medžiagos

Nors biopolimerai, naudojami biopolimerinių plėvelių gamyboje, dažnai pasižymi žaizdų gijimą skatinančiu poveikiu – pavyzdžiui, antimikrobinėmis ir antioksidacinėmis savybėmis – šių savybių veiksmingumas gali būti ribotas [40, 45]. Dėl šios priežasties, norint pagerinti šias savybes, į plėveles inkorporuojami kiti komponentai. Tai gali būti sintetiniai ar natūralūs junginiai – įvairūs ekstraktai,

polisacharidai, alkaloidai, polifenoliai ir eteriniai aliejai, antibiotikai, triazolai, nanodalelės [40, 45, 50, 51]. Priklausomai nuo gamybos technikos, kolageno pagrindu pagaminti žaizdų tvarsčiai, kuriuose yra kitų natūralių polimerų ir augalinių bioaktyvių junginių, gali būti skirstomi į įvairių tipų porėtus karkasus: kempines, elektroverpuotas nanoplaušto matricas, plėveles, hidrogelius [45].

Atliekant įvairius tyrimus nustatyta, kad priklausomai nuo pridėdama ekstrakto, pakinta plėvelės tempiamasis stipris ir ištįsa. Šie skirtumai gali būti siejami su naudojamų augalų ekstraktų kokybine ir kiekybine sudėtimi. Į plėveles inkorporuojant greipfrutų sėklų ir žaliosios arbatos ekstraktus, padidėja plėvelės tempiamasis stipris ir sumažėja vandens garų pralaidumas [29].

Į plėvelių sudėtį kaip bioaktyvios medžiagos gali būti inkorporuojami įvairūs natūralūs augaliniai ekstraktai. Vienas iš tokių augalų pavyzdžių – alavijas. Šis augalas žaizdų, nudegimų, opų gydymui yra naudojamas jau daugiau nei 5000 metų. Alavijų sudėtyje yra daug natūralių biologiškai aktyvių junginių – saponinų, acemananų, antrachinono darinių, kurie ir suteikia šiam augalui antibakterines savybes [52]. Literatūroje pateikiama nemažai tyrimų dėl skirtingų vaistažolių ekstraktų gydomojo poveikio, tiriant jose esančias veikliąsias medžiagas. Plėvelės su šiomis medžiagomis gali būti naudojamos ne tik medicinos, bet ir maisto pakavimo srityje [53, 54]. Vienos iš vaistažolių, pasižyminčios antibakterinėmis ir antioksidacinėmis savybėmis, yra siauralapis gaurometis (lot. *Chamaenerion angustifolium* L.) ir jonažolė (lot. *Hypericum perforatum* L.) [55, 56]. Jau nuo senų laikų, remiantis tradicine medicina, siauralapio gauromečio šaknys ir žolė buvo naudojami kaip ekstraktai ir užpilai gydant virškinamojo trakto sutrikimus ir odos ligas [55]. Abi šios žolės turi nemažai polifenolinių junginių, tokių kaip flavonoidai, fenolinės rūgštys ir elagitaninai, enoteinas B, kurie lemia jų antibakterinę ir antioksidacinę poveikį [56, 57].

2. Tiriamoji dalis

2.1. Medžiagos ir metodai

2.1.1. Tyrimo objektas

Šio tiriamojo darbo objektas yra kolageno pagrindu pagamintos plėvelės su įterptomis bioaktyviosiomis medžiagomis.

2.1.2. Naudojamos medžiagos

1 lentelė. Tyrimo metu naudojamos cheminės medžiagos

Medžiaga	Cheminė formulė	Molekulinė masė, g/mol	Medžiagos grynumas, %
Dimetilsulfoksidas	C ₂ H ₆ OS	78,13	99,7
Polietilenglikolis PEG 100000	H(OCH ₂ CH ₂) _n OH	100000	99
Polietilenglikolis PEG 20000	H(OCH ₂ CH ₂) _n OH	17000–20000	99
Polietilenglikolis PEG 1500	H(OCH ₂ CH ₂) _n OH	1000–1500	99
Glicerolis	C ₃ H ₈ O ₃	92,09	99
Triazolas 7–20	C ₁₈ H ₂₀ ON ₄ S	340,44	96
Euxyl® 9010 PE konservantas	C ₈ H ₁₀ O ₂ + C ₁₁ H ₂₄ O ₃	–	–
Koncentruota sieros rūgštis	H ₂ SO ₄	98,08	98,3
Natrio dichromatas	Na ₂ Cr ₂ O ₇	261,97	99,5

2 lentelė. Tyrimo metu naudojamos techninės medžiagos

Medžiaga	Gamintojas
Kolageno hidrolizatas*	Odų ir avalynės mokslinio tyrimo institutas, Rumunij
Želatina	UAB „Klingai“, Ispanija
Jonažolių žolė	UAB „Acorus Calamus“, Lietuva
Fermentuota gauromėčio žolė	UAB „Acorus Calamus“, Lietuva
Bakterijų kultūra <i>E. Coli</i>	KTU Cheminės technologijos fakulteto laboratorija
Bakterijų kultūra <i>Bacillus Subtilis</i>	KTU Cheminės technologijos fakulteto laboratorija
Kieta Luria–Bertani (LB) terpė	KTU Cheminės technologijos fakulteto laboratorija
Skysta Luria–Bertani terpė	KTU Cheminės technologijos fakulteto laboratorija
DPPH tirpalas (0,1 mM) etanolyje	KTU Cheminės technologijos fakulteto laboratorija

*Kolageno hidrolizatas gautas rūgštine hidrolize hidrolizuojant galvijų odą po nukalkinimo [58].

2.1.3. Plėvelių gavimas

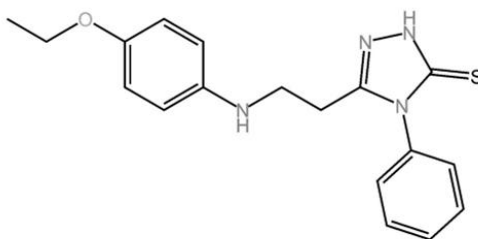
Polimerinės plėvelės gaminamos liejimo metodu. Gamybai naudojamos dvi pagrindinės medžiagos – kolageno hidrolizatas ir želatina, jos tirpinamos distiliuotame vandenyje. Iš pradžių į kūginę kolbą su analitinėmis svarstyklėmis (*Kern PEJ*, *Kern & Sohn*, *Vokietija*) pasveriamas kolageno hidrolizatas, želatina ir distiliuotas vanduo, santykiu 1:1:16. Kūginė kolba uždengiama parafinine plėvele, kad maišymo metu neišgaruotų vanduo, ir įstatoma į inkubatorinį kratytuvą su kontroliuojama temperatūra (*IKA KS 4000 ic control*, *IKA–Werke GmbH & Co*, *Vokietija*). Čia mišinys maišomas 12 valandų 40 °C temperatūroje, nustačius 160 aps./min. režimą. Po 12 valandų į homogenišką tirpalą įpilama paruošto vandeninio plastifikatoriaus tirpalo (skirtingomis koncentracijomis), mišinys vėl uždengiamas plėvele ir įstatomas atgal į inkubatorinį kratytuvą (*IKA KS 4000 ic control*, *IKA–Werke GmbH & Co*, *Vokietija*), kur yra maišomas dar 15 min, 40 °C temperatūroje, nustačius 160 aps./min. režimą. Tirpalas išliejamas ant Petri lėkštutės, kurios skersmuo 9 cm. Pirminės plėvelės džiovinamos natūraliomis sąlygomis, kambario temperatūroje iki tol, kol jų masė nebekinta.

2.1.4. Plėvelių su inkorporuotomis bioaktyviomis medžiagomis gavimas

Iš pradžių tirpalas yra ruošiamas pagal 2.3.1. poskyryje aprašytą metodiką. Tada į tirpalą su plastifikatoriumi inkorporuojamos bioaktyvios medžiagos. Priklausomai nuo to, kokia medžiaga naudojama, ji į tirpalą dedama miltelių arba tirpalo pavidalu, jų paruošimas aptariamas sekančiame poskyryje. Analitinėmis svarstyklėmis (*Kern 770, Kern & Sohn, Vokietija*) pasvėrus reikiamą kiekį bioaktyvios medžiagos, į kolbą įdedamas magnetas, kolba uždengiama plėvele ir maišoma magnetinėje maišyklėje (*IKA C-MAG HS 4, IKA-Werke GmbH & Co, Vokietija*), 40 °C temperatūroje 10 minučių, kad medžiagos kuo tolygiau pasiskirstytų tirpale. Po maišymo, kolba grąžinama atgal į inkubatorinį kratytuvą ir lėtai maišoma 60 aps./min., 40 °C temperatūroje 10 minučių, užtikrinant, kad tirpale nebels susidariusių oro burbuliukų. Tada tirpalas yra supilamas į plastikinę Petri lėkštelę, kurios skersmuo yra 9 cm. Plėvelė džiovinama 70 °C temperatūroje, inkubatoriniame kratytuve (*IKA KS 4000 ic control, IKA-Werke GmbH & Co, Vokietija*), 0 aps./min. režimu, su oro cirkuliacija iki tol, kol jos masė nebekinta, t.y. 12–24 valandas, priklausomai nuo plėvelės sudėties.

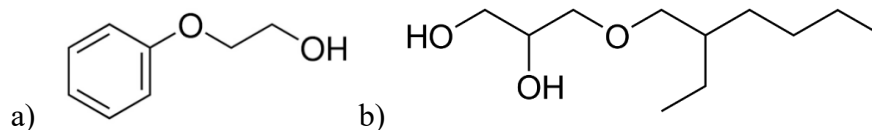
2.1.5. Bioaktyvių medžiagų gavimas ir paruošimas

Tyrimui naudojamos dviejų rūšių bioaktyvios medžiagos – sintetinės ir natūralios. Viena iš sintetinių medžiagų – KTU Organinės chemijos katedroje susintetintas triazolas 7–20. Jo struktūrinė formulė pavaizduota 6 paveiksle.



6 pav. Triazolo 7–20 struktūrinė formulė

Kita sintetinė medžiaga, naudojama plėvelių gamyboje – Euxyl® 9010 PE konservantas. Jis dažnai yra naudojamas kosmetikoje ir odos priežiūros produktuose. Šio produkto sudėtį sudaro 90 % fenoksietanolio ir 10 % etilheksilglicerino [59]. Tai yra skysto pavidalo medžiaga, todėl reikiamas jos kiekis į tirpalą lašinamas su pipete. Medžiagos sudėties struktūrinės formulės pateiktos 7 paveiksle.



7 pav. Euxyl® 9010 PE sudėtis: a) Fenoksietanolis b) Etilheksilglicerinas

Kaip gamtinės bioaktyviosios medžiagos naudojamos augalinės žaliavos – jonažolių ekstraktas ir gauromečio ekstraktas. Šie ekstraktai ruošiami vandenyje, į susmulkintą augalinę žaliavą įpilama tirpiklio santykiu 1:10, tada indas su ekstraktu uždengiamas su parafinine plėvele ir dedamas į inkubatorinį kratytuvą su kontroliuojama temperatūra (*IKA KS 4000 ic control, IKA-Werke GmbH & Co, Vokietija*). Čia jis yra maišomas 24 valandas kambario temperatūroje, nustačius 160 aps./min.

režimą [60, 61]. Praėjus 24 valandoms gautas ekstraktas yra filtruojamas per 10 µm porėtumo filtrinį popierių. Gautas ekstraktas, įvertinus ekstraktyvo kiekį jame, pilamas į paruoštą pirminį plėvelės tirpalą.

2.1.6. Plastifikatorių tirpalų paruošimas

Tyrimo metu naudojami skirtingų rūšių plastifikatoriai. Literatūroje pateikiama, kad dažniausiai iš hidrolizuoto kolageno ar želatinos plėvelėse kaip plastifikatoriai yra naudojamas glicerolis, įvairių molekulinų masių polietilenglikolis (PEG) ar etilenglikolis [48, 62, 63, 64]. Taip pat, kaip plėvelių formavimo agentas, naudojamas polisacharidas hidroksietilceliuliozė [65]. Dėl šios priežasties plėvelių gamyboje buvo naudojami 3 skirtingų molekulinų masių (100000, 20000, 1500) PEG tirpalai ir glicerolis. Visi PEG plastifikatoriai buvo naudojami tirpalų pavidalu, kurių koncentracija 10 %. Į kūginę kolbą su analitinėmis svarstyklėmis (*Kern 770, Kern & Sohn, Vokietija*) sveriamas plastifikatorius ir distiliuotas vanduo, santykiu 1:9, tirpalas gerai išmaišomas, kol visos kietos dalelės ištirpsta. Pagamintos plėvelės su skirtingais plastifikatoriais ir skirtingomis jų koncentracijomis vertinamos organoleptiškai bei mechaninio stiprumo bandymo metu. Geriausių savybių plėvelės naudojamos tolimesniuose tyrimuose.

2.1.7. Plėvelių organoleptinių savybių nustatymas

Plėvelių bioaktyvių medžiagų savybės nustatomos organoleptiškai tam, kad būtų išrinkta, kurie plastifikatoriai polimerinėms plėvelėms suteikia geriausias savybes. Organoleptinių savybių tyrimo metu stebimos plėvelių savybės: išvaizda, lankstumas, prigludimas prie odos. Nustačius šias savybes pasirenkamos plėvelės ir atitinkamos jų sudėtys, su kuriomis bus atliekami tolimesni tyrimai.

2.1.8. Ekstrakcijos išeigos apskaičiavimas

Norint apskaičiuoti reikalingą ekstraktyvo kiekį plėvelės formavimui, reikia žinoti ekstrakcijos išeigą. Pirmiausia, būtina nustatyti ekstrakto esančio ekstraktyvo koncentraciją. Į žinomos masės iškaitintą biuksą analitinėmis svarstyklėmis (*Kern 770, Kern & Sohn, Vokietija*) labai tiksliai pasveriami 2 gramai ekstrakto, jis įdedamas į džiovinimo krosnį (*SNOL 67/350, SNOLTHERM, Lietuva*) ir džiovinamas 24 valandas, 70 °C temperatūroje. Praėjus 24 valandoms biuksas pasveriamas. Biuksas dedamas atgal į krosnį (*SNOL 67/350, SNOLTHERM, Lietuva*), svėrimas pakartojamas kas 24 valandos iki pastovios masės. Tada ji yra užfiksuojama ir apskaičiuojama ekstraktyvo koncentraciją ekstrakto $C_{ekstr.}$ %, pagal formulę (1):

$$C_{ekstrakt.} = \frac{mas\acute{e} po džiovinimo}{mas\acute{e} prieš džiovinimą} * 100, \% \quad (1)$$

Ekstraktyvo išeigai apskaičiuoti remiamasi tuo, kad po ekstrakto nupylimo nuo žolių, jos nuspaudžiamos ir išspaustas ekstraktas sumaišomas su nupiltuoju. Gautas ekstraktas pasveriamas ir masė užrašoma ($mas\acute{e}_{ekstrakt.}$ g). Ekstraktyvo išeiga (I, %) apskaičiuojama (2):

$$I_{ekstraktyvo} = \frac{C_{ekstrakt.} * mas\acute{e}_{ekstrakt.}}{mas\acute{e}_{ekstrahuojamos medžiagos}}, \% \quad (2)$$

2.1.9. Plėvelių fizikinių, mechaninių ir cheminių savybių nustatymas

2.1.9.1. Plėvelių mechaninių savybių nustatymas

Plėvelių stipris tempiant, ištįsa trūkio metu ir Jungo modulis nustatomi atliekant bandymus naudojant tempimo mašiną (*Zwick/Roell, ZwickRoell GmbH & Co, Vokietija*). Iš pradžių iš plėvelės padaromas „kauliuko“ formos mėginys, kurio ilgis yra 5 mm, plotis 2 mm, o storis priklausomai nuo bandinio rūšies. Kauliukas suformuojamas išspaudžiant formą į plėvelę, naudojant rankinį presavimo aparatą. Bandinys 24 valandas laikomas kambario temperatūroje, standartinėse sąlygose – eksikatoriuje su sočiuoju $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ tirpalu, kuris palaiko ~52 % santykinį oro drėgnį [66]. Mėginiai išlaikomi būtent tokiam drėgnyje todėl, kad atliekant tyrimus rezultatai būtų kuo tikslesni, o ~50 % santykinė drėgmė yra laikoma standartine, nes ji yra panašiausia į patalpose vyraujančią drėgmę [66]. Ne anksčiau kaip po 24 valandų bandinys naudojamas mechaniniams bandymams. Jis yra įstatomas tarp dviejų gnybtų ir pritvirtinamas iš viršaus ir apačios, tada mašina tempia mėginį iki įtrūkimo 50 mm/min greičiu. Rezultatų tikslumui atliekami 4 bandymo pakartojimai su tos pačios rūšies plėvele, apskaičiuojami matavimų vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai.

2.1.9.2. Plėvelių džiūvimo trukmės nustatymas

Plėvelės su inkorporuotomis bioaktyviosiomis medžiagomis yra džiovinamos inkubatoriniame kratytuve (*IKA KS 4000 ic control, IKA-Werke GmbH & Co, Vokietija*), 0 aps./min. režimu, 70 °C temperatūroje su oro cirkuliacija iki tol, kol jos masė nebekinta. Plėvelių masės fiksuojamos iš pradžių kas 4 valandas, vėliau kas 12 valandų, jos yra sveriamos analitinėmis svarstyklėmis (*Kern 770, Kern & Sohn, Vokietija*). Plėvelių džiūvimo pabaiga laikoma tada, kai plėvelės svoris nusistovi ir nebekinta. Matavimų rezultatai palyginami, apskaičiuojami matavimų vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai.

2.1.9.3. Storio nustatymas

Plėvelių storis matuojamas su elektroniniu storio matuokliu (*Mitutoyo ABSOLUTE, Mitutoyo Corporation, Japonija*), 5 skirtinguose plėvelės taškuose, apskaičiuojami matavimų vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai.

2.1.9.4. Vandens garų sorbcijos nustatymas

Bandiniai laikomi eksikatoriuose, kuriuose yra skirtingas santykinis oro drėgnis (s.o.d.). Drėgnių palaikymui eksikatoriuose naudojami skirtingų koncentracijų sieros rūgšties arba natrio dichromato tirpalai [66, 67]. Šio tyrimo metu mėginiai laikomi esant tokiems santykiniams drėgnumams – 25 %, 50 %, 75 % ir 100 % - 22-22 °C temperatūroje. 3 lentelėje nurodytos tirpalų sudėtys, koncentracijos ir santykiniai drėgniai, kurie palaikomi virš tirpalų.

3 lentelė. Tyrimo metu naudojami tirpalai, skirtingam santykiniam oro drėgniui palaikyti

Nr.	Tirpalas	Tirpalo koncentracija, %	Santykinis oro drėgnis kambario temperatūroje, %
1.	Sieros rūgštis	55	~25
2.	Natrio dichromatas	35	~50
3.	Sieros rūgštis	30	~75
4.	Distiliuotas vanduo	100	~100

Iš pradžių kiekviena tiriamoji plėvelė yra padalinama į keturias lygias dalis, jos yra pasveriamos su analitinėmis svarstyklėmis (*Kern 770, Kern & Sohn, Vokietija*). Plėvelės yra dedamos į krosnį (*SNOL 67/350, SNOLTHERM, Lietuva*) ir džiovinamos 48 valandas, 55 °C temperatūroje. Į keturis švairius, sausus ir hermetiškai uždaramus eksikatorius įpilama po 200 ml reikiamų tirpalų. Eksikatoriai paliekami 24 valandoms su tirpalais tam, kad juose susidarytų reikiamas santykinis oro drėgnis (atitinkamai 25 %, 50 %, 75 % ir 100 %). Kai plėvelės yra visiškai išdžiovinamos, jos dar kartą pasveriamos ir dedamos į skirtingų eksikatorių viduje esančias Petri lėkšteles. Eksikatorius yra sandariai uždaramas. Plėvelių mėginiai sveriami kas 24 valandas, rezultatai fiksuojami 5 paras, iki tol, kol masė nebekinta [68, 69]. Prieš kiekvieną svėrimą bandinių paviršius yra gerai nusauginamas. Apskaičiuojamas masės prieaugis mėginius laikant skirtingose sąlygose (3), rezultatai palyginami, skaičiuojami standartiniai nuokrypiai.

$$W = \frac{mas\acute{e}_{prie\acute{s} \acute{d}žiovinim\acute{a}} - mas\acute{e}_{po \acute{d}žiovinim\acute{o}}}{mas\acute{e}_{prie\acute{s} \acute{d}žiovinim\acute{a}}} * 100, \%.$$
 (3)

2.1.9.5. Plėvelių masės sumažėjimo laikant vandenyje įvertinimas

Bandiniai paruošiami iš plėvelės išpjovus 1 x 2 cm matmenų mėginius. Šie mėginiai yra išdžiovinami krosnyje (*SNOL 67/350, SNOLTHERM, Lietuva*) iki pastovios masės, t.y. 48 valandas, 55 °C temperatūroje. Kai mėginių masė nebekinta, išdžiūvusios plėvelės yra labai tiksliai pasveriamos analitinėmis svarstyklėmis (*Kern 770, Kern & Sohn, Vokietija*), užfiksuojama pradinė sausos plėvelės masė. Tada plėvelė yra perveržiama su siūlu ir įmerkama į laboratorinę stiklinę su 50 ml 20–22 °C temperatūros distiliuoto vandens. Plėvelė įmerkama taip, kad jos visas paviršius būtų vandenyje, bet ji nesiliestų prie indo kraštų. Stiklinė uždengiama parafinine plėvele, kad nevyktų vandens garavimas ir paliekama 24 valandas 20–22 °C temperatūroje. Po 24 valandų mėginys išimamas iš tirpiklio, nusauginamas ir įdedamas į žinomo svorio iškaitintą biuską. Biuskas su plėvelės mėginiu įdedamas į krosnį ir vėl kaitinamas 110 °C temperatūroje 24 valandas. Praėjus 24 valandoms biuskas pasveriamas ir dedamas atgal į krosnį, svėrimas pakartojamas po 24 valandų. Jei masė nebekinta, ji yra užfiksuojama ir skaičiuojamas plėvelės masės sumažėjimas (4), vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai [70, 71].

$$W = \frac{mas\acute{e}_{prie\acute{s} \acute{d}žiovinim\acute{a}} - mas\acute{e}_{po \acute{d}žiovinim\acute{o}}}{mas\acute{e}_{prie\acute{s} \acute{d}žiovinim\acute{a}}} * 100, \%.$$
 (4)

2.1.9.6. Plėvelių termogravimetrinė analizė (TGA)

TGA analizė atlikta terminės analizės prietaisu (*STA PT-1000 LINSEIS, Linseis Messgeraete GmbH, Vokietija*). Naudoti tigliai PT/Rh 10, etalonas – tuščias tiglio, temperatūra keliama 10 °C/min, atmosfera krosnyje – oro.

2.1.9.7. Furjė transformacijos infraraudonosios spinduliuotės spektroskopija (FTIR)

Plėvelių cheminė struktūra buvo nustatyta naudojant infraraudonosios spinduliuotės spektroskopiją. FTIR visiško atspindžio spektrai užrašyti spektrofotometru (*Frontier, Perkin Elmer, JAV*). Nedidelis kiekis bandinio prispaudžiamas prie deimanto kristalo plokštelės ir užrašomas spektras bangos skaičiaus srities intervale nuo 4000 cm⁻¹ iki 560 cm⁻¹. Skenavimų skaičius – 6, skiriamoji geba – 4 cm⁻¹. Duomenys apdorojami *Spectrum* programa.

2.1.10. Plėvelių mikrobiologinių savybių nustatymas

2.1.10.1. Plėvelių antibakterinių savybių nustatymas

Plėvelių antibakterinių savybių nustatymas atliekamas agar difuziniu metodu. Iš pradžių Petri lėkštelėje yra paruošiama kieta Luria–Bertani (LB) terpė. Tyrimas atliekamas naudojant gramteigiamas (*Bacillus subtilis*) ir gramneigiamas (*E. Coli*) bakterijas. Paruoštos bakterijų suspensijos yra skiedžiamos su skysta Luria–Bertani terpe. Skiedimas vykdomas iki tokios koncentracijos, kol suspensijos optinis tankis ties 600 nm bangos ilgiu bus lygus 0,1. Skiedimas apskaičiuojamas pagal formulę (5), o bakterijų optiniai tankiai matuojami su UV–VIS spindulių spektrofotometru (*SHIMADZU, UV–1280, Shimadzu Corporation, Japonija*).

$$\frac{C_1}{C_2} = \frac{V_2}{V_1}; \quad (5)$$

čia:

V_1 – reikalingas tirpalo tūris iš pradinio paruošto tirpalo;

V_2 – reikalingas galutinis tūris;

C_1 – pradinio tirpalo, paruošto su tiriamąją medžiaga, koncentracija;

C_2 – reikalinga gauti galutinė koncentracija.

Atlikus skiedimus iki reikiamos koncentracijos, ant Petri lėkštelės paskleidžiama 50 μ l *Bacillus Subtilis* ar *E.Coli* bakterijų suspensijos. Atliekant bandymą su polimerine plėvele, iš jos yra išpjunami 6 vienodo dydžio apvalūs diskeliai, jie 24 valandas yra laikomi standartinėse sąlygose ir išdėliojami ant Petri lėkštelės apskritimo forma. Visos Petri lėkštelės yra uždengiamos, apvyniojamos su parafinuota plėvele ir įdedamos į 37 °C temperatūros termostatą. Po 24 valandų stebimas bakterijų augimas ir bioaktyvių medžiagų antibakterinis poveikis, su liniuote matuojama kiekvieno mėginio inhibicijos zona, skaičiuojami vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai.

2.1.10.2. Plėvelių antioksidacinio aktyvumo nustatymas

Biologiškai aktyvių junginių antioksidacinio aktyvumo vertinimas vykdomas DPPH metodu. Tyrimas atliekamas su iš plėvelių išpjautais 1 x 1 cm diskeliais. Į mėgintuvėlį įlašinama 1 ml paruošto DPPH tirpalo (0,1 mM) etanolyje ir įdedamas 1 x 1 cm iš plėvelės išpjautas diskelis. Tirpalai paliekami tamsoje 20 minučių, tada atliekami matavimai su UV–VIS spindulių spektrofotometru (*SHIMADZU, UV–1280, Shimadzu Corporation, Japonija*). Iš pradžių pamatuojama „tuščiojo“ mėginio – vandens – šviesos sugertis 517 nm bangos ilgyje, tada bandymai atliekami su tiriamaisiais mėginiais. Rezultatų tikslumui atliekama po 2 pakartojimus, pagal formulę apskaičiuojamas procentinis DPPH slopinimas (6), skaičiuojami vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai.

$$\% \text{ slopinimas} = \frac{A_B - A_A}{A_B} * 100; \quad (6)$$

čia:

A_A – tiriamojo tirpalo šviesos sugertis;

A_B – palyginamojo tirpalo šviesos sugertis.

2.2. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

2.2.1. Biopolimerinių plėvelių paruošimas ir preliminarinių sudėčių parinkimas

Plėvelių gamybai kaip bazinė medžiaga buvo pasirinktas kolageno hidrolizatas. Ši medžiaga, kaip ir kolagenas, pasižymi geru biologiniu suderinamumu žmogui, tačiau turi mažesnę molekulinę masę, todėl lengvai tirpsta vandenyje [2]. Taip pat hidrolizuotas kolagenas yra atsparesnis temperatūrų pokyčiams ir, remiantis literatūros šaltiniuose pateikta informacija, yra puikiai tinkanti medžiaga žaizdų gydymo preparatų gamyboje [16, 72]. Atlikus pirminius kolageno hidrolizato plėvelių paruošimus nustatyta, kad, net ir naudojant plastifikatorius, kolageno hidrolizato plėvelės gaunasi trapios arba nepakankamai lanksčios. Taip gali nutikti dėl mažos jo molekulinės masės, kuri suteikia plėvelei nestabilią struktūrą. Dėl šios priežasties į plėvelės gali būti inkorporuojamas papildomas biopolimeras arba nanomedžiaga, kuri pagerina plėvelės savybes. Literatūroje pateikiama pavyzdžių, kai plėvelių gamyboje su kolageno hidrolizatu kartu naudojama papildoma medžiaga [5, 27, 42, 73, 74]. Taip pat, remiantis moksliniais straipsniais, galima daryti išvadą, kad tokių plėvelių elastingumas mažėja, didėjant kolageno hidrolizato koncentracijai [73].

Visų pirma, tyrimo metu buvo pagamintos kelių skirtingų sudėčių plėvelės, jos buvo išliejamos ant dviejų skirtingų paviršių – stiklinio ir plastikinio (4 lentelė).

4 lentelė. Plėvelių be plastifikatorių sudėtis

Nr.	Kolageno hidrolizato kiekis, g	Želatinos kiekis, g	Vandens kiekis, g	Džiovinimo paviršius
1.	1	0	8	Stiklas
2.	1	0	8	Plastikas
3.	0,5	0,5	8	Stiklas
4.	0,5	0,5	8	Plastikas

Lyginant skirtingus džiovinimo paviršius, geriausiai nuo paviršiaus atsiskiria plėvelės, kurios džiovinamos plastikinėse Petri lėkštelėse. Plėvelės, džiovinamos ant stiklinio paviršiaus, buvo sunkiai atskiriamos ir trupėjo, todėl tolimesniems tyrimams buvo pasirinkta naudoti plastikines Petri lėkšteles. Lyginant skirtingų sudėčių plėvelių savybes, visos plėvelės buvo neelastingos ir greitai lūžtančios, tačiau plėvelė su kolageno hidrolizatu ir želatina vertinant organoleptiškai buvo tvirtesnė ir mažiau trapi. Dėl šios priežasties tolimesniuose tyrimuose, kaip plėvelių bazinė medžiaga, buvo naudojami kolageno hidrolizatas ir želatina santykiu 1:1.

2.2.2. Plastifikatorių parinkimas ir organoleptinių savybių įvertinimas

Kaip jau minėta anksčiau, literatūros šaltiniuose nurodoma, kad gaminant plėveles su kolagenu ar jo dariniais, dažnai naudojami plastifikatoriai yra įvairių molekulinės masės PEG arba glicerolis [48, 62, 63]. Šio tyrimo metu buvo pasirinkti šie plastifikatoriai – PEG 1500, PEG 20000, PEG 100000, glicerolis. Visi plastifikatoriai į plėveles inkorporuojami tirpalo pavidalu. Buvo pasirinkta naudoti kelių skirtingų molekulinės masės PEG tirpalus, kadangi vienuose literatūros šaltiniuose nurodoma, jog geriausia naudoti kuo mažesnės molekulinės masės PEG, o kituose tyrimuose naudojami didesnės molekulinės masės junginiai. 5 ir 6 lentelėse pateiktos visos naudotų polimerų mišinio ir plastifikatorių sudėtys ir santykiai.

5 lentelė. Plėvelių su PEG plastifikatoriumi sudėtys

Nr.	Kolageno hidrolizato ir želatinos santykis	Kolageno hidrolizato ir želatinos bendras kiekis, g	Polietilenglikolio molekulinė masė, g/mol	Polietilenglikolio kiekis, g	Biopolimerų mišinio ir plastifikatoriaus santykis
1.	1:1	1	1500	0,25	4:1
2.				0,50	2:1
3.				0,75	4:3
4.				1,00	1:1
5.				1,25	4:5
6.				1,50	2:3
7.			20000	0,25	4:1
8.				0,50	2:1
9.				0,75	4:3
10.				1,00	1:1
11.				1,25	4:5
12.				1,50	2:3
13.				1,75	4:7
14.				2,00	1:2
15.			100000	1,00	1:1
16.				1,50	2:3
17.				1,75	4:7
18.				2,00	1:2
19.				3,00	1:3

6 lentelė. Plėvelių su plastifikatoriumi glicerolių sudėtys

Nr.	Kolageno hidrolizato ir želatinos santykis	Kolageno hidrolizato ir želatinos bendras kiekis, g	Glicerolio kiekis, g	Biopolimerų mišinio ir plastifikatoriaus santykis
1.	1:1	1	0,05	20:1
2.			0,50	2:1
3.			1,00	1:1

Įvertinus visų plastifikatorių įtaką plėvelių savybėms nustatyta, kad naudojant skirtingus glicerolio kiekius, plėvelės organoleptinės savybės nesikeičia, ji sunkiai atskiriama nuo džiovinamojo paviršiaus ir yra trapi. Panašus efektas gaunamas su PEG 100000 plastifikatoriumi – plėvelės tampa šiek tiek tvirtesnės, tačiau jų lankstumas nedidėja. Tai reiškia, kad, norint pritaikyti tokią plėvelę ant žmogaus odos, jos forma būtų sunkiai prisitaikanti. Šių plėvelių išvaizda labiausiai skiriasi nuo kitų, kadangi plėvelės iš blizgių tampa matinėmis. Šiek tiek geresnis rezultatas gaunamas su PEG 1500 plastifikatoriumi – plėvelės tampa tvirtesnės ir šiek tiek lankstesnės, bet mažai elastingos. Geriausias savybes suteikia plastifikatorius PEG 20000. Atlikus šiuos organoleptinius įvertinimus pasirinkta, kad tolimesniems bandymams bus naudojamos plėvelės, plastifikuotos su skirtingais PEG 1500 ir PEG 20000 kiekiais.

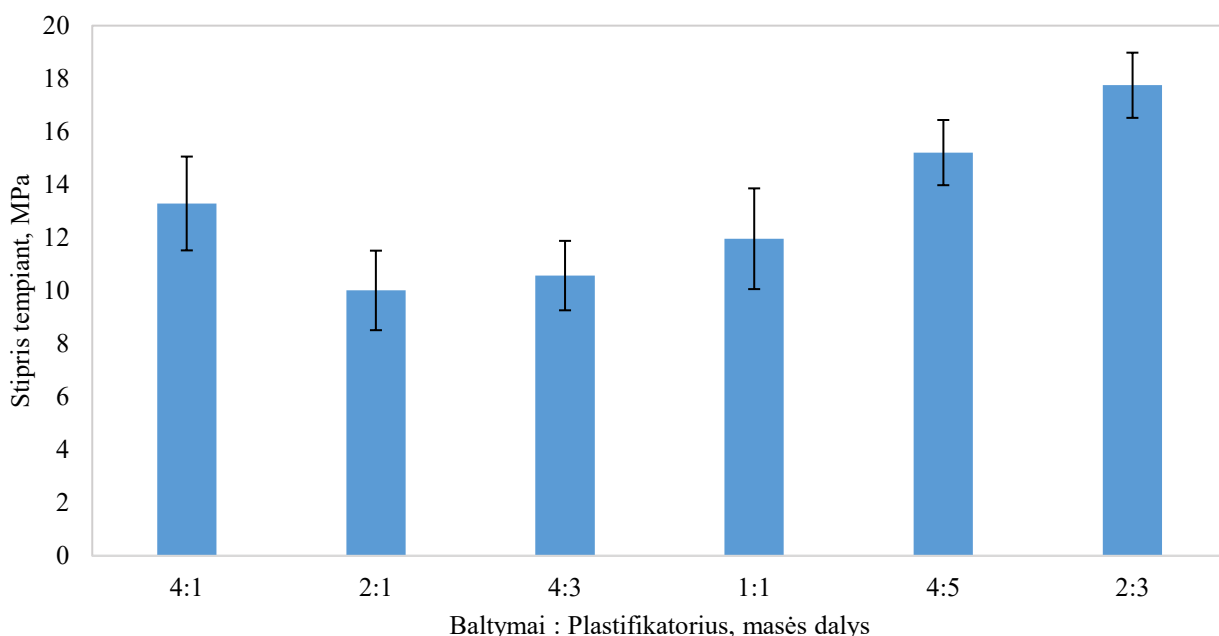
2.2.3. Plastifikuotų plėvelių tyrimai

2.2.3.1. Plėvelių mechaninių savybių nustatymas ir plėvelių perdirbimo įvertinimas

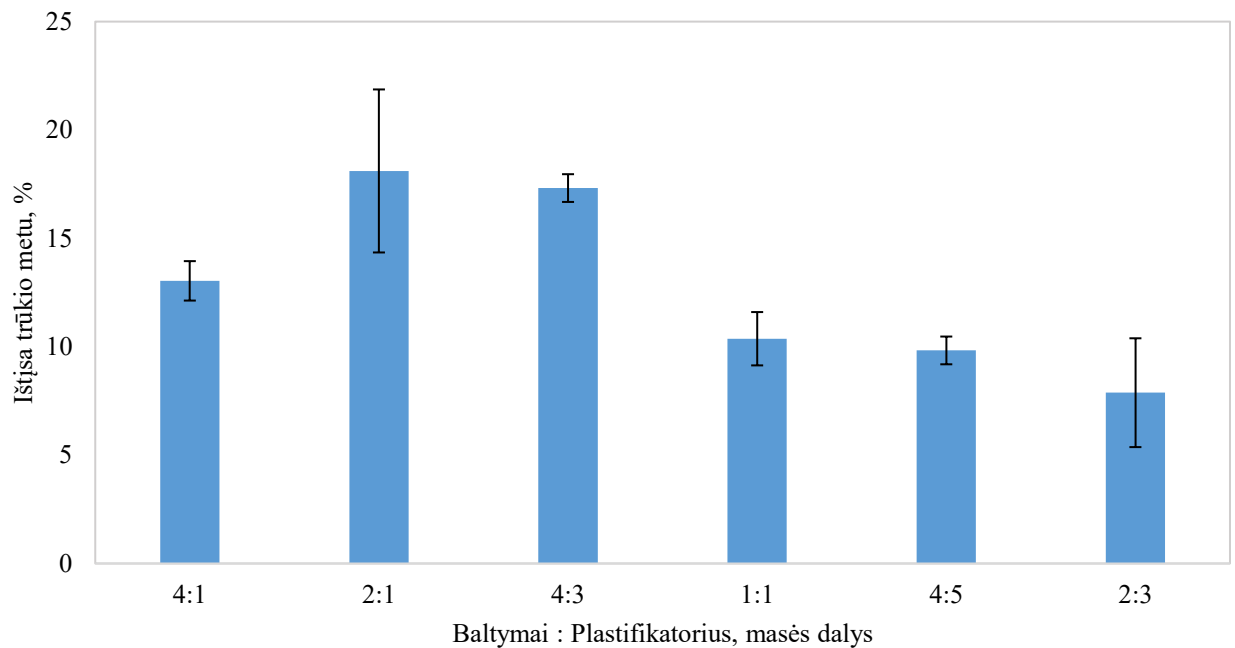
Įvertinus plastifikuotas plėveles organoleptiškai, toliau, siekiant įvertinti plėvelių savybes ir jų tinkamumą naudoti, buvo atliekamas mechaninių savybių, tokių kaip stipris tempiant, ištyša trūkio

metu ir Jungo modulio, nustatymas. Šie nustatymai buvo atliekami plėvelėms, plastifikuotoms su skirtingų molekulinį masių plastifikatoriais – PEG 1500 ir PEG 20000. Tokie tyrimai plėvelėms su kitų rūšių plastifikatoriais (PEG 100000, ir gliceroliu) atlikti nebuvo, nes tokios plėvelės organoleptiškai nepasižymėjo geromis savybėmis: buvo per trapios ir per mažai lanksčios. Taip pat nebuvo atliekamas nustatymas kontroliniam bandiniui, t.y. plėvelei be plastifikatoriaus, nes ši plėvelė taip pat buvo pernelyg trapi mėginių ruošimo metu.

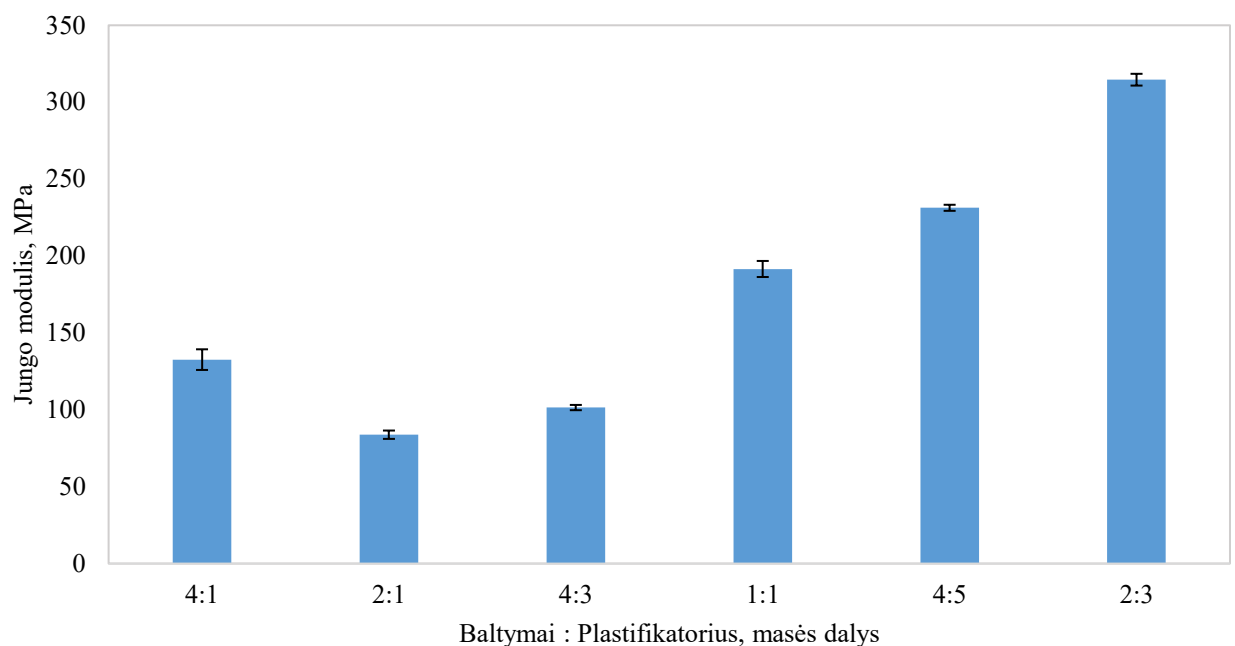
Visų pirma, buvo įvertinta PEG 1500 plastifikatoriaus įtaka plėvelės savybėms. Bandymai buvo atlikti tokių sudėčių plėvelėms (masės dalys): baltymai:plastifikatorius – 4:1; 2:1; 4:3; 1:1; 4:5; 2:3. Iš 8, 9 ir 10 paveiksluose pateiktų duomenų, galima teigti, kad didėjant plastifikatoriaus PEG 1500 kiekiui, plėvelės stipris iš pradžių mažėjo, o ištįsa trūkio metu didėjo, tačiau toliau didinant plastifikatoriaus kiekį, stipris pradėjo didėti, o ištįsa trūkio metu – mažėti. Tai reiškia, kad plastifikatorius efektyviausiai plėvelėje veikia tada, kai jo baltymų ir plastifikatoriaus santykis siekia 2:1, nes tokiu atveju stipris būna $10,01 \pm 1,50$ MPa, ištįsa siekia $18,11 \pm 3,76$ %, o Jungo modulis – $83,79 \pm 2,71$ MPa. Tokia plėvelė yra pakankamai standi ir sunkiai deformuojama.



8 pav. Plėvelių stiprio tempiant priklausomybė nuo jos sudėties, kai plastifikatorius yra PEG 1500

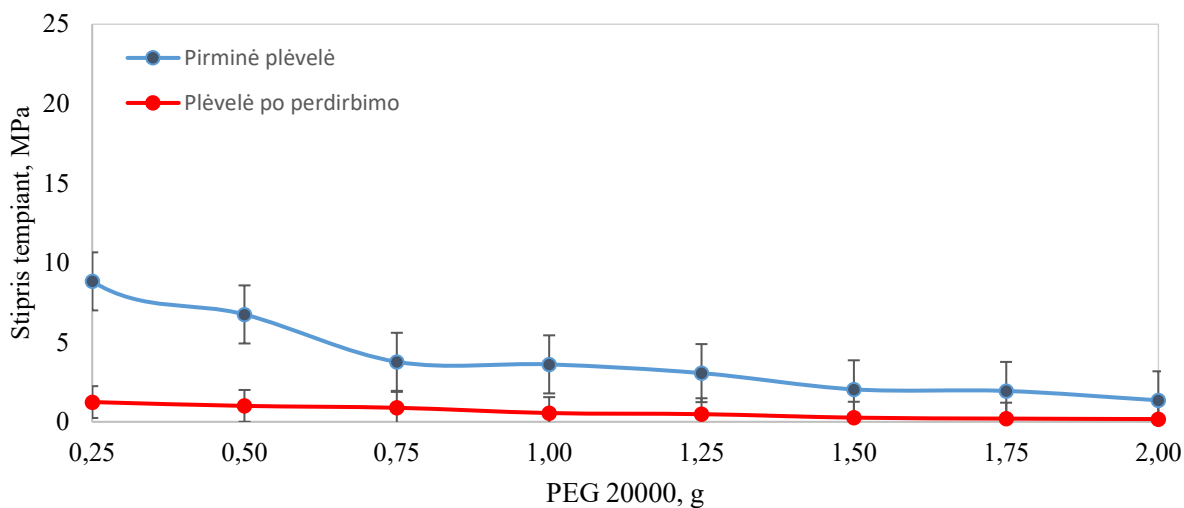


9 pav. Plėvelių ištįsos trūkio metu priklausomybė nuo jos sudėties, kai plastifikatorius yra PEG 1500

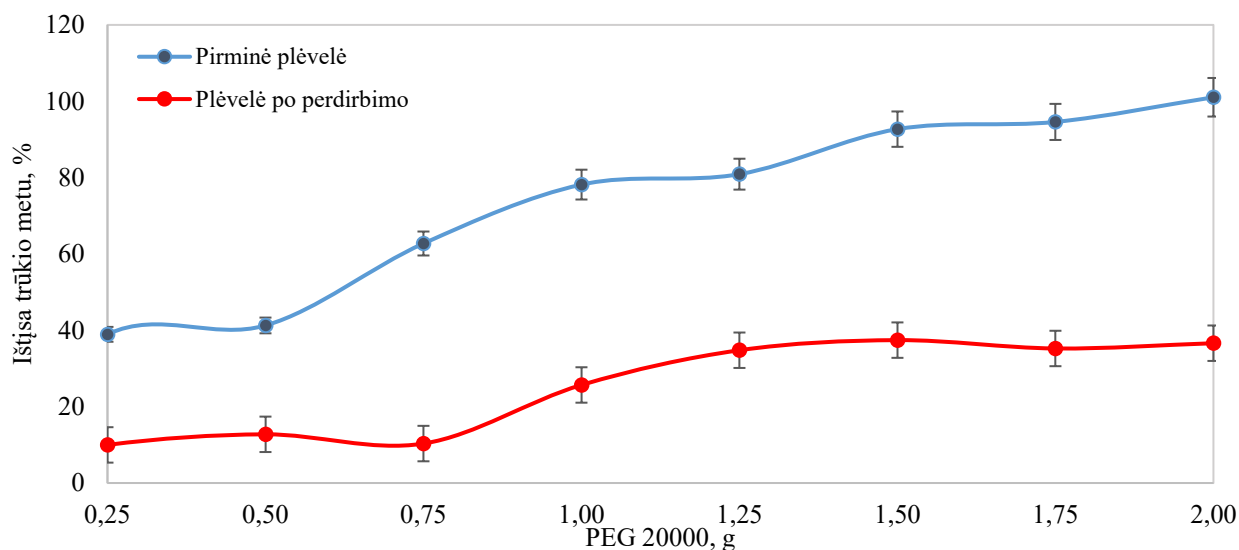


10 pav. Plėvelių Jungo modulio priklausomybė nuo jos sudėties, kai plastifikatorius yra PEG 1500

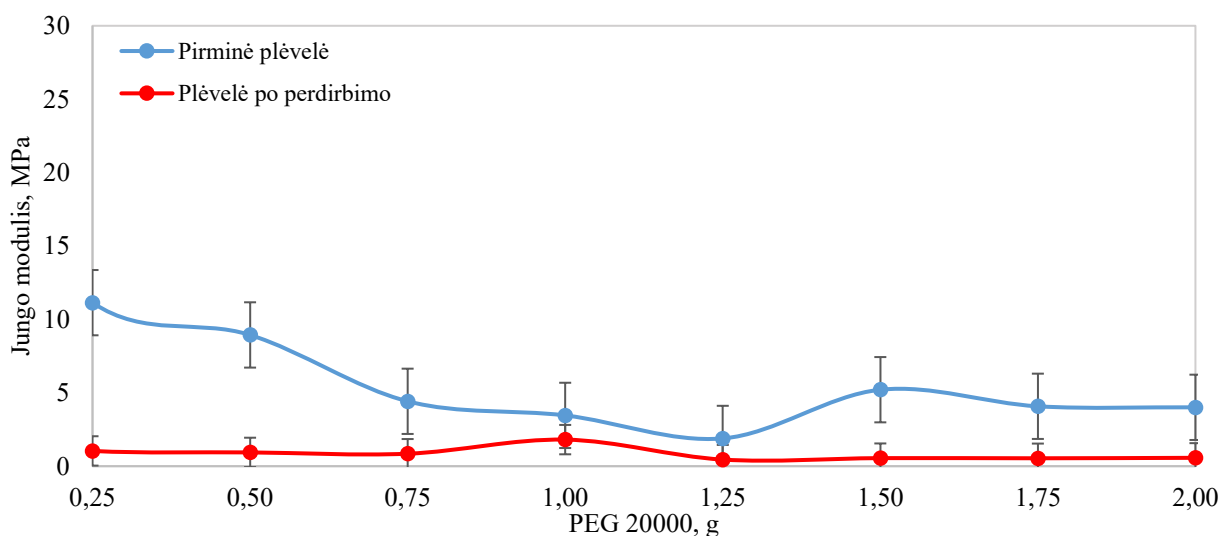
Mechaninės plėvelių, plastifikuotų su PEG 20000, savybės buvo vertintos du kartus – iš pradžių bandymas buvo atliekamas jas pagaminus pirmą kartą, kitas bandymas atliekamas su tomis pačiomis plėvelėmis, jas perdirbus, tam, kad būtų galima įvertinti perdirbimo galimybes. Perdirbant plėveles, jos buvo susmulkintos ir ištirpinamos 8 ml distiliuoto vandens, 12 valandų maišomos maišyklėje tomis pačiomis sąlygomis, kaip ir pirminių plėvelių gamyboje (40 °C temperatūra, 160 aps./min. greičiu). Plėvelėms pakartotinai ištirpus, jos buvo vėl išlietos į Petri lėkštes ir išdžiovintos iki pastovios masės. Rezultatai pateikti 11, 12 ir 13 paveiksluose.



11 pav. Plėvelių stiprio tempiant priklausomybė nuo plastifikatoriaus PEG 20000 kiekio joje.
Baltymų kiekis plėvelėse – 1 g.



12 pav. Plėvelių išįsos trūkio metu priklausomybė nuo plastifikatoriaus PEG 20000 kiekio joje.
Baltymų kiekis plėvelėse – 1 g.



13 pav. Plėvelių Jungo modulio priklausomybė nuo plastifikatoriaus PEG 20000 kiekio joje.
Baltymų kiekis plėvelėse – 1 g.

Visų pirma, palyginus plėvelių su skirtingu plastifikatoriaus PEG 20000 kiekiu mechanines savybes, galima teigti, kad didėjant plastifikatoriaus kiekiui, plėvelių stipris mažėja. Lyginant plėvelių ištįsą trūkio metu, didėjant plastifikatoriaus kiekiui joje, ištįsa didėja. Jungo modulis, didėjant plastifikatoriaus kiekiui, mažėja, tačiau pasiekęs tam tikrą ribą praktiškai nebekinta. Yunoki'is ir kt. [62], atlikdami bandymus su želatinine plėvele ir skirtingais plastifikatoriais, didinant plastifikatoriaus kiekį gavo panašius rezultatus – plėvelių stipris riba ir Jungo modulis mažėja, o ištįsa trūkio metu didėja.

Stebint perdirbtų plėvelių mechanines savybių nustatymo rezultatus, matomas ženklus visų plėvelės mechaninių savybių pablogėjimas, lyginant su pirmą kartą gautomis plėvelėmis. Plėvelių ištįsa trūkio metu sumažėjo vidutiniškai 3 kartus, o stipris ir Jungo modulis net 7 kartus. Tai reiškia, kad plėvelė negali būti perdirbama antrą kartą, kadangi plėvelės nebebūna elastingos, jų standumas ir stipris taip pat yra sumažėję. Taip nutinka dėl to, kad plėvelės pagrindą sudaro biopolimerai, kurie pasižymi blogesnėmis savybėmis nei sintetiniai polimerai, o jų perdirbimas yra sudėtingesnis. Tokių plėvelių perdirbimo metu prarandamos jų mechaninės savybės, nes polimerų grandinės yra suardomos [75]. Kadangi tyrimų metu kaip plėvelės pagrindas yra naudojama želatina ir kolageno hidrolizatas, kurių molekulinė masė yra santykinai nedidelės, perdirbant tokias plėveles, jų molekulės gali suskilti į mažesnės molekulinės masės polipeptidus. Literatūroje taip pat teigiama, kad vienas iš didžiausių biopolimerų perdirbimo iššūkių yra jų mechaninių savybių supratėjimas po kiekvieno perdirbimo ciklo. Kai kurie polimerai po regeneracijos praranda molekulinę masę ir stiprį bei kitas mechanines savybes, todėl tokių medžiagų pritaikymas tampa labai ribotas. Tam, kad būtų pagerintos tokių biopolimerų savybės, taikomi tokie metodai kaip maišymas su pirminėmis žaliavomis arba perdirbimo proceso gerinimas naudojant priedus [76]. Dong'as ir kt. [77], atlikdami nanokompozitinės plėvelės su želatina perdirbimą nustatė, kad perdirbant tokias plėveles, jų mechaninės savybės pablogėja labai neženkiai, išlieka labai panašios. Tačiau šio bandymo metu į plėvelių sudėtį įtraukti nanokompozitai pagerina plėvelių savybes, tarp jų ir mechanines, todėl galima teigti, kad nepridėjus papildomų medžiagų, plėveles perdirbti yra sudėtinga.

Nors literatūroje pateikiama pavyzdžių, jog toks pats glicerolio kiekis plastifikuoja kolageno hidrolizato plėveles žymiai geriau, nei polietilenglikolis [75], tačiau remiantis atliktu tyrimu, galima teigti, jog šiuo atveju, kaip žaliavą naudojant želatiną ir kolageno hidrolizatą, polietilenglikolis veikia kaip geresnis plastifikatorius. Taip pat, literatūroje galima rasti duomenų, kai želatinos plėvelės plastifikuojamos įvairių molekulinų masių polietilenglikoliais (300, 400, 600, 800, 1500, 4000, 10000, 20000), tačiau tokių tyrimų metu gauti rezultatai rodo, kad mažesnės molekulinės masės polietilenglikolis pasižymi geresniu plastifikavimo efektu. Didelės molekulinės masės polietilenglikolio įterpimas padidina stiprį ir sumažina plėvelių ištįsą [64]. Antra vertus, svarbu yra tai, kad kiekvienai žaliavai būtina atlikti eksperimentinius tyrimus, kurie padėtų nustatyti, kurios molekulinės masės PEG yra tinkamas labiausiai. Remiantis atliktais želatinos ir kolageno hidrolizato plėvelės duomenimis, geriausi rezultatai buvo pasiekti naudojant 20000 molekulinės masės polietilenglikolį. Tai reiškia, kad tyrimui pasirinktoms plėvelėms reikia didesnės molekulinės masės PEG nei aprašoma literatūroje.

2.2.3.2. Plėvelių vandens garų sorbcijos įvertinimas

Sorbcinės vandens garams savybės buvo nustatomos plėvelėms su skirtingais plastifikatoriaus PEG 20000 kiekiais jose. Bandymo metu buvo nustatomas plėvelės masės prieaugis išreikštas procentais. 1 priede pateikta sorbuotų vandens garų kiekio kitimo priklausomybė nuo išlaikymo įvairaus

santykinio oro drėgnio aplinkoje trukmės. Tirtos 6 plėvelės – (baltymai:plastifikatorius (PEG 20000) – 2:1; 4:3; 1:1; 4:5; 2:3; 4:7). Apibendrinus oro santykinio drėgnio įtaką drėgmės sorbcijai, galima teigti, kad didėjant santykiniam oro drėgniui, plėvelės sorbuoja daugiau drėgmės. Lyginant masės prieaugius po 24 valandų, 100 % s.o.d. aplinkoje laikytų plėvelių masė padidėjo vidutiniškai 19 kartų daugiau, nei laikytų 25 % s.o.d. Praėjus 48 valandoms šis rodiklis beveik nesikeitė. Iš 7 paveiksle pateiktų rezultatų taip pat galima daryti išvadą, kad didžiausias masės prieaugis visose plėvelėse įvyksta per pirmas 24 valandas – esant 25 % s.o.d. jis siekia tik ~2 %, 50 % s.o.d. – 9 %, 75 % s.o.d. – 21 %, o esant 100 % s.o.d. – net 39 %. Stebint tolimesnį masės pokytį, po 96 valandų ji pasiekia aukščiausią tašką, o vėliau nebesikeičia ir net pradeda šiek tiek mažėti.

Suyatma ir kt. [78] drėgmės sugerties tyrime su chitozanu ir plastifikatoriumi PEG 200 nustatė, kad didėjant plastifikatoriaus kiekiui, drėgmės sugertis didėja. Kita vertus, vertinant šiame tyrime nustatytą skirtingų sudėčių plėvelių masės prieaugį, nustatyta, jog didėjant plastifikatoriaus PEG 20000 kiekiui plėvelėje, plėvelės drėgmės sorbcijos geba mažėja. Pavyzdžiui, kai baltymų ir plastifikatoriaus santykis yra 4:1, masės prieaugis yra beveik 2 kartus didesnis nei, kai santykis yra 4:7. Toks skirtumas gali būti paaiškinamas tuo, kad šio tyrimo metu buvo naudotas gana didelės molekulinės masės PEG, todėl, dėl savo ilgos grandinės, šis plastifikatorius sumažina tarpus tarp molekulių ir trukdo drėgmei skverbtis į plėvelės vidų. Mathew'as ir kt. [79] atlikę drėgmės sugerties bandymą su skirtingais plastifikatoriais nustatė, kad didėjant plastifikatoriaus molekulinei masei, jos drėgmės sugertis mažėja. Baird'as ir kt. [80] stebėdami skirtingų molekulinių masių PEG drėgmės sugertį taip pat nustatė, jog didėjant PEG molekulinei masei, jos drėgmės sugertis mažėja dėl mažesnio hidroksilo grupių kiekio [81]. Taip pat, ji priklauso nuo temperatūros, pavyzdžiui, 25 °C temperatūroje drėgmės sorbcija bus šiek tiek didesnė nei 40 °C temperatūroje [80].

Plėvelėms vertinti pasirinkti 4 skirtingi santykiniai oro drėgniai, tačiau atsižvelgiant į tai, kad šios plėvelės gali būti naudojamos ant žmogaus odos, svarbiausia atsižvelgti į artimiausią odai drėgmę. Literatūros šaltiniuose nurodoma, kad žmogaus odos drėgnis gali svyruoti nuo 12 % iki 46 %, priklausomai nuo jos būsenos [82]. Dėl šios priežasties svarbiausia atkreipti dėmesį į rezultatus su 25 % ir 50 % santykinio oro drėgniu. Taip pat, vienas žaizdos tvarstis dažnai būna dėvimas nuo 24 iki 72 valandų, todėl svarbu įvertinti šio laiko intervalo rezultatus [83]. Kaip jau minėta anksčiau, visi bandiniai po 96 valandų pasiekia didžiausią masės prieaugį, o vėliau ji pradeda mažėti arba nusistovi. Dėl to, galima teigti, kad visos tokios plėvelės šiuo drėgmės sorbcijos požiūriu būtų tinkamos naudoti ant odos, kadangi 24–72 valandų laikotarpyje jos geba sugerti drėgmę, o drėgmės sorbcija siekia iki 10 %. Literatūroje nėra pateikiama duomenų, atliekant drėgmės sorbcijos vertinimą naudojant želatinines ar kolageno hidrolizato plėveles, tačiau atliekant bandymus su kitos sudėties plėvelėmis, esant 50–70 % s.o.d., plėvelių masės prieaugis taip pat siekė nuo 10 iki 20 % [69]. Apibendrinant, vertinant plėvelių drėgmės sorbcijos rezultatus, galima teigti, kad kuo didesniame santykiname oro drėgnyje jos yra laikomos, tuo plėvelės daugiau sugeria drėgmės ir tampa mažiau tvirtos, lengviau plyštančios.

2.2.3.3. Plastifikuotų plėvelių savybių nustatymo rezultatų apibendrinimas

Tam, kad į plėvelę būtų inkorporuojamos bioaktyvios medžiagos, pirminiai bandymai buvo skirti įvertinti įvairių sudėčių (baltymai + plastifikatoriai) įtakai jų savybėms ir pasirinkti tinkamiausios sudėties plėvelę, su kuria būtų atliekami tolimesni tyrimai.

Mechaninių savybių įvertinimo metu nustatėm, kad naudojant plastifikatorių PEG 1500, negaunamos naudotojo požiūriu tinkamų savybių plėvelės, galima teigti, kad šis plastifikatorius nėra tinkamas tokioms plėvelėms gauti. Naudojant plastifikatorių PEG 20000, visų plėvelių, didinant plastifikatoriaus kiekį, savybės gerėjo, todėl buvo svarbu pasirinkti optimaliausią sudėties variantą. Plėvelės stipris parodo didžiausią įtempį, kurį plėvelė gali atlaikyti tempiama, kol neatsiranda įtrūkimas. Plastifikatoriai padidina laisvąjį tūrį tarp polimero grandinių, todėl padidėja grandinių judrumas ir plėvelės lankstumas, todėl pridėjus plastifikatoriaus tempimo stipris mažėja, o ištįsa didėja [84]. Jungo modulis yra tiesinės atkarpos nuo įtempių ir deformacijų kreivės, kurioje plėvelė patiria tampriąją deformaciją, nuolydis, o kadangi, pridėjus plastifikatoriaus, grandinė yra judresnė, pasipriešinimas deformacijai yra mažesnis, todėl Jungo modulis taip pat mažėja [84]. Literatūroje pateikiama pavyzdžių, kai medicininiais tvarsčiams naudojamų plėvelių stiprumo riba svyruoja tarp 3–13 MPa, o ištįsa siekia apie 40–45 % [85, 86]. Dėl šios priežasties pasirenkant plėvelės sudėtį, svarbu atkreipti dėmesį į šiuos rezultatus.

Nustatėm, jog tinkamiausias plėvelės elastingumas yra gaunamas naudojant plastifikatorių PEG 20000, vandens garų sorbcijos bandymas buvo tęsiamas naudojant plėveles su skirtingais šio plastifikatoriaus kiekiais. Literatūroje aprašoma, kad kai kurioms žaizdoms yra reikalinga palaikyti kuo didesnę drėgnį, o kai kurioms atvirkščiai, drėgmę pašalinti [87]. Kadangi tyrimų rezultatai parodė, kad plėvelės artimiausiose žmogaus odai sąlygose gali sugerti iki 10 % drėgmės, jos gali būti laikomos vidutiniškai gerai sugeriančios drėgmę. Atitinkamai, jos gali būti tinkamos žaizdoms, iš kurių reikia pašalinti nedidelį kiekį drėgmės. Negut'as ir kt. [88] atlikę tyrimą su žaizdų tvarsčiais, pagamintais iš želatinos ir PCL, vandens sugerties tyrimo metu buvo sugerta apie 14 % drėgmės nuo plėvelių masės. Tai reiškia, kad šio tiriamojo darbo metu gauti duomenys yra artimi literatūroje pateikiamiems.

Apibendrinus šių tyrimų duomenis, tolimesniems bandymams pasirinkta naudoti plėvelę iš kolageno hidrolizato ir želatinos kartu su plastifikatoriumi PEG 20000, santykiu 2:3 (baltymai:plastifikatorius). Drėgmės sorbcijos bandymas parodė, jog tokia plėvelė sugeria pakankamą kiekį drėgmės, t.y., kai s.o.d. yra 25 % ar 50 %, po 72 valandų, drėgmės sorbcija siekia atitinkamai 2,5 % ir 9,66 %. Tai yra tinkamas variantas vidutiniam drėgmės sugėrimui. Taip pat, nors mechaninių plėvelės savybių tyrimas parodo gana mažą tokios plėvelės stiprį (2,04 MPa) bei Jungo modulį (5,21 MPa) ir didelę ištįsą trūkio metu (92,70 %), tačiau literatūros šaltiniuose nurodoma, kad į plėveles inkorporuojant įvairias bioaktyvias medžiagas, dažnu atveju plėvelės mechaninės savybės keičiasi – stipris padidėja, o ištįsa sumažėja [89]. Pavyzdžiui, į plėveles pridėdant 1 % geltonųjų svogūnų žievelių ekstrakto, jo ištįsa sumažėja nuo 27,43 % iki 20,49 %, o naudojant baziliko ekstraktą, ištįsa sumažėja nuo 11 % iki 2 % [89]. Tai gali nutikti dėl prastesnio polimerinių grandinių suderinamumo su ekstraktu. Verta paminėti, kad kartais panašių medžiagų inkorporavimas pagerina plėvelės savybes, kadangi bioaktyvi medžiaga gali veikti ir kaip plastifikatorius [89]. 2 priede pavaizduotos plėvelių, plastifikuotų su PEG 20000 plastifikatoriumi nuotraukos.

2.2.4. Bioaktyvių medžiagų inkorporavimas į plėveles

Bioaktyvių medžiagų kiekio parinkimas

Bioaktyvios medžiagos buvo įterpiamos į kompozicines plėveles su baltymais ir plastifikatoriumi PEG 20000 (santykis 2:3). 7 lentelėje pateiktos tokių plėvelių su įvairiomis bioaktyviomis medžiagomis sudėtys, bioaktyvių medžiagų kiekiai yra išreikšti procentais nuo absoliučiai sausos

plėvelės masės. Tokie kiekiai buvo pasirinkti, atsižvelgiant į literatūroje pateiktus panašių plėvelių sudėčių duomenis. Pavyzdžiui, rekomenduojama į plėveles dėti 1–5 % iš augalų išekstrahuotų medžiagų nuo sausos plėvelės masės [90]. Kadangi Euxyl® 9010 PE pasižymi labai stipriu poveikiu, gamintojas rekomenduoja naudoti nuo 0,5 iki 1 % šios medžiagos [91]. Šių plėvelių nuotraukos pateikiamos 3 priede.

7 lentelė. Bioaktyvios medžiagos ir jų kiekiai

Nr.	Bioaktyvi medžiaga	Kiekis, % nuo plėvelės sausų medžiagų
1.	Triazolas IT 7–20	2,00
2.	Triazolas IT 7–20	5,00
3.	Euxyl® 9010 PE	0,25
4.	Euxyl® 9010 PE	1,00
5.	Euxyl® 9010 PE	1,50
6.	Gauromečio ekstraktas	5,00
7.	Jonažolių ekstraktas	5,00

Triazolo inkorporavimas į plėveles

Bandymams naudojamas triazolas yra kietosios būsenos, t.y. miltelių pavidalo, todėl į plėvelę jis inkorporuojamas miltelių pavidalu. Dėl šios priežasties, buvo eksperimentiškai išbandoma ištirpinti šias medžiagas tame pačiame tirpiklyje, kaip ir želatiną bei kolageno hidrolizatą – vandenyje, tačiau triazolas šiame tirpiklyje netirpsta. Dėl šios priežasties pasirinkta inkorporuoti triazolą į plėveles miltelių pavidalu. Literatūroje galima rasti pavyzdžių, kai į plėveles yra inkorporuojamos bioaktyvios medžiagos, suteikiančios plėvelei geresnes antioksidacines ir antibakterines savybes, miltelių pavidalu [92]. Taip pat, tam tikri triazolo dariniai miltelių formoje gali būti panaudojami funkcinėse plėvelėse [93]. Prieš naudojimą, milteliai yra gerai disperguojami grūstuvėje, tam, kad jų frakcija būtų kuo mažesnė, tada milteliai siojami per 200 µl filtrą. Gauti milteliai beriami į paruoštą pirminį tirpalą, viskas išmaišoma, liejama plėvelė.

Vaistažolių ekstraktų sausų medžiagų apskaičiavimas

Naudojant skirtingus augalus ir tirpiklius išgaunamas skirtingas kiekis bioaktyvių medžiagų. Dėl šios priežasties labai svarbu apskaičiuoti, kiek apytiksliai medžiagų yra išekstrahuojama. Naudojamos vaistažolės savo sudėtyje turi tokių medžiagų kaip flavonoidai, fenolinės rūgštys, elagitaninai, enoteinas B. Šie junginiai lemia antibakterinį ir antioksidacinį ekstraktų poveikį [56, 57]. Literatūroje pateikiama daug skirtingų būdų, kaip išgauti įvairių augalų ekstraktus. Dažniausiai šiam tikslui yra naudojami tirpikliai vanduo, DMSO ir etanolis, o priklausomai nuo ekstrahavimo trukmės kinta ir ištirpinamų medžiagų kiekis [60, 61]. Svarbu nepamiršti, kad išskirtuose ekstraktuose taip pat gali būti ištirpusios ne tik šios medžiagos, bet ir įvairūs polisacharidai, tačiau, pavyzdžiui, jonažolėse esantys polisacharidai taip pat pasižymi antibakterinėmis ir antioksidacinėmis savybėmis. Dėl šios priežasties apskaičiuojant reikalingą pridėti ekstraktyvo kiekį, kaip naudingos medžiagos, skaičiuojamos visos sausos medžiagos [88].

Ruošiant ekstraktus imama 1 masės dalis vaistažolių ir 10 masės dalių tirpiklio. Atlikus ekstrakciją su jonažolių ir siauralapio gauromečio vaistažolėmis, po 24 valandų ekstrakcijos, nufiltravus ekstraktą, o likusias žoles nuspaudus, abiem atvejais buvo gauta 90 % ekstrakto išeiga. Taip pat labai svarbu apskaičiuoti, kiek šiame ekstrakto yra ištirpusio ekstraktyvo. 8 lentelėje pateikiami gautų sausų medžiagų, naudojant ekstrahavimui skirtingas vaistažoles ir skirtingus tirpiklius. Literatūroje pateikiama pavyzdžių, kad naudojant įvairius tirpiklius, išekstrahuotų sausų medžiagų kiekis gali

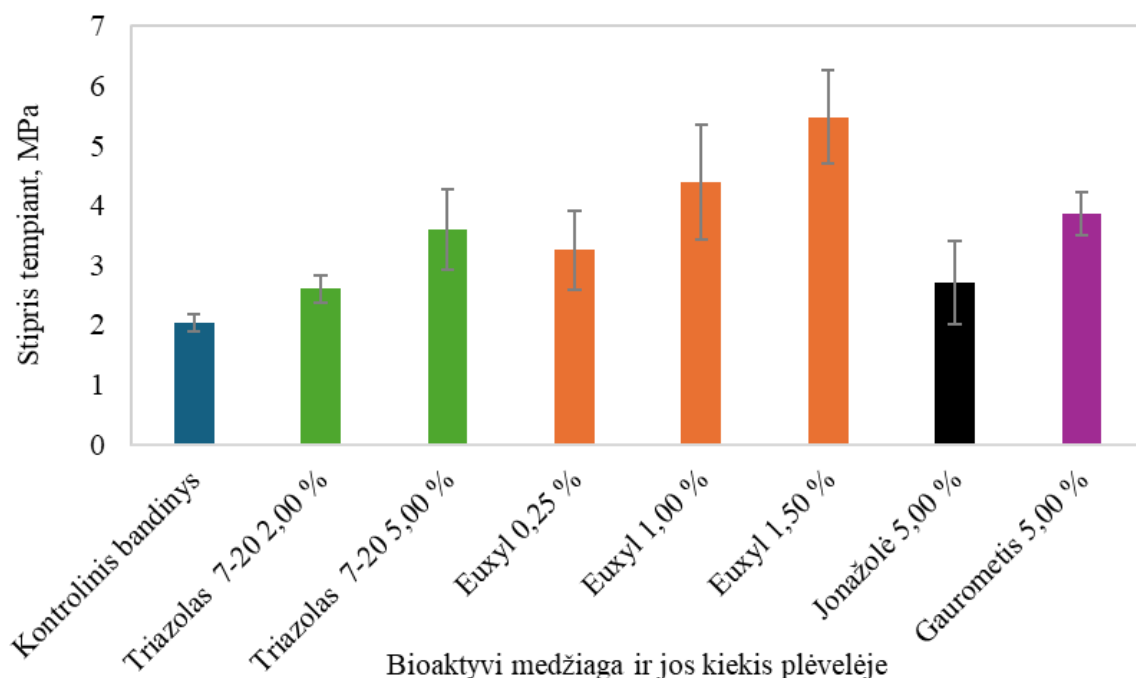
svyruoti nuo 2 iki 20 % ekstrakcijai naudotos žaliavos masės. Taip pat, distiliuotas vanduo dažnai ištirpina mažiau junginių, nei kiti tirpikliai, tai aprašoma ir literatūros šaltiniuose [95]. Atlikus sausų medžiagų kiekio nustatymą apskaičiuojama, kiek gramų ekstrakto reikės įpilti į tirpalą, kad sausos medžiagos (ekstraktyvas) sudarytų 5 % nuo sausų plėvelės žaliavų.

8 lentelė. Skirtingų augalų ekstraktų išeiga

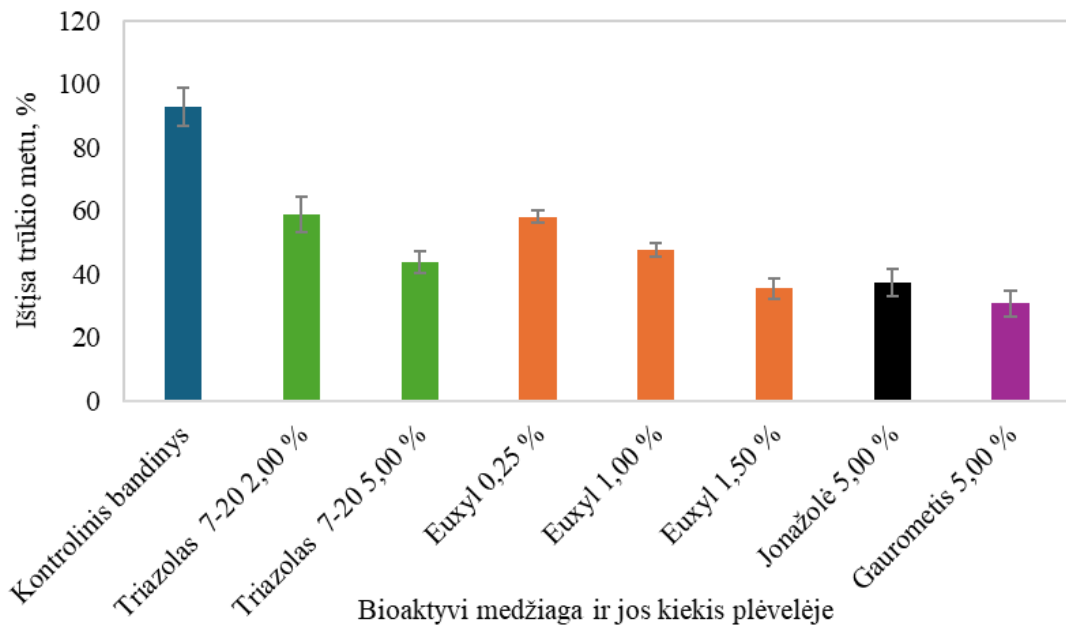
Nr.	Augalas	Tirpiklis	Ekstraktyvo išeiga, %
1	Jonažolė	Distiliuotas vanduo	17,77±0,07
2	Gaurometis	Distiliuotas vanduo	20,02±0,05

2.2.5. Plėvelių mechaninių savybių nustatymas

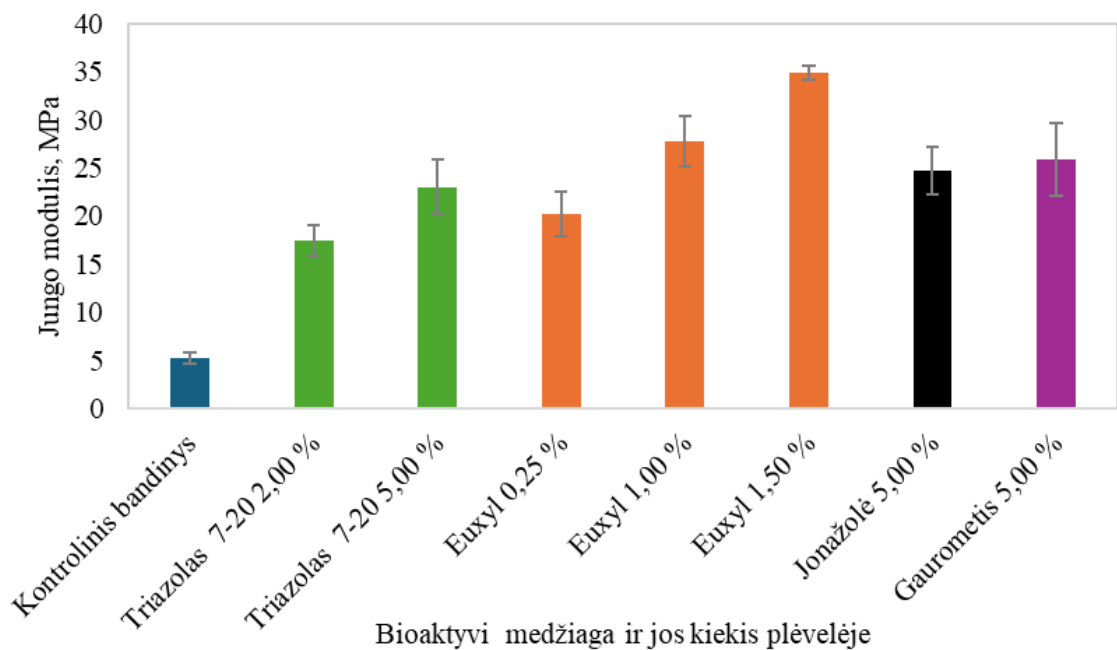
Vertinant bioaktyvių medžiagų įtaką plėvelių mechaninėms savybėms, visais atvejais nustatomi pokyčiai, lyginant su kontrolinės plėvelės, kurioje nebuvo bioaktyvių medžiagų, savybėmis. 14, 15 ir 16 paveiksluose pateikti tokių plėvelių mechaninių savybių nustatymo rezultatai.



14 pav. Plėvelių stiprio tempiant priklausomybė nuo bioaktyvios medžiagos rūšies ir jos kiekio



15 pav. Plėvelių ištįsos trūkio metu priklausomybė nuo bioaktyvios medžiagos rūšies ir jos kiekio



16 pav. Plėvelių Jungo modulio priklausomybė nuo bioaktyvios medžiagos rūšies ir jos kiekio

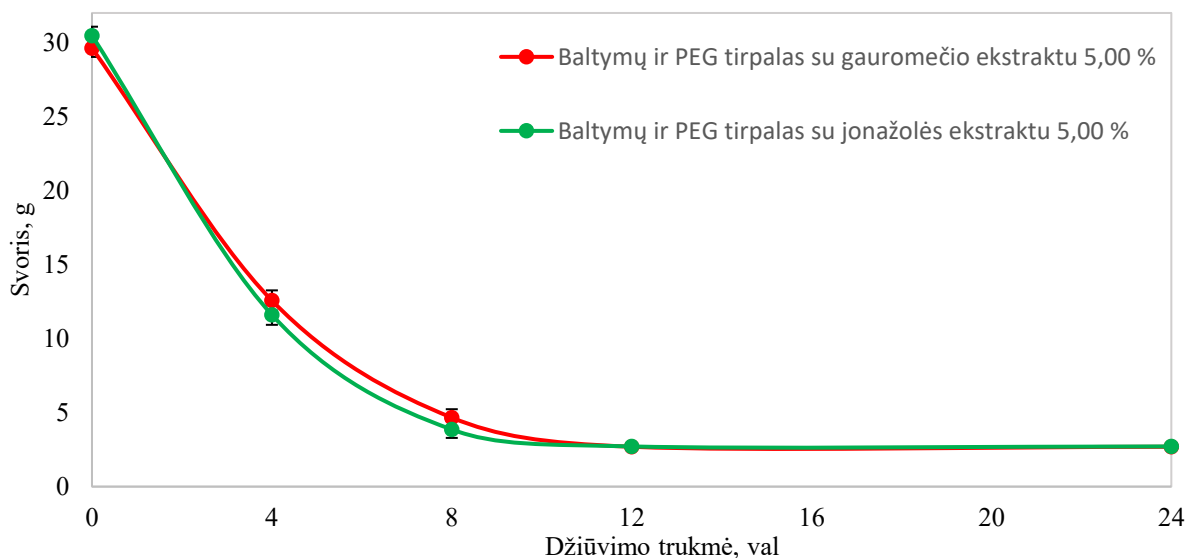
Nustatyta, kad kuo daugiau triazolo plėvelėje, tuo didesnis jos stipris bei Jungo modulis ir tuo mažesnė ištįsa trūkio metu. Vertinant konservanto Euxyl® 9010 PE įtaką plėvelių savybėms, išlieka tos pačios priklausomybės. Taip pat, įdėjus net ir labai mažai šio konservanto, jis lemia didelį mechaninių savybių pasikeitimą – pavyzdžiui, į plėvelę įdėjus 2 % triazolo, jos stipris tempiant siekia $2,61 \pm 0,23$ MPa, ištįsa trūkio metu – $58,85 \pm 5,63$ %, o Jungo modulis – $17,48 \pm 1,61$ MPa. Lyginant šiuos rezultatus su plėvele, kurios sudėtyje yra tik 0,25 % Euxyl® 9010 PE tirpalo, gauti rezultatai yra labai panašūs į plėvelės su triazolu, kadangi plėvelės su Euxyl® 9010 PE stipris yra $3,26 \pm 0,66$ MPa, ištįsa trūkio metu – $58,16 \pm 2,01$ %, o Jungo modulis – $20,24 \pm 2,27$ MPa.

Vertinant plėvelių su vaistažolių bioaktyviomis medžiagomis rezultatus, jų mechaninės savybės savo rodikliais yra artimos aukščiau aptartų plėvelių su triazolais ir Euxyl® 9010 PE konservantu savybėms. Lyginant su kontroliniu bandiniu, šių bandinių savybės ženkliai pasikeičia, t.y., plėvelių su jonažolių ekstraktu ištiesa trūkio metu siekia $37,22 \pm 4,32$ %, su gauromečio ekstraktu – $30,76 \pm 4,00$ %.

2.2.6. Plėvelių fizikinių ir cheminių savybių tyrimai

2.2.6.1. Plėvelių džiūvimo trukmės nustatymas

Tam, kad plėvelėse esančios medžiagos neprarastų savo savybių, svarbu pasirinkti tinkamą išlietos plėvelės džiūvimo temperatūrą ir trukmę. Pradėjus tyrimus, plėvelės buvo džiovinamos kambario temperatūroje, tačiau dėl ilgos džiūvimo trukmės nuspręsta, kad efektyvesnis būdas yra džiovinimas krosnyje, 60 °C temperatūroje su gera oro cirkuliacija. Džiūvimo trukmės bandymas atliktas su plėvelėmis, į kurias inkorporuoti augaliniai ekstraktai, išgauti iš gauromečio ir jonažolės žolių. Abiejų ekstraktų kiekis plėvelėje – 5 % nuo sausos plėvelės masės. 17 paveiksle pavaizduota džiūvimo kinetika. Galima teigti, kad abiejų plėvelių džiūvimas vyksta labai tolygiai. Per pirmąsias 8 valandas plėvelių masės sumažėjo daugiausiai, tai reiškia, kad šiuo laikotarpiu iš plėvelių išgaravo daugiausiai vandens – jos sumažėjo 82–87 %. Taip pat, ruošiamų plėvelių masės nebekito jau po 12 valandų džiūvimo krosnyje, kadangi masė nusistovėjo. Tai reiškia, kad tokioms plėvelėms išdžiūti tokiomis sąlygomis reikia 12 valandų.

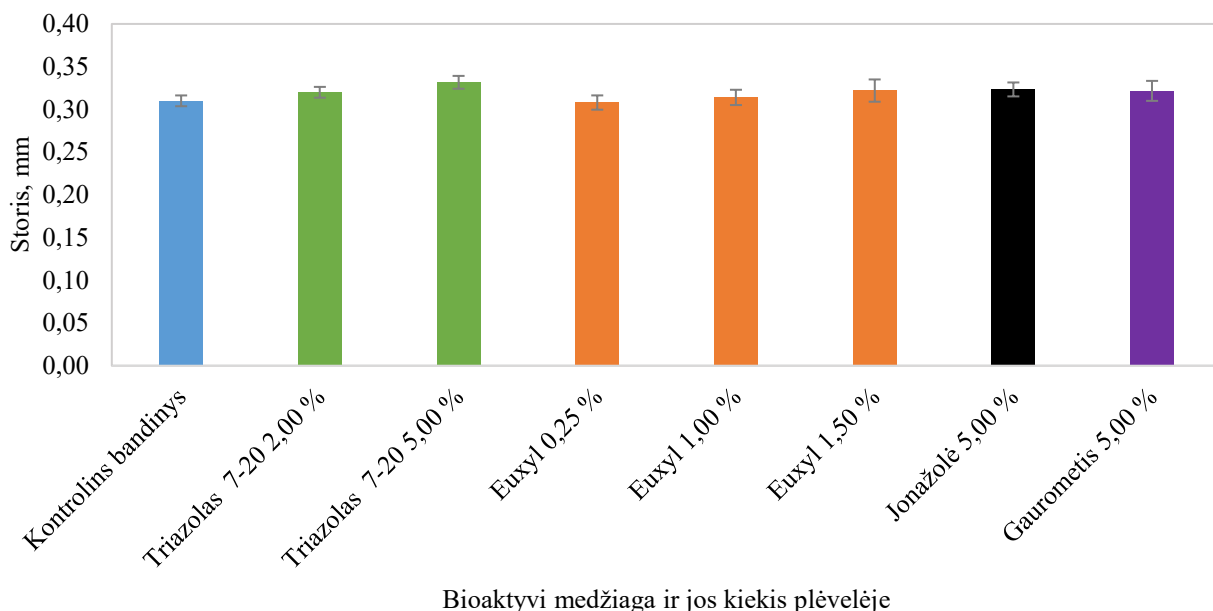


17 pav. Tirpalų plėvelėms gauti masės kitimo priklausomybė nuo džiūvimo trukmės. Plėvelės sudėtis: 1 g baltymų mišinio, 1,5 g PEG ir 0,0125 g augalinio ekstraktyvo.

2.2.6.2. Plėvelių storio nustatymas

Atliekant storio matavimus nustatyta, kad pridėjus bioaktyvių medžiagų, plėvelių storiai padidėja, lyginant su kontroliniu bandiniu, kurio sudėtyje bioaktyvių medžiagų nėra. 18 paveiksle pateiktuose rezultatai nurodo, kad kontrolinės plėvelės storis vidutiniškai siekia $0,310 \pm 0,010$ mm, o pridėjus bioaktyvią medžiagą triazolą, plėvelės storis nežymiai padidėja, $0,320 \pm 0,006$ mm ir $0,330 \pm 0,008$ mm, atitinkamai pridėjus 2 % ir 5 % triazolo nuo sausos plėvelės masės. Taip pat, didinant dedamos bioaktyvios medžiagos Euxyl® 9010 PE kiekį, plėvelės storis nežymiai keičiasi, pridėjus 0,25 % medžiagos, plėvelės storis siekia $0,310 \pm 0,008$ mm, 1 % medžiagos – $0,310 \pm 0,009$ mm, 1,5 %

medžiagos – $0,320 \pm 0,013$ mm. Vertinant vaistažolių ekstraktyvų įtaką, išlieka tokios pačios tendencijos – plėvelės su jonažolės ekstraktyvu storis siekia $0,320 \pm 0,008$ mm, o su gauromečio ekstraktyvu taip pat – $0,320 \pm 0,011$ mm. Tokie storio pokyčiai tarp skirtingų plėvelių sudėčių yra labai nežymūs, todėl galima teigti, kad plėvelės, su ta pačia bioaktyvios medžiagos koncentracija, yra vienodo storio. Literatūroje pateikiama pavyzdžių, kad kolageno pagrindu pagamintos žaizdų gydymo plėvelės dažnai būna nuo 0,1 iki 0,5 mm storio, todėl šio tyrimo metu gautos plėvelės būtų tinkamo storio, jei būtų naudojamos minėtai paskirčiai [96].



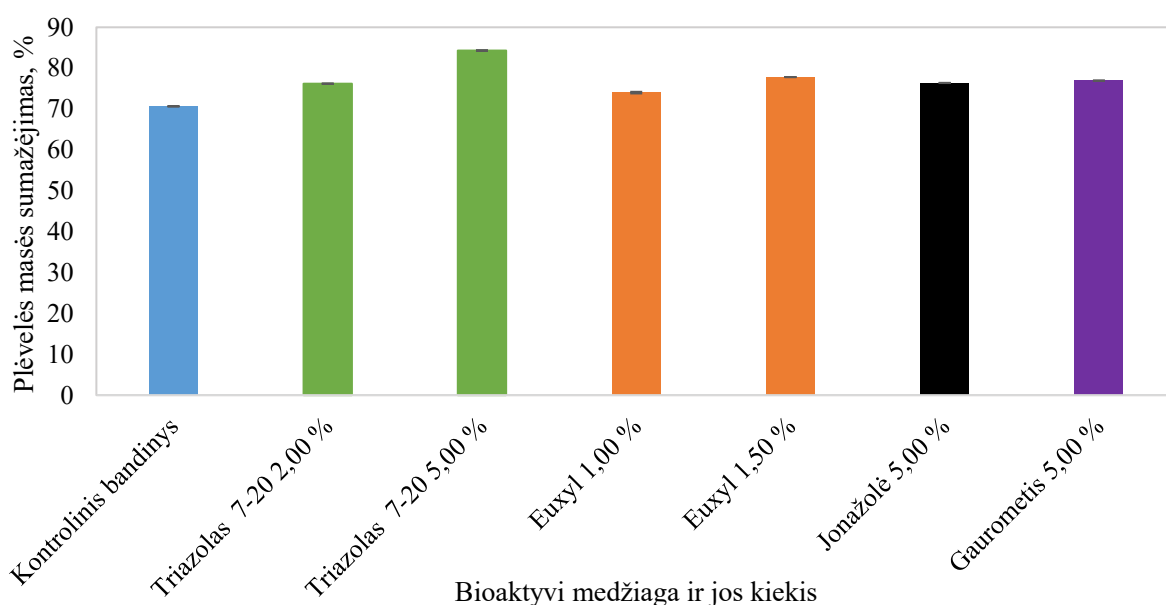
18 pav. Bioaktyvios medžiagos rūšies ir jos kiekio įtaka plėvelės storiui

2.2.6.3. Plėvelių drėgmės sorbcijos įvertinimas

Drėgmės sorbcijos tyrimai rodo, kad triazolas turi neigiamos įtakos plėvelės drėgmės sugerčiai. 4 priede pateiktuose rezultatuose matoma, kad nepriklausomai nuo santykinio oro drėgnio, plėvelių su triazolu drėgmės sorbcijos geba yra mažesnė už kontrolinės plėvelės sorbciją. Unal'as ir kt. [97], atlikdami drėgmės sorbcijos tyrimą plėvelėms su skirtingomis triazolo koncentracijomis nustatė, kad iš pradžių, didinant triazolo kiekį plėvelėje, jos drėgmės sugertis mažėja, o vėliau pradeda didėti. Konservanto Euxyl® 9010 PE pridėjimas į plėvelę didelės įtakos drėgmės sugerčiai neturi, rezultatai beveik sutampa su kontrolinės plėvelės tyrimo rezultatais – pavyzdžiui, kai s.o.d. yra 50 %, kontrolinės plėvelės drėgmės sugertis po 48 valandų yra 9,51 %, o plėvelės su 1 % Euxyl® 9010 PE konservantu – 10,65 %. Augalinių ekstraktyvų pridėjimas į plėvelę padidina jos drėgmės sugertį, kai s.o.d. yra 50 %, po 48 valandų tokių plėvelių drėgmės sugertis svyruoja nuo 10,01 % iki 11,52 %. Li ir kt. [98] atlikę tokį tyrimą su plėvelėmis, turinčiomis skirtingų augalinių ekstraktyvų, nustatė, kad drėgmės sorbcija, lyginant su plėvelėmis be bioaktyviųjų medžiagų, padidėjo. Kaip jau minėta anksčiau, žmogaus odos drėgnis svyruoja nuo 12 iki 46 %, priklausomai nuo jos būsenos, o vienas tvarstis būna dėvimas 24-72 valandas, todėl svarbu atsižvelgti į šio intervalo rezultatus [82, 83]. Remiantis literatūros duomenimis, žaizdų tvarsčiams naudojamų plėvelių masės prieaugis šio bandymo metu siekia nuo 10 iki 20 % [69]. Dėl šios priežasties svarbu, kad šio tyrimo metu išgautos plėvelės taip pat turėtų panašias savybes. Vertinant plėvelių drėgmės sugertį kai s.o.d. yra 50 %, jų masės prieaugis po 24 valandų svyruoja nuo 8,07 iki 11,04 %, o, kai s.o.d. siekia 75 %, jų prieaugis siekia nuo 10,54 iki 20,77 %. Tai reiškia, kad visų sudėčių plėvelės sugeria pakankamą kiekį drėgmės.

2.2.6.4. Plėvelių masės sumažėjimas laikant vandenyje

Įvertinus masės sumažėjimą plėveles laikant vandenyje galima teigti, jog visos bioaktyviosios medžiagos lemia didesnę masės sumažėjimą, 19 paveiksle pateikti šio tyrimo rezultatai. Kontrolinio bandinio masės sumažėjimas siekia 70,66 %, o visų kitų plėvelių masės sumažėjimai svyruoja nuo 74,01 % iki 84,31 %. Taip pat, didėjant bioaktyviųjų medžiagų kiekiui, masės sumažėjimas taip pat didėja, pavyzdžiui, naudojant 2 % triazolo nuo sausos plėvelės masės, masė sumažėja 76,20 %, o naudojant 5 % triazolo, masė sumažėja 84,31 %, t.y. net 8,11 % daugiau. Vertinant vaistažolių ekstraktų įtaką, abiejų rūšių vaistažolių ekstraktų pridėjimas lemia didesnę masės sumažėjimą bandymo metu. Li ir kt. [98] nustatė, kad želatinos pagrindo plėvelės inkorporavus natūralių bioaktyvių medžiagų, tokių kaip žaliosios arbatos ekstraktas, vynuogių kauliukų ekstraktas ar imbiero ekstraktas, plėvelių tirpumas vandenyje padidėjo, lyginant su kontroline plėvele. Didesnis plėvelių masės sumažėjimas parodo, kad plėvelė yra mažiau atspari vandeniui, o jos struktūra nėra tvirta [98].



19 pav. Plėvelių masės sumažėjimo laikant vandenyje priklausomybė nuo bioaktyviosios medžiagos ir jos kiekio plėvelėje

2.2.6.5. Plėvelių termogravimetrinė analizė

Termogravimetrinės analizės kreivės parodo medžiagos temperatūrines charakteristikas, t.y. kaip mažėja bandinių masė priklausomai nuo temperatūros [99]. Žemiau pateiktame 5 priede pavaizduotos kreivės, kurios nurodo kaip skirtingos bioaktyvios medžiagos keičia plėvelės termines savybes. Analizuojant kontrolinės plėvelės termogravimetrinę kreivę 40–200 °C temperatūrų intervale galima stebėti likutinio vandens (tiek dėl aplinkos drėgnio esančio plėvelėje, tiek hidratacinio) pašalinimą, 200–350 °C temperatūroje skyla baltymai – kolageno hidrolizatas, želatina, taip pat polietilenglikolis ir bioaktyviosios medžiagos, 400–600 °C temperatūrų intervale vyksta neženkli likutinės anglies ir likusių junginių destrukcija, todėl šiame temperatūrų intervale masė beveik nebekinta [99].

Analizuojant eksperimentinių (su bioaktyviais priedais) plėvelių rezultatus, matyti, kad bioaktyvių medžiagų pridėjimas į plėvelę lemia didesnius masės pokyčius 40–400 °C temperatūros intervale, lyginant su kontroline plėvele. Tai reiškia, kad šios medžiagos keičia termostabilumo savybes. Mažiausią įtaką turi triazolo pridėjimas – tiek kontrolinės, tiek plėvelės su triazolu

termogravimetrinės kreivės yra labai artimos. Didžiausią įtaką šioms savybės turi augalinių ekstraktyvų bei Euxyl® 9010 PE pridėjimas į plėveles, 10 % masės nuostoliai pasiekiami maždaug 150 °C temperatūroje, o kontrolinės plėvelės atveju tokie nuostoliai stebimi tik pasiekus 240–250 °C temperatūrą. Tai reiškia, kad įterptos bioaktyvios medžiagos pradeda irti ženkliai sparčiau nei plėvelę sudarantys baltymai ir plastifikatoriai. Keliant temperatūrą, kreivių kitimo pobūdis ir toliau išlieka analogiškas. Didžiausią skirtumą plėvelių masės kitimui duoda augalinių ekstraktyvų inkorporavimas, o mažiausią – triazolo. Žvelgiant į 400–600 °C laipsnių intervalą matoma, kad maždaug 400 °C temperatūroje nuostoliai tampa praktiškai vienodi visoms plėvelėms, o likutinis masės kiekis taip pat skiriasi labai nežymiai, 600 °C temperatūroje jis yra 14–18 %.

Literatūroje pateikiami panašūs kolageninės plėvelės masės kitimo rezultatai termogravimetrinės analizės metu. Ahmad'as ir kt. [100] atlikę termogravimetrinę analizę nustatė, kad kolageno plėvelės kitimą galima išskirti į 4 etapus. Pirmasis masės pokytis pradeda vykti ~47 °C temperatūroje, jis asocijuojamas su laisvo ir surišto vandens išgaravimu. Antrojo etapo pradžia fiksuojama ~190 °C temperatūroje, o trečiojo etapo pradžia, kurio metu vyksta didesnių baltymų grandinių destrukcija – 290 °C temperatūroje. Paskutinis, ketvirtasis, etapas prasideda ~400 °C temperatūroje, jo metu vyksta termiškai stabilių komponentų praradimas [100].

2.2.6.6. Plėvelių infraraudonųjų spindulių spektroskopijos analizė

Furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių (FTIR) spektroskopija naudojama plėvelių cheminės struktūros nustatymui [101]. 6 priede pateikti skirtingų plėvelių – su triazolu, su Euxyl® 9010 PE, su jonažolių ekstraktyvu ir su gauromečio ekstraktyvu spektrai.

Kontrolinės plėvelės spektre matoma labai mažo intensyvumo plati smailė 3500–3300 cm^{-1} intervale, kuri parodo, kad plėvelės sudėtyje yra NH grupių, kurios atsiranda iš kolageno hidrolizato, želatinos ir OH grupių, atsirandančių iš plastifikatoriaus polietilenglikolio. Smailė ties 3000–2800 cm^{-1} atspindi valentinius alifatinis C–H svyravimus. Svyravimai ties ~1700 cm^{-1} parodo karbonilinių grupių buvimą, jų atsiradimą lemia C=O grupės, esančios želatinoje ir kolageno hidrolizate. Smailės ties 1500 cm^{-1} ir 1200 cm^{-1} parodo C–N–H, esančių kolageno hidrolizate ir želatinoje, deformacinius svyravimus. Šis spektras sutampa su literatūroje pateiktais želatinos FTIR spektrais [101, 102].

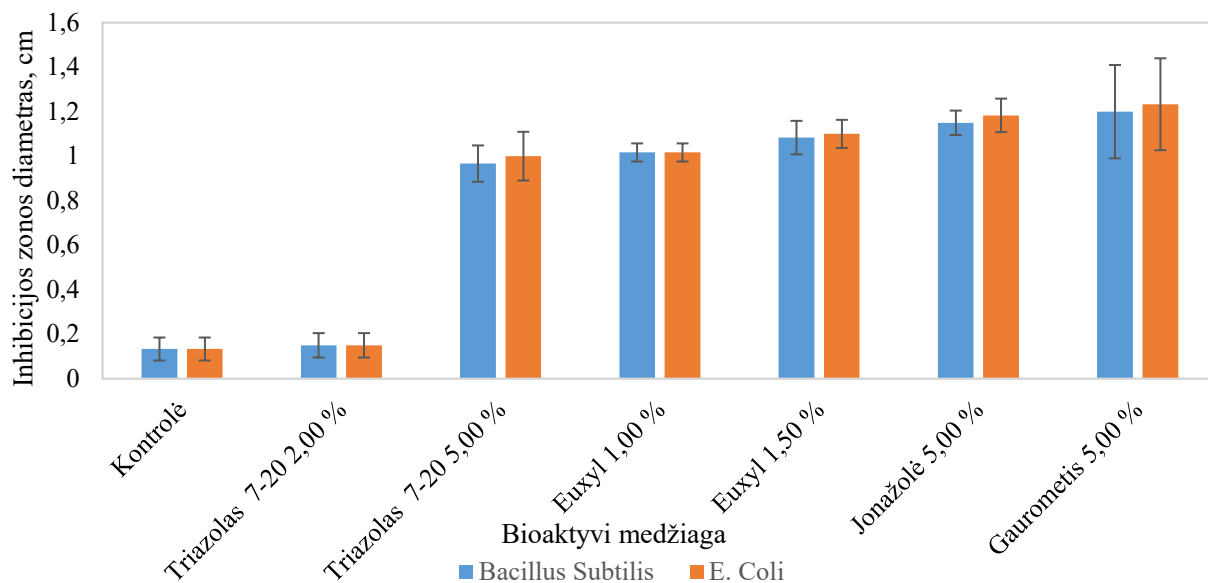
Plėvelėse su triazolais, Euxyl® 9010 PE ir vaistažolių ekstraktyvais galima stebėti žymiai intensyvesnes smailes ties 3500 cm^{-1} ir 3000 cm^{-1} dėl didesnio kiekio OH ir NH grupių. Pavyzdžiui, triazolo sudėtyje esančios NH grupės lemia valentinius svyravimus šiek tiek arčiau 3000 cm^{-1} ribos, t.y. ~3200 cm^{-1} , o konservante Euxyl® 9010 PE esančios OH grupės lemia svyravimus šiek tiek arčiau 3500 cm^{-1} . Plėvelių su augalų ekstraktyvais spektruose šiose ribose taip pat matomos aiškios smailes, kurios parodo, jog plėvelėse yra fenolinių junginių, kurie turi OH grupes. Smailės ties 3000–2800 cm^{-1} parodo valentinius C–H svyravimus. Kadangi triazolai ir augalų ekstraktyvuose esantys polifenoliniai junginiai turi aromatinius žiedus, jų smailes ties šiuo intervalu yra šiek tiek platesnės ir šiek tiek pasisilinkusios į kairę pusę.

Taip pat, visų plėvelių spektruose, lyginant su kontrolinės plėvelės spektru, išsiskiria žymiai intensyvesnės smailes ties 1700–1200 cm^{-1} . Tai parodo, kad šiose plėvelėse yra daugiau C=O karbonilinių ryšių. Taip pat, plėvelėse su augaliniiais ekstraktyvais matomas stiprus signalas ties 1100 cm^{-1} . Šis signalas parodo C–O–C eterines grupes, esančias kai kuriuose polifenoliniuose junginiuose, tokiuose kaip taninai, flavonoidai, lignanai, eteriniai aliejai arba alifatiniai aminai [103]. Šie spektrai sutampa su literatūroje pateiktais paminėtų junginių spektrais [103, 104, 105, 106].

2.2.7. Plėvelių mikrobiologinių savybių tyrimai

2.2.7.1. Antibakterinių savybių nustatymas

Viena iš pagrindinių žaizdų tvarsčių savybių tyra geras antibakterinis aktyvumas [42]. Tokias savybes turinčios plėvelės slopina bakterijų dauginimąsi žaizdose ir skatina greitesnį jų gijimo procesą bei audinių regeneraciją [43]. Plėvelių antibakterinės savybės vertinamos stebint bakterijų augimą po 24 valandų. 7 ir 8 prieduose pateikiamos tyrimo nuotraukos. Pamatavus bandinių inhibicijos zoną, t.y. skaidrią apskritimo vietą, kurioje bakterijos neužaugo, nustatoma, ar plėvelėse esančios medžiagos padeda sustabdyti bakterijų augimą. Šio tyrimo rezultatai pateikti 20 paveiksle.



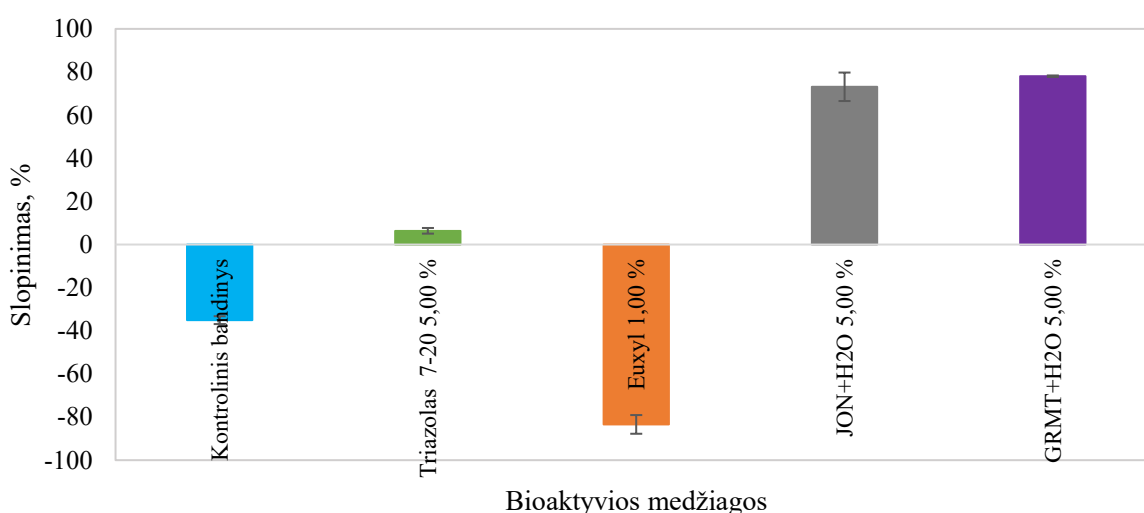
20 pav. Plėvelių su skirtingomis bioaktyviomis medžiagomis antibakterinių savybių įvertinimas

Remiantis gautais rezultatais galima teigti, kad visos bioaktyviosios medžiagos turi teigiamos įtakos plėvelės antibakterinėms savybėms. Pavyzdžiui, kontrolinės plėvelės, be bioaktyvių medžiagų, inhibicijos zona su gramteigiamomis *Bacillus Subtilis* bakterijomis yra $0,13 \pm 0,05$ cm, o su gramneigiamomis *E. Coli* $0,1 \pm 0,13$ cm. Tai yra labai maža zona, kadangi pačio diskelio skersmuo siekė 1 cm, todėl galima teigti, kad bakterijos augo net ir ant diskelio, vadinasi, kontrolinė plėvelė antibakterinėmis savybėmis beveik nepasižymi. Literatūroje randama pavyzdžių, kad iš želatinos ar iš polietilenglikolio pagamintos plėvelės taip pat nepasižymi arba pasižymi labai silpnomis antibakterinėmis savybėmis [107, 108]. Plėvelės su 2 % triazolo nuo sausos plėvelės masės taip pat nepasižymėjo antibakterinėmis savybėmis, jų inhibicijos zonos buvo panašios kaip kontrolinės, tačiau pridėjus 5 % triazolo, inhibicijos zona ženkliai padidėjo, su *Bacillus Subtilis* bakterijomis ji siekė $0,97 \pm 0,08$ cm, o su *E. Coli* $1,00 \pm 0,11$ cm. Strzelecka ir kt. [109], atlikę antibakterinių savybių tyrimą su skirtingų rūšių 1,2,4–triazolais nustatė, kad šie junginiai pasižymi antibakterinėmis savybėmis ir jie slopina tiek gramteigiamų, tiek gramneigiamų bakterijų augimą. Į plėveles pridėjus konservanto Euxyl® 9010 PE, tiek mažesnė, tiek didesnė jo koncentracija lėmė labai panašias savybes, pavyzdžiui, naudojant *E. Coli* bakterijas, mėginių su 1,00 % konservanto nuo sausos plėvelės masės inhibicijos zona siekė $1,02 \pm 0,41$ cm, o su 1,50 % – $1,10 \pm 0,06$ cm. Literatūroje pateikiama pavyzdžių, kad vienas iš dažniausiai kosmetikoje naudojamų konservantų, fenoksietanolis, kuris įeina į Euxyl® 9010 PE sudėtį, pasižymi plačiu antibakterinių savybių spektru, kadangi jis neleidžia daugintis tiek gramteigiamoms, tiek gramneigiamoms bakterijoms [110]. Fenoksietanolis taip pat yra laikomas vienas iš saugiausių konservantų naudojimui ant odos, kadangi jis pasižymi labai mažu odos

dirginimu [110]. Lyginant plėvelių su skirtingais augalų ekstraktyvais antibakterines savybes, geriausiai *Bacillus Subtilis* bakterijų augimą slopino plėvelės su gauromečio ekstraktyvu – jos turėjo $1,20 \pm 0,21$ cm inhibicijos zoną. *E. Coli* bakterijas geriau slopino plėvelės su ekstraktyvais – jų inhibicijos zona siekė $1,18 \pm 0,08$ cm. Literatūroje pateikta nemažai pavyzdžių su atliktais siauralapio gauromečio ir jonažolės žolės ekstraktų tyrimais. Pavyzdžiui, atliekant tyrimus su siauralapio gauromečio skystu ekstraktu ir *Bacillus Subtilis* bakterijomis, inhibicijos zona gali siekti nuo 0,65 iki 1,35 cm, o su *E. Coli* – 0,8 iki 2,1 cm, priklausomai nuo tirpalo koncentracijos [111].

2.2.7.2. Plėvelių antioksidacinių savybių įvertinimas

Antioksidacinės savybės, taip pat kaip antibakterinės, yra labai svarbi savybė žaizdų gydymo sistemų gamyboje [40]. Šių savybių turinčios medžiagos sumažina žaizdos uždegiminę būseną ir oksidacinį stresą, leidžiant žaizdai sugyti greičiau [112]. Įvertinus plėvelių antioksidacines savybes DPPH metodu buvo apskaičiuotas ir išreikštas procentinis DPPH slopinimas, rezultatai pateikti 21 paveiksle.



21 pav. Plėvelių su skirtingomis bioaktyviomis medžiagomis antioksidacinių savybių įvertinimas

Iš atlikto tyrimo duomenų galima teigti, kad kontrolinis bandinys ir plėvelė su Euxyl® 9010 PE konservantu antioksidacinėmis savybėmis nepasižymi – jų slopinimo vertės yra neigiamos. Taip pat, prastomis antioksidacinėmis savybėmis pasižymi plėvelės su triazolu, jo DPPH slopinimo vertė siekia vos $6,37 \pm 1,30$ %. Dažniausiai antioksidacinių savybių turintys junginiai yra išskiriami iš įvairių augalų ekstraktų. Kaškokienė ir kt. [113] atlikdami antioksidacinių savybių nustatymą gauromečio mėginiams nustatė, kad šis augalas pasižymi gana dideliu DPPH slopinimu, jis svyruoja nuo 110 iki 170 %. Dėl šios priežasties galima teigti, kad net mažas kiekis ekstraktyvo suteikia plėvelėms pakankamai didelį antioksidacinį aktyvumą – šio tyrimo metu į plėveles buvo inkorporuoti tik 5 % šio augalo ekstraktyvo, tačiau jo DPPH slopinimas buvo didžiausias – jis siekė $78,06 \pm 0,34$ %. Fathi ir kt. [114] atlikdami jonažolių ekstraktų antioksidacinių savybių tyrimą nustatė, kad jonažolių ekstrakto antioksidacinis aktyvumas priklauso nuo jo koncentracijos – kai ekstrakto koncentracija siekia 200 $\mu\text{g/ml}$, jo DPPH slopinimas siekia apie 95 %. Esant mažesnei, pavyzdžiui 50 $\mu\text{g/ml}$ koncentracijai, slopinimas nukrenta iki 30 %. Kompozicinių baltymų ir PEG plėvelių su šio augalo ekstraktu DPPH slopinimo vertė siekė $73,15 \pm 6,60$ %. Tai reiškia, kad ir šis augalas pasižymi labai geromis antioksidacinėmis savybėmis. Antioksidacinį augalinių ekstraktų poveikį labiausiai lemia juose esantis didelis kiekis elagitaninų, pavyzdžiui – enoteinas B [112].

3. Inžinerinė dalis

Remiantis atliktais tyrimais, plėvelės su gauromečio ekstraktyvu pasižymėjo geriausiomis antibakterinėmis ir antioksidacinėmis savybėmis. Tai yra vienos iš svarbiausių savybių, nulemiančios tinkamumą žaizdų gydymo preparatams gaminti. Taip pat šios plėvelės pasižymėjo geromis mechaninėmis ir fizikinėmis savybėmis, o tai sutapo su literatūroje pateiktais panašių plėvelių tyrimų duomenimis. Dėl šios priežasties sudaroma technologinės linijos schema plastifikuotai plėvelei kolageno hidrolizato ir želatinos pagrindu su inkorporuotu gauromečio ekstraktyvu gaminti, ji pateikta 22 paveiksle.

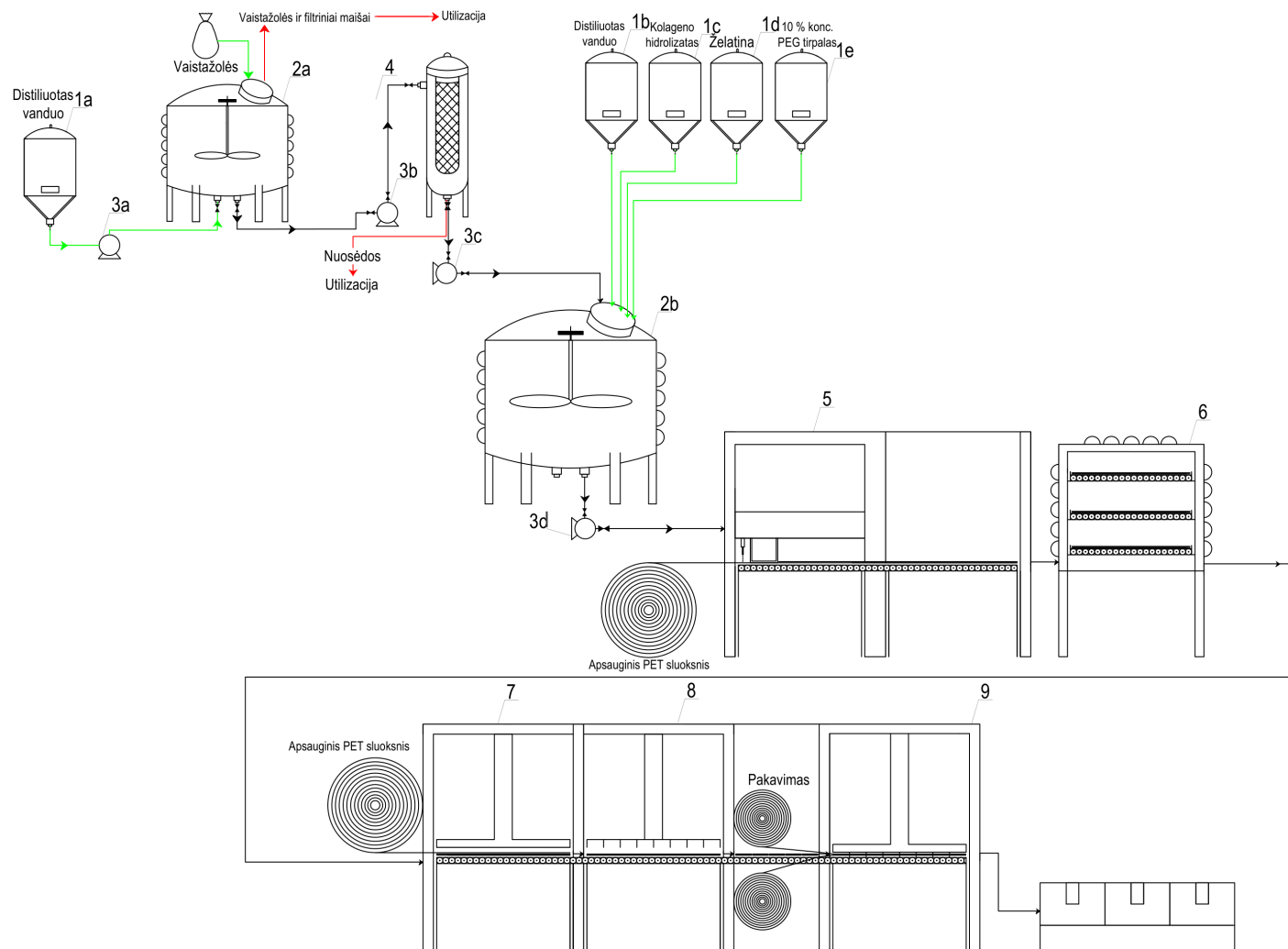
Visų pirma, yra paruošiamas vaistažolių ekstraktas, kuris bus naudojamas tolimesniame gamybos procese. Siauralapio gauromečio vaistažolės yra sudedamos į 100 µm porėtumo vienkartinį filtrinį maišus. Šis etapas svarbus tuo, kad sudėjus vaistažoles į per mažo porėtumo filtrinį maišą, ekstrakcijos efektyvumas gali sumažėti, o laisvai paskleidus žaliavą vandenyje, kyla sunkumų ekstrakto filtracijos metu. Iš distiliuoto vandens laikymo talpyklos (1a) į nerūdijančio plieno talpyklą su maišykle ir kaitinimo funkcija su išcentrinio siurbliu (3a) transportuojamas reikiamas kiekis kambario temperatūros distiliuoto vandens. Tada į vandenį yra įmerkiamos vaistažolių įkrovos, čia jos yra laikomos ir maišomos 24 valandas, 23 °C temperatūroje.

Kol vykdoma vaistažolių ekstrakcija, kitoje nerūdijančio plieno talpykloje su maišykle ir kaitinimo funkcija (2b) yra paruošiamas baltymų tirpalas – iš kolageno hidrolizato laikymo talpyklos (1c) ir želatinos laikymo talpyklos (1d) rankiniu būdu yra įberiamas reikiamas kiekis granulių, o iš distiliuoto vandens laikymo talpyklos (1b) įpilamas reikiamas kiekis vandens. Nerūdijančio plieno maišyklėje palaikoma 40 °C temperatūra ir mišinys nuolat maišomas 12 valandų. Baltymams ištirpus, į nerūdijančio plieno talpyklą (2b) iš 10 % konc. PEG tirpalo talpyklos (1e) yra pilamas PEG tirpalas. Jis yra gerai išmaišomas 30 minučių, palaikant 40 °C temperatūrą.

Paruoštas gauromečio ekstraktas prieš naudojimą turi būti nufiltruotas, todėl ekstraktas yra transportuojamas siurbliu (3b) per 50 µm porėtumo filtrą, o tada siurbliu (3c) transportuojamas į nerūdijančio plieno talpyklą (2b) su čia esančiu kolageno hidrolizato, želatinos ir PEG plastifikatoriaus vandeniniu tirpalu. Bendras tirpalas yra dar kartą gerai išmaišomas 30 minučių, palaikant 40 °C temperatūrą. Išmaišius tirpalą, jis, naudojant siurblią (3d) yra transportuojamas į tirpalo padengimo aplikatorių (5), kuris ant apatinio apsauginio PET plėvelės sluoksnio dozuoja tirpalą, o mašinoje esantis paskirstytojas tolygiai paskirsto tirpalą per visą formą ir užtikrina, kad plėvelė bus vienodo storio. Paskirsčius tirpalą, jis yra gabenamas į džiovinimo kamerą su kontroliuojama temperatūra ir oro srautu (6), čia plėvelės yra džiovinamos 12 valandų, 60 °C laipsnių temperatūroje. Išdžiūvusios plėvelės yra transportuojamos ant laminavimo mašinos (7), kuri, taikant šaltąjį laminavimo metodą, su 3 bar slėgiu prispaudžia viršutinį apsauginį PET plėvelės sluoksnį prie plėvelės. Pagaminta plėvelė transportuojama į pjaustymo mašiną (8), kuri supjausto gaminį į vienodo dydžio plėveles, jos yra supakuojamos į pakuotes pakavimo mašinoje (9) ir kraunamos į dėžes transportavimui. 9 lentelėje pateikiami pasirinkti gamybinės linijos įrenginiai.

9 lentelė. Gamybinėje linijoje naudojami įrenginiai

Nr.	Įrenginys	Gamintojas	Pavadinimas
1 a, b, c, d	Žaliavų talpykla	DELTA Industrial Packaging	MTL 1000 [115]
2 a, b	Nerūdijančio plieno talpykla su kaitinimo funkcija	GPI Degouwe	MT1000 [116]
3 a, b, c, d	Išcentrinis siurblys	VERDER	Packo ZLC [117]
4	50 µm filtras su filtro laikikliu	Filpro	PO31 SERIE [118, 119]
5	Tirpalo padengimo aplikatorius	Industrial Physics	TQC Sheen [120]
6	Džiovinimo kamera su kontroliuojama temperatūra	MTI Corporation	PTL-MMB02-200 [121]
7	Laminavimo mašina	VEVOR	VEVOR 39" [122]
8	Pjaustymo mašina	Yuanhan	YH-1200S-FQ [123]
9	Pakavimo mašina	Harpak Ulma	TFS 400 [124]



22 pav. Kolageno hidrolizato ir želatinos pagrindu pagamintos plėvelės su inkorporuotu gauromečio ekstraktyvu technologinės linijos schema: 1a, 1b – distiliuoto vandens talpykla; 1c – kolageno hidrolizato talpykla; 1d – želatinos talpykla; 1e – 10 % konc. PEG tirpalas talpykla; 2a, 2b – nerūdijančio plieno talpykla su maišykle ir kaitinimo funkcija; 3a, 3b, 3c, 3d – siurblys; 4 – 50 µm filtras; 5 – tirpalo padengimo aplikatorius; 6 – džiovinimo kamera su kontroliuojama temperatūra ir oro srautu; 7 – laminavimo mašina; 8 – pjaustymo mašina; 9 – pakavimo mašina.

→ pagrindinis gamybos srautas; → žaliavos; → atliekos.

4. Darbuotojų sauga ir sveikata

Atliekant darbą, tyrimuose naudojamos įvairios cheminės ir biologinės medžiagos, prieš darbą su jomis, būtina žinoti, kokios kolektyvinės ir asmeninės apsaugos priemonės taikomos dirbant su šiomis medžiagomis, kokios yra nustatytos ribinės poveikio darbo aplinkoje vertės, galimi pavojai bei pirmosios pagalbos ir priešgaisrinės priemonės. Taip pat, dirbant su įvairiomis medžiagomis ir prietaisais labai svarbu identifikuoti visus esamus ir galimus rizikos veiksnius ir pavojingas situacijas. Nustatinėjant kiekvieną rizikos veiksnį yra labai svarbu atsižvelgti į normatyvinius dokumentus ir teisės aktus. Rizikos veiksniai yra skirstomi į fizikinius, fizinius, cheminius, biologinius, ergonominius ir psichosocialinius [125]. Tiriamajame darbe naudotos cheminės medžiagos:

- Koncentruota sieros rūgštis;
- Natrio dichromatas;
- Polietilenglikolis;
- Glicerolis;
- Triazolas;
- Konservantas Euxyl® 9010 PE.

Žemiau pateiktose lentelėse nurodyti šiame darbe naudotų medžiagų pavojingumo ir atsargumo frazės ir ženklavimas (10 lentelė), pirmosios pagalbos priemonės (11 lentelė), priešgaisrinės saugos priemonių duomenys (12 lentelė) ir naudojamų cheminių medžiagų profesinio poveikio ribiniai dydžiai (13 lentelė).

10 lentelė. Naudojamų cheminių medžiagų galimų pavojų informacija

Medžiaga	Žymėjimas pagal Reglamentą (EB) Nr. 1272/2008	Pavojingumo frazės	Atsargumo frazės
Koncentruota sieros rūgštis	 GHS05 [126, 127]	H290 – gali ėsdinti metalus; H314 – smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis; H315 – dirgina odą [126].	P234 – laikyti originalioje pakuotėje; P280 – naudoti apsaugines pirštines, apsauginius drabužius, akių apsaugos priemones; P363 – užterštus drabužius išskalbti prieš vėl juos apsivelkant [126].
Natrio dichromatas	 GHS03, GHS06, GHD08, GHS05, GHS09 [127, 128]	H272 – oksidatorius; H301 – toksiška prarijus; H312 – kenksminga susilietus su oda; H314 – smarkiai nudegina odą; H317 – gali sukelti alerginę odos reakciją; H330 – mirtina įkvėpus. H334 – įkvėpus gali sukelti alerginę reakciją; H340 – gali sukelti genetinius defektus; H350 – gali sukelti vėžį; H372 – kenkia organams, jeigu medžiaga veikia ilgai; H410 – labai toksiška vandens organizmams [128].	P210 – laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių, karštų paviršių, žiežirbų, atviros liepsnos ir kitų uždegimo šaltinių. Nerūkyti; P260 – neįkvėpti dulkių; P280 – mūvėti apsaugines pirštines/ dėvėti apsauginius drabužius/ naudoti akių (veido) apsaugos priemones [128].

10 lentelės tęsinys

Polietilenglikolis	Nereikalinga [129].	Nereikalinga [129].	Nereikalinga [129].
Glicerolis	Nereikalinga [130].	Nereikalinga [130].	Nereikalinga [130].
Euxyl® 9010 PE	  GHS05, GHS07 [127, 131]	H302 – kenksminga prarijus; H318 – smarkiai pažeidžia akis; H332 – kenksminga įkvėpus; H335 – gali dirginti kvėpavimo takus [131].	P261 – stengtis neįkvėpti dulkių/dūmų/dujų/garų/aerolio; P271 – užterštą darbo drabužių negalima išnešti iš darbo vietos; P280 – mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones; P310 – nedelsiant kreiptis į gydytoją; P405 – laikyti užrakintą; P501 – šalinti turinį/talpą pagal galiojančius teisės aktus [131].

11 lentelė. Naudojamų cheminių medžiagų pirmosios pagalbos priemonių duomenys

Medžiaga	Įkvėpus	Patekus ant odos	Patekus į akis	Prarijus
Koncentruota sieros rūgštis	Išvesti į gryną orą. Iškviesti gydytoją [126].	Nuvilkti užterštus drabužius. Odą nuplauti vandeniu. Iškviesti gydytoją [126].	Nuskalauti vandeniu. Iškviesti oftalmologą. Išimti kontaktinius lęšius [126].	Duoti išgerti vandens, nesukelti vėmimo. Iškviesti gydytoją. Nebandyti neutralizuoti [126].
Natrio dichromatas	Išvesti į gryną orą, iškviesti gydytoją. Sustojus kvėpavimui, taikyti dirbtines pagalbines kvėpavimo priemones, jei reikia – ir deguonį [128].	Nedelsiant nuvilkti visus užterštus drabužius. Odą nuplauti vandeniu/čiurkšle. Nedelsiant iškviesti gydytoją [128].	Nuskalauti dideliu kiekiu vandens. Iš karto iškviesti oftalmologą. Išimti kontaktinius lęšius [128].	Duoti vandens. Kreiptis į gydytoją. Jei per vieną valandą medikas nesulaukiamas, sukelti vėmimą (tik sąmoningiems ir gyvybingiems asmenims), duoti išgerti aktyvintos anglies ir kuo greičiau kreiptis į gydytoją. Nebandyti neutralizuoti [128].
Polietilenglikolis	Išvesti į gryną orą [129].	Grynai medžiagai patekus ant odos, nedelsiant nuvilkti visus užterštus drabužius. Odą nuplauti vandeniu [129].	Nuskalauti dideliu kiekiu vandens. Išimti kontaktinius lęšius [129].	Duoti išgerti vandens. Jei jaučiamasi blogai, kreiptis į gydytoją [129].
Glicerolis	Išvesti į gryną orą [130].	Grynai medžiagai patekus ant odos, nuvilkti visus užterštus drabužius. Odą nuplauti vandeniu/čiurkšle [130].	Nuskalauti dideliu kiekiu vandens. Išimti kontaktinius lęšius [130].	Duoti išgerti vandens. Jei jaučiamasi blogai, kreiptis į gydytoją [130].

11 lentelės tęsinys

Euxyl® 9010 PE	Išvesti į gryną orą. Jei kvėpavimas netolygus/sustoja, atlikti dirbtinį kvėpavimą. Nieko neduoti į burną. Jei nukentėjusysis be sąmonės, paguldyti jį tinkamoje padėtyje ir kreiptis medicininės pagalbos [131].	Nuvilkinti užterštus drabužius. Gerai nuplauti odą vandeniu ir muilu arba tinkamu odos valikliu. Nenaudoti tirpiklių ar skiediklių [131].	Akis plauti dideliu kiekiu švaraus ir vėsaus vandens mažiausiai 10 minučių, pakeliant vokus. Kreiptis medicininės pagalbos. Neleisti nukentėjusiajam trinti akies [131].	Nedelsiant kreiptis medicininės pagalbos. Neskatinti vėmimo [131].
----------------	--	---	--	--

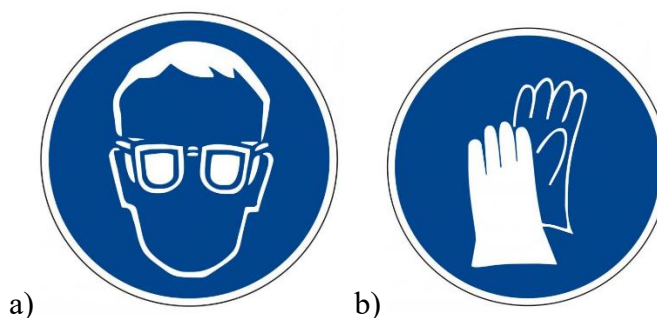
12 lentelė. Naudojamų cheminių medžiagų priešgaisrinių priemonių duomenys

Medžiaga	Tinkamos gesinimo priemonės	Netinkamos gesinimo priemonės	Specialūs medžiagos keliami pavojai	Pavojingi degimo produktai	Patarimai gaisrininkams
Koncentruota sieros rūgštis	Naudoti supančiai aplinkai tinkamas gesinimo priemonės [126].	Gesinimo priemonių apribojimų nėra [126].	Sieros oksidai, nedegioji [126].	Dėl aplinkinės liepsnos gali išsiskirti kenksmingi garai [126].	Pavojaus zonoje būti su autonominiu kvėpavimo aparatu ir specialiais drabužiais [126].
Natrio dichromatas	Naudoti supančiai aplinkai tinkamas gesinimo priemonės [128].	Gesinimo priemonių apribojimų nėra [128].	Natrio oksidai, chromo oksidai, nedegioji [128].	Dėl deguonies išsiskyrimo gali kilti gaisras, skirtis kenksmingi garai [128].	Pavojaus zonoje būti su autonominiu kvėpavimo aparatu. Dėvėti specialius apsauginius drabužius [128].
Polietilenglikolis	Vanduo, putos, anglies dioksidas, sausi milteliai [129].	Gesinimo priemonių apribojimų nėra [129].	Garai sunkesni už orą, gali pasklisti palei grindis [129].	Galimas degių dujų ar garų susidarymas gaisro atveju [129].	Gaisro atveju naudoti autonominius kvėpavimo aparatus [129].
Glicerolis	Vanduo, putos, anglies dioksidas, sausi milteliai [130].	Gesinimo priemonių apribojimų nėra [130].	Garai sunkesni už orą, gali pasklisti palei grindis [130].	Degių dujų susidarymas gaisro atveju [130].	Naudoti autonominius kvėpavimo aparatus [130].
Euxyl® 9010 PE	Gesinimo milteliai, didesnio gaisro atveju naudoti alkoholiui atsparias putas ir vandens purškimą [131].	Negesinti tiesiogine vandens srove. Esant elektros įtampai, nenaudoti vandens/putų gesinimui [131].	Degimo ar skilimo produktų poveikis gali būti žalingas sveikatai [131].	Nenurodyta [131].	Atsižvelgti į vėjo kryptį. Neleisti, kad gaisrui gesinti naudojamos priemonės patektų į kanalizaciją, nuotekų sistemas ar vandens kelius [131].

13 lentelė. Naudojamų cheminių medžiagų profesinio poveikio ribiniai dydžiai [132]

Cheminė medžiaga	Ribinis dydis					
	Ilgalaikio poveikio ribinis dydis		Trumpalaikio poveikio ribinis dydis		Neviršytinas ribinis dydis	
	mg/m ³	ppm	mg/m ³	ppm	mg/m ³	ppm
Dimetilsulfoksidas	150	50	500	150	–	–
Koncentruota sieros rūgštis	0,05	–	3	–	–	–
Natrio dichromatas	0,005	–	0,015	–	–	–
Polietilenglikolis	–	–	–	–	–	–
Glicerolis	10	–	–	–	–	–
Euxyl® 9010 PE	–	–	–	–	–	–

Laboratorijoje, kurioje yra atliekami tyrimai, yra reikalingos kolektyvinės ir asmeninės apsaugos priemonės. Kolektyvinėms saugos priemonėms priskiriama traukos spinta, kuri yra reikalinga dirbant su kenksmingomis medžiagomis, kaip koncentruota sieros rūgštis, dimetilsulfoksidas. Taip pat, dėl biologinio saugumo, rekomenduojama naudoti biologinio saugumo spintą, atliekant antibakterinių savybių tyrimus su įvairiomis bakterijomis. Asmeninės apsaugos priemonės, naudojamos laboratorijoje – laboratorinis chalatas, apsauginiai akiniai, apsauginės pirštinės. Žemiau pateiktame 23 paveiksle pateiktas asmeninių darbo apsaugos priemonių ženklavimas:



23 pav. Asmeninių apsaugos priemonių ženklavimas: a) būtina dėvėti apsauginius akinius; b) būtina mūvėti apsaugines pirštines

9, 10, 11, 12 ir 13 prieduose pateikiami tiriamojo darbo aplinkos fizikinių, fizinių, cheminių, biologinių, ergonominių ir psichosocialinių rizikos veiksnių informacija.

Išvados

1. Plėvelės, gautos išliejus kolageno hidrolizato, želatinos ir polietilenglikolio, su molekuline mase 20000 bei 1500, tirpalų mišinius pasižymėjo geromis organoleptinėmis savybėmis – elastingumu ir lankstumu. Šiose tirpalų kompozicijose kaip plastifikatorių naudojant polietilenglikolį, kurio molekulinė masė 100000, ar glicerolį, gaunama trapi plėvelė.
2. Plastifikatoriaus rūšis ir kiekis plėvelės kompozicijoje turi ženklios įtakos jos fizikinėms ir mechaninėms savybėms. Plastifikuotos PEG 20000 plėvelės pasižymėjo ženkliai didesne ištįsa trūkio metu (iki 101,05 %), nei naudojant PEG 1500 (iki 18,11 %). Pirmųjų stipris tempiant buvo mažesnis, bet pakankamas. Didinant plastifikatoriaus PEG 1500 kiekį plėvelėje ištįsa trūkio metu didėja, o, viršijus 33,3 %, pradeda mažėti, PEG 20000 atveju ištįsa tik didėja. Šis plastifikatorius turi įtakos vandens garų sorbcijai – didėjant plastifikatoriaus kiekiui, ji mažėja.
3. Bioaktyvių medžiagų pridėjimas į baltymų–plastifikatoriaus tirpalų kompozicijas keičia iš jų gaunamų plėvelių fizikines ir mechanines savybes. Visų šių medžiagų poveikis mechaninėms savybėms yra panašus – didėjant jų kiekiui, stipris tempiant didėja, o ištįsa trūkio metu mažėja. Pridėjus 5 % bioaktyvių medžiagų, jų ištįsa trūkio metu, lyginant su kontroliniu bandiniu sumažėja 2,12–3,01 karto. Garų sorbcijai ir jos kitimui įtakos turi bioaktyvios medžiagos rūšis: didėjant triazolo 7-20 kiekiui kompozicijoje, plėvelės sorbcijos geba mažėja; Euxyl® 9010 PE konservantas įtakos šiai savybei beveik neturi, o augalinių ekstraktų pridėjimas lemia sorbcinės gebos padidėjimą. Įvertinus plėvelių masės sumažėjimą vandenyje, galima teigti, kad visos bioaktyviosios medžiagos lemia didesnę masės sumažėjimą, tačiau didžiausią sumažėjimą lemia triazolo pridėjimas. Ši bioaktyvioji medžiaga lemia 13,62 % didesnę masės sumažėjimą, lyginant su kontroliniu bandiniu.
4. Bioaktyvūs priedai plėvelėse pakeičia jų temperatūrines charakteristikas: bioaktyvių medžiagų pridėjimas į plėvelę lemia didesnius masės pokyčius 40–400 °C temperatūros intervale. Tai reiškia, kad įterptos bioaktyvios medžiagos pradeda irti sparčiau, nei plėvelę sudarantys baltymai ir plastifikatoriai. Plėvelių, kuriose yra bioaktyvių medžiagų, spektruose stebimos intensyvesnės (lyginant su kontrolinės plėvelės spektru) smailės, susijusios su OH ir NH grupėmis ir, taip pat, stebimos intensyvios smailės, susijusios su fenoliniams junginiams būdingomis grupėmis.
5. Visos bioaktyviosios medžiagos (triazolas 7-20, konservantas Euxyl® 9010 PE, gauromečio ekstraktas ir jonažolių ekstraktas) turi teigiamos įtakos plėvelių antibakterinėms savybėms. Didžiausią inhibicijos diametrą plėvelėms suteikia augaliniai ekstraktai. *Bacillus Subtilis* bakterijų augimą geriausiai slopina plėvelės su gauromečio ekstraktu (inhibicijos zona – 1,20±0,21 cm). *E. Coli* bakterijas geriausiai slopina plėvelės su jonažolių ekstraktu (inhibicijos zona – 1,18±0,08 cm).
6. Sudaryta plėvelių iš baltyminių medžiagų, plastifikatorių ir gauromečio ekstrakto gamybos linijos schema.

Literatūros sąrašas

1. OWCZARZY, A., KURASIŃSKI, R., KULIG, K., ROGÓŻ, W., SZKUDLAREK, A., MACIAŻEK-JURCZYK, M., Collagen - structure, properties and application., 2021, DOI: 10.34821/eng.biomat.156.2020.17-23
2. BHADRA B., SAKPAL A., PATIL S., PATIL S., DATE A., PRASAD V., DASGUPTA S., A Guide to Collagen Sources, Applications and Current Advancements. Systematic Bioscience and Engineering, 2021, 67-8. Prieiga per: <https://ojs.wiserpub.com/index.php/SBE/article/view/1043>
3. VOINITCHI C, GAIDAU C, CAPATANA TUDORIE F, NICULESCU M, STANCA M, ALEXE C.A., Collagen and Keratin Hydrolysates to Delay the Setting of Gypsum Plaster. Materials. 2022; 15(24):8817. <https://doi.org/10.3390/ma15248817>
4. TAWALBEH, D., KHA'SIM, M. I., MHD SARBON, N., SARBON, N. M., Techno-Functional and Bioactivity Properties of Collagen Hydrolysate and Peptide: A Review. Food Reviews International, 2025, 1–29. <https://doi.org/10.1080/87559129.2025.2450052>
5. TAHERI P., JAHANMARDI R., KOOSHA M., ABDI S., Physical, mechanical and wound healing properties of chitosan/gelatin blend films containing tannic acid and/or bacterial nanocellulose, International Journal of Biological Macromolecules, Volume 154, 2020, Pages 421-432, ISSN 0141-8130, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.114>.
6. RICARD-BLUM Sylvie, The collagen family. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2011, DOI: 10.1101/cshperspect.a004978. PMID: 21421911; PMCID: PMC3003457
7. SHENOY M., ABDUL N. S., QAMAR Z., AH BAHRI B. M., AL GHALAYINI K. Z. K., KAKTI A. Collagen Structure, Synthesis, and Its Applications: A Systematic Review. Cureus. 2022, DOI: 10.7759/cureus.24856. PMID: 35702467; PMCID: PMC9177216.
8. JAFARI H., LISTA A., SIEKAPEN M. M., GHAFFARI-BOHLOULI P., NIE L., ALIMORADI H., SHAVANDI A., Fish Collagen: Extraction, Characterization, and Applications for Biomaterials Engineering. Polymers. 2020; 12(10):2230. <https://doi.org/10.3390/polym12102230>
9. LI, P., WU, G. Roles of dietary glycine, proline, and hydroxyproline in collagen synthesis and animal growth. *Amino Acids* 50, 29–38 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00726-017-2490-6>
10. MAYNES, Richard, BURGESSON Robert E., Structure and Function of Collagen Types. Academic Press, 1991, ISBN: 9780124332645. Prieiga per: https://books.google.lt/books?id=bH_9CLDLtkQC
11. NIMNI Marcel E., Collagen, Volume I: Biochemistry, 2018, CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781351070799>
12. GAUZA-WŁODARCZYK M., KUBISZ L., WŁODARCZYK D., Amino acid composition in determination of collagen origin and assessment of physical factors effects, International Journal of Biological Macromolecules, Volume 104, Part A, 2017, Pages 987-991, ISSN 0141-8130, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.013>
13. SHOULDERS M. S., RAINES R. T., Collagen Structure and Stability, Annual Review of Biochemistry, 2009, Vol. 78:929-958, DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.77.032207.120833>
14. CHATTOPADHYAY S., RAINES R. T., Collagen-based biomaterials for wound healing, *Biopolymers*, Volume 101, Issue 8, 2014, 821-833, DOI: <https://doi.org/10.1002/bip.22486>
15. EL BLIDI O., EL OMARI, N., BALAHBIB, A., GHCHIME, R., EL MENYIY, N., et al., Extraction Methods, Characterization and Biomedical Applications of Collagen: A Review.

- Biointerface Research in Applied Chemistry*, 2021, vol. 11(5), 13587–13613, doi: 10.33263/BRIAC115.1358713613
16. ZHANG, Z.K., LI, G.Y., SHI, B.L., Physicochemical properties of collagen, gelatin and collagen hydrolysate derived from bovine limed split wastes, *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, 2006, vol. 90(1), 1–5. doi: 10.1016/j.jbiomat.2021.02.012
 17. SILVIPRIYA, K. S., KRISHNA KUMAR, K., BHAT, A. R., LAKSHMANAN, P., Collagen: Animal Sources and Biomedical Application, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol 5 (03), pp. 123-127, 2015, DOI: 10.7324/JAPS.2015.50322
 18. AVILA RODRÍGUEZ M. I., RODRÍGUEZ BARROSO L. G., SÁNCHEZ M. L.. Collagen: A review on its sources and potential cosmetic applications. *J Cosmet Dermatol*. 2018, (1):20-26. doi: 10.1111/jocd.12450
 19. Schmidt, M. M., Dornelles, R. C. P., Mello, R. O., Kubota, E. H., Mazutti, M. A., Kempka, A. P., Demiate, I. M., Collagen extraction process, *International Food Research Journal*, (913–922), 2016, price per: [http://www.ifrj.upm.edu.my/23%20\(03\)%202016/\(1\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/23%20(03)%202016/(1).pdf)
 20. MATINONG A. M. E., CHISTI Y., PICKERING K. L., HAVERKAMP R. G., Collagen Extraction from Animal Skin, *Biology*. 2022; 11(6):905. <https://doi.org/10.3390/biology11060905>
 21. NAGAI T., TANOUE Y., KAI N., SUZUKI N., Characterization of collagen from emu (*Dromaius novaehollandiae*) skins, *Journal of Food Science and Technology*,. 2015, 52(4):2344-51. doi: 10.1007/s13197-014-1266-1.
 22. WANG B., WANG Y. M., CHI C.F., LUO H. Y., DENG S. G., MA J. Y., Isolation and characterization of collagen and antioxidant collagen peptides from scales of croceine croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Mar Drugs*, 2013; 11(11):4641-61. doi: 10.3390/md11114641
 23. NOORZAI, S., VERBEEK, C. J. R., LAY, M. C., et al., Collagen Extraction from Various Waste Bovine Hide Sources, *Waste Biomass Valorization*, Vol 11, 5687–5698, 2020, DOI: <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00843-2>
 24. SIROTKINA, M. Y., CHABINA, A. S., LOMERT, E. V. et al., Effect of Telopeptides in Collagen on the Behavior of Mesenchymal Stromal Cells In Vitro, *Cell and Tissue Biology*,. Vol 18, 699–706, 2024, DOI: <https://doi.org/10.1134/S1990519X24700603>
 25. CHERIM M., MUSTAFA A., CADAR E., LUPAȘCU N., PARIS S., SÎRBU R., Collagen: Sources and Areas of Use, *European Journal of Interdisciplinary Studies*, 2016, vol. 4(1), 122–128, DOI: [10.26417/ejis.v4i1.p122-128](https://doi.org/10.26417/ejis.v4i1.p122-128)
 26. BIŠKAUSKAITĖ R., MIŠKŪNAITĖ L., PLAVAN V., VALEIKA V., Hydrolysis of used leather and application of hydrolysates, *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*, 2024, 73, 1, 60–67 <https://doi.org/10.3176/proc.2024.1.07>
 27. OCAK, B., Film-forming ability of collagen hydrolysate extracted from leather solid wastes with chitosan, *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 4643–4655, 2018, <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0843-z>
 28. LUO Q., HOSSEN A. M., ZENG Y., DAI J., LI S., QIN W., LIU Y., Gelatin-based composite films and their application in food packaging: A review, *Journal of Food Engineering*, Volume 313, 2022, 110762, ISSN 0260-8774, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110762>.
 29. GÓMEZ-GUILLÉN M. C., GIMÉNEZ B., LÓPEZ-CABALLERO M. E., MONTERO M. P., Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review, *Food Hydrocolloids*, Volume 25, Issue 8, 2011, Pages 1813-1827, ISSN 0268-005X, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.007>.

30. ALIPAL J., MOHD PU'AD N. A. S., LEE T. C., NAYAN N. H. M., SAHARI N., BASRI H., IDRIS M. I., ABDULLAH H. Z., A review of gelatin: Properties, sources, process, applications, and commercialisation, *Materials Today: Proceedings*, Volume 42, Part 1, 2021, Pages 240-250, ISSN 2214-7853, <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.922>.
31. ROY B. C., OMANA D. A., BETTI M., BRUCE H. L., Extraction and Characterization of Gelatin from Bovine Lung, *Food Science and Technology Research*, 2017, Volume 23, Issue 2, Pages 255-266, DOI: <https://doi.org/10.3136/fstr.23.255>
32. AHMAD T., ISMAIL A., AHMAD S. A., KHALIL K. A., KEE L. T., AWAD E. A., ADEYEMI K. D., SAZILI A. Q., Autolysis of bovine skin, its endogenous proteases, protease inhibitors and their effects on quality characteristics of extracted gelatin, *Food Chemistry*, Volume 265, 2018, Pages 1-8, ISSN 0308-8146, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.046>.
33. LIU D., NIKOO M., BORAN G., Peng Z., REGENSTEIN J. M., Collagen and Gelatin. *Annual Review of Food Science and Technology*, Annual Reviews, 2015, vol. 6, 527–557, doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-food-031414-111800>
34. PIAO Y., YOU H., XU T., BEI H. P., PIWKO I. Z., KWAN Y. Y., ZHAO X., Biomedical applications of gelatin methacryloyl hydrogels, *Engineered Regeneration*, Volume 2, 2021, Pages 47-56, ISSN 2666-1381, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2021.03.002>
35. SONG H., LI B., Beneficial Effects of Collagen Hydrolysate: A Review on Recent Developments, *Biomedical Journal of Scientific and Technical Research*, 2017, ISSN: 2574-1241, DOI: 10.26717/BJSTR.2017.01.000217
36. GORES, F., RADKE, W. ir HELD, D. Molar Mass Determination of Collagen Peptides. *LCCG Supplements: Advances in Food and Beverage Analysis*, Chromatography Online, 2021, vol. 39 (s1), 17–20 Prieiga per: <https://www.chromatographyonline.com/view/molar-mass-determination-of-collagen-peptides>
37. KUBILIUS K., BIŠKAUSKAITĖ R., VALEIKA V., Enzymatic Hydrolysis of Chromed Leather Wastes and Application of Hydrolysate, *International Journal of Science, Engineering and Management (IJSEM)*, Vol 10, Issue 5, 2023, ISSN (Online) 2456 -1304,
38. MATHEW-STEINER S. S., ROY S. ir SEN C. K. Collagen in Wound Healing. *Bioengineering*, 2021, vol. 8(5), 63, doi: <https://doi.org/10.3390/bioengineering8050063>
39. AVILA RODRÍGUEZ M. I., RODRÍGUEZ BARROSO L. G., SÁNCHEZ M. L., Collagen: A review on its sources and potential cosmetic applications. *J Cosmet Dermatol*. 2018;17(1):20-26. DOI: 10.1111/jocd.12450
40. BORBOLLA-JIMÉNEZ F. V., PEÑA-CORONA S. I., FARAH S. J., JIMÉNEZ-VALDÉS M. T., PINEDA-PÉREZ E., ROMERO-MONTERO A., DEL PRADO-AUDELO M. L., BERNAL-CHÁVEZ S. A., MAGAÑA J. J., LEYVA-GÓMEZ G., Films for Wound Healing Fabricated Using a Solvent Casting Technique, *Pharmaceutics*, 2023; 15(7):1914. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15071914>
41. LI, G. Y., FUKUNAGA, S., TAKENOCHI, K. AND NAKAMURA, F., Comparative study of the physiological properties of collagen, gelatin and collagen hydrolysate as cosmetic materials. *International Journal of Cosmetic Science*, Vol 27, Issue 2; 101-106, 2005, <https://doi.org/10.1111/j.1467-2494.2004.00251.x>
42. Ahmady A. R., Razmjooee K., Saber-Samandari S., Toghraie D., Fabrication of chitosan-gelatin films incorporated with thymol-loaded alginate microparticles for controlled drug delivery, antibacterial activity and wound healing: In-vitro and in-vivo studies, *International*

- Journal of Biological Macromolecules*, Volume 223, Part A, 2022, Pages 567-582, ISSN 0141-8130, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.10.249>.
43. SHI, S., WANG, L., SONG, C. et al., Recent progresses of collagen dressings for chronic skin wound healing,. *Collagen & Leather* 5, 31, 2023, <https://doi.org/10.1186/s42825-023-00136-4>
 44. C.H. LEE, Y. LEE, 7 – Collagen-based formulations for wound healing applications, Editor(s): Magnus S. Ågren, *Wound Healing Biomaterials*, Woodhead Publishing, 2016, Pages 135-149, ISBN 9781782424567, DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-456-7.00007-6>
 45. GASPAR-PINTILIESCU A, STANCIUC AM, CRACIUNESCU O. Natural composite dressings based on collagen, gelatin and plant bioactive compounds for wound healing: A review. *Int J Biol Macromol.* 2019;138:854-865. doi: [10.1016/j.ijbiomac.2019.07.155](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.155)
 46. KARKI S., KIM H., NA S. J., SHIN D., JO K., LEE J., Thin films as an emerging platform for drug delivery, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, Volume 11, Issue 5, 2016, Pages 559-574, ISSN 1818-0876, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2016.05.004>.
 47. KRAMPE R., VISSER J. C., FRIJLINK H. W., BREITKREUTZ J., WOERDENBAG H. J., PREIS M., Oromucosal film preparations: points to consider for patient centricity and manufacturing processes. *Expert Opin Drug Deliv.* 2016;13(4):493-506. doi: [10.1517/17425247.2016.1118048](https://doi.org/10.1517/17425247.2016.1118048)
 48. LANGMAIER F., MOKREJS P., KOLOMAZNIK K., MLADEK M., Plasticizing collagen hydrolysate with glycerol and low-molecular weight poly(ethylene glycols), *Thermochimica Acta*, Volume 469, Issues 1–2, 2008, Pages 52-58, ISSN 0040-6031, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tca.2008.01.003>.
 49. BERGO P, SOBRAL P. J. A., Effects of plasticizer on physical properties of pigskin gelatin films, *Food Hydrocolloids*, Volume 21, Issue 8, 2007, Pages 1285-1289, ISSN 0268-005X, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.09.014>.
 50. GAO F., WANG T., XIAO J., HUANG G., Antibacterial activity study of 1,2,4-triazole derivatives, *European Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 173, 2019, Pages 274-281, ISSN 0223-5234, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.04.043>.
 51. ZHANG B., Comprehensive review on the anti-bacterial activity of 1,2,3-triazole hybrids, *European Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 168, 2019, Pages 357-372, ISSN 0223-5234, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.02.055>.
 52. SHEDOEVA A., LEAVESLEY D., UPTON Z., FAN C., Wound Healing and the Use of Medicinal Plants, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2019, Issue 1 2684108, 2019, doi: <https://doi.org/10.1155/2019/2684108>
 53. MAVER T., MAVER U., STANA KLEINSCHEK K., SMRKE D. M., KREFT S., A review of herbal medicines in wound healing. *Int J Dermatol.* 2015;54(7):740-751. doi:10.1111/ijd.12766
 54. RAHIMI Z., HOSSEINI M., SAIFI T., Production of edible film based on gelatin containing thyme essential oil: investigation of its physicochemical, mechanical, antioxidant and microbial properties, *Journal Of Food Science and Technology (Iran)*, No. 135, Vol 20, 2023, DOI: [10.22034/FSCT.19.135.129](https://doi.org/10.22034/FSCT.19.135.129)
 55. FRSHCHENKO H., MARCHYSHYN, BUDNIAK L. I., ET. AL., Study of antibacterial and antifungal properties of the lyophilized extract of fireweed (*Chamaenerion Angustifolium* L.) Herb, *Pharmacologyonline* 2:1464-1472, 2021.

56. OKMEN G, BALPINAR N. The biological activities of hypericum perforatum L. *Afr J Tradit Complement Altern Med.*, 2016;14(1):213-218. Published 2016, doi:10.21010/ajtcam.v14i1.23
57. LASINSKAS M., JARIENĖ E., Siauralapio gauromečio (*Chamerion angustifolium* L.) panaudojimo galimybės: tyrimų apžvalga, *ŽEMĖS ŪKIO MOKSLAI*. 2018. T. 25. Nr. 3. P. 125–130
58. STANCA, M.; GAIDAU, C.; ZAHARESCU, T.; BALAN, G.-A.; MATEI, I.; PRECUPAS, A.; LEONTIES, A.R.; IONITA, G. Physico-Chemical Changes Induced by Gamma Irradiation on Some Structural Protein Extracts. *Biomolecules* 2023, 13, 774. <https://doi.org/10.3390/biom13050774>
59. SIEGER W., Can New Biodegradable Complexing Agents Replace Tetrasodium EDTA to Boost Preservatives?, *International Journal for Applied Science*, 2008
60. YEO Y. L., CHIA Y. Y., LEE C. H., SOW H. S., YAP W. S., Effectiveness of Maceration Periods with Different Extraction Solvents on in-vitro Antimicrobial Activity from Fruit of *Momordica charantia* L., *Department of Biotechnology, Faculty of Applied Sciences, UCSI University, Kuala Lumpur, Malaysia*, 2014, DOI: [10.7324/JAPS.2014.401004](https://doi.org/10.7324/JAPS.2014.401004)
61. Kim S. M., Choi H. J., Lim J. A., et al., Biosynthesis of Silver Nanoparticles from *Duchesnea indica* Extracts Using Different Solvents and Their Antibacterial Activity. *Microorganisms*. 2023;11(6):1539. Published 2023. doi:10.3390/microorganisms11061539
62. Yunoki S., Mogi A., Mizuno K., Nagakawa Y., Hiraoka Y., Plasticizer–gelatin mixed solutions as skin protection materials with flexible-film-forming capability, *Heliyon*, Volume 10, Issue 3, 2024, ISSN 2405-8440, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25441>
63. VANIN F., SOBRAL P., MENEGALLI F. C., et al., Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films, *Food Hydrocolloids* 19(5):899–907, 2005, DOI: [10.1016/j.foodhyd.2004.12.003](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.12.003)
64. ARFAT Y. A., Plasticizers for Biopolymer Films, *Glass Transition and Phase Transitions in Food and Biological Materials Edition*, 1st Chapter: Plasticizers for biopolymer films, 2017, DOI: [10.1002/9781118935682.ch6](https://doi.org/10.1002/9781118935682.ch6)
65. Chursin V. I., Chirkova N. A., Zernova S. A., Modification of Biopolymer Composites Based on Hydrolysis Products of Collagen and Hydroxyethyl Cellulose. *International Polymer Science and Technology*. 2018;35(11):41-43. doi:[10.1177/0307174X0803501107](https://doi.org/10.1177/0307174X0803501107)
66. WILSON R. E., Humidity Control by Means of Sulfuric Acid Solutions, with Critical Compilation of Vapor Pressure Data, *Journal of Industrial & Engineering Chemistry*, Vol 13, Issue 4, 1921, DOI: <https://doi.org/10.1021/ie50136a022>
67. WEXLER A., HASEGAWA S., Relative Humidity-Temperature Relationships of Some Saturated Salt Solutions in the Temperature Range 0 to 500 C, *Journal of Research of the National Bureau of Standards*, Vol 53, No 1, 1954.
68. NADENDLA R. R., PRIYANKA P. V. L. N., Optimizing transdermal patch formulation for enhanced delivery of rivaroxaban: a comprehensive design of experiments approach, *Department of Pharmaceutics, Chalapathi Institute of Pharmaceutical Sciences*, 2024, DOI: [10.22159/ijpps.2024v16i12.51075](https://doi.org/10.22159/ijpps.2024v16i12.51075)
69. GILFILLAN W., SOPADE P., DOHERTY W., Moisture uptake and tensile properties of starch-sugar cane fibre films, *International Sugar Journal* 115(1369):23-27, 2013.
70. FAKHREDDIN HOSSEINI S., REZAEI M., ZANDI M., GHAVI F. F., Preparation and functional properties of fish gelatin-chitosan blend edible films. *Food Chem.* 2013;136(3-4):1490-1495. doi:10.1016/j.foodchem.2012.09.081

71. BITENCOURT C., FAVARO-TRINDADE C., SOBRAL P., et al., Gelatin-based films additivated with curcuma ethanol extract: Antioxidant activity and physical properties of films, *Food Hydrocolloids*, 40:145-142, 2014, DOI: [10.1016/j.foodhyd.2014.02.014](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.02.014)
72. CHOTPHRUETHIPONG L., BINALETH T., HUTAMEKALIN P., et al., In vitro antioxidant and wound-healing activities of hydrolyzed collagen from defatted Asian sea bass skin as influenced by different enzyme types and hydrolysis processes, *RSC Advances*, Issue 30, 2021, doi: 10.1039/D1RA03131G
73. MARTÍNEZ RODRÍGUEZ T., VALENTINO C., RODRÍGUEZ POZO F. R., HERNÁNDEZ BENAVIDES P., ARREBOLA VARGAS F., PAREDES J. M., SAINZ-DÍAZ C. I., IGLESIAS G. R., ROSSI S., SANDRI G., et al., Formulative Study and Characterization of Novel Biomaterials Based on Chitosan/Hydrolyzed Collagen Films. *Journal of Functional Biomaterials*. 2024; 15(3):69. <https://doi.org/10.3390/jfb15030069>
74. JUNIOR L. M., RODRIGUES P. R., SILVA R. G., VIEIRA R. P., ALVES R. M. V., Improving the mechanical properties and thermal stability of sodium alginate/hydrolyzed collagen films through the incorporation of SiO₂, *Current Research in Food Science*, Volume 5, 2022, Pages 96-101, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.12.012>
75. SHEN L., WORRELL E., PATEL M. K., Open-loop recycling: A LCA case study of PET bottle-to-fibre recycling, *Resources, Conservation and Recycling*, Volume 55, Issue 1, November 2010, Pages 34-52, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2010.06.014>
76. AKINSEMOLU A. A., IDOWU A. M., ONYEAKA H. N., Recycling Technologies for Biopolymers: Current Challenges and Future Directions. *Polymers*. 2024; 16(19):2770. <https://doi.org/10.3390/polym16192770>
77. DONG M., BILOTTI E., ZHANG H., PAPAGEORGIOU D. G., Sustainable Gelatin-Based Nanocomposite Packaging Films with Enhanced Physical Properties and Inherent Recyclability. *Advanced Sustainable Systems*, 2025, 9, 2400728. <https://doi.org/10.1002/adsu.202400728>
78. SUYATMA N. E., TIGHZERT L., COPINET A., COMA V., Effects of hydrophilic plasticizers on mechanical, thermal, and surface properties of chitosan films. *J Agric Food Chem*. 2005;53(10):3950-3957. doi: 10.1021/jf048790+
79. MATHEW A. P., DUFRESNE A., Plasticized waxy maize starch: effect of polyols and relative humidity on material properties. *Biomacromolecules*. 2002;3(5):1101-1108. doi:10.1021/bm020065p
80. BAIRD J. A., OLAYO-VALLES R., RINALDI C., TAYLOR L. S., Effect of molecular weight, temperature, and additives on the moisture sorption properties of polyethylene glycol. *J Pharm Sci*. 2010;99(1):154-168. doi:10.1002/jps.21808
81. THANAKKASARANEE S., KIM D., SEO J., Preparation and Characterization of Poly(ether-block-amide)/Polyethylene Glycol Composite Films with Temperature-Dependent Permeation. *Polymers*. 2018; 10(2):225. <https://doi.org/10.3390/polym10020225>
82. WIDIAWATY A., SUKASIHATI, AYDA K. P., NASUTION S. A., Skin Moisture Profile of Normal Skin and Inflammatory Skin Disease Using Skin Analyzer Alida Widiawaty*, Sukasihati, Kharina Puteri Ayda, Salsabila Azura Nasution Faculty of Medicine, University of Riau, Pekanbaru, Indonesia, *4TH RIAU MEDICAL SCIENTIFIC AND EXPO*, 2022, DOI: <https://doi.org/10.11594/nstp.2022.2825>
83. PHILLIPS P. L., YANG Q., DAVIS S., et al., Antimicrobial dressing efficacy against mature *Pseudomonas aeruginosa* biofilm on porcine skin explants, *Int Wound J*. 2015;12(4):469-483. doi:10.1111/iwj.12142

84. LIM, H., HOAG, S.W. Plasticizer Effects on Physical–Mechanical Properties of Solvent Cast Soluplus® Films. *AAPS PharmSciTech* 14, 903–910 (2013). <https://doi.org/10.1208/s12249-013-9971-z>
85. ZAMAN H. U., ISLAM J. M. M., KHAN M. A., KHAN R. A., Physico-mechanical properties of wound dressing material and its biomedical application, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, Volume 4, Issue 7, October 2011, Pages 1369-1375, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2011.05.007>
86. TAVAKOLI J., Physico-mechanical, morphological and biomedical properties of a novel natural wound dressing material, *J Mech Behav Biomed Mater.* 2017;65:373-382. doi:10.1016/j.jmbbm.2016.09.008
87. NUUTILA K., ERIKSSON E., Moist Wound Healing with Commonly Available Dressings, *Advancs in Wound Care*, Vol 10, No 12, 2021, doi: <https://doi.org/10.1089/wound.2020.1232>
88. NEGUT I., DORCIOMAN G., GRUMEZESCU V., Scaffolds for Wound Healing Applications. *Polymers*. 2020; 12(9):2010. <https://doi.org/10.3390/polym12092010>
89. KOLA V., CARVALHO I. S., Plant extracts as additives in biodegradable films and coatings in active food packaging, *Food Bioscience* Volume 54, 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102860>
90. LOPES A. I., MELO A., CALEJA C., PEREIRA E., FINIMUNDY T. C., AFONSO T. B., SILVA S., IVANOV M., SOKOVIĆ M., TAVARIA F. K., et al., Evaluation of Antimicrobial and Antioxidant Activities of Alginate Edible Coatings Incorporated with Plant Extracts. *Coatings*. 2023; 13(9):1487. <https://doi.org/10.3390/coatings13091487>
91. „euxyl™ pe 9010 preservative chemistry: antimicrobials“, prieiga per internetą: <https://www.ashland.com/industries/personal-and-home-care/hair-care/euxyl-pe-9010-preservative>
92. FAKHOURI F. M., NOGUEIRA G. F., OLIVEIRA R. A., VELASCO J. I., Bioactive Edible Films Based on Arrowroot Starch Incorporated with Cranberry Powder: Microstructure, Thermal Properties, Ascorbic Acid Content and Sensory Analysis, *Polymers* 2019, 11(10), 1650; <https://doi.org/10.3390/polym11101650>
93. KANTHETI S., NARAYAN R., RAJU K. V. S. N., The impact of 1,2,3-triazoles in the design of functional coatings, *RSC Advance*, Issue 5, 2015, 3687-3708, DOI: <https://doi.org/10.1039/C4RA12739K>
94. HEYDARIAN M., JOOYANDEH H., NASEHI B., NOSHAD M., Characterization of Hypericum perforatum polysaccharides with antioxidant and antimicrobial activities: Optimization based statistical modeling. *Int J Biol Macromol.* 2017;104(Pt A):287-293. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.06.049
95. TOURABI, M., METOUEKEL, A., GHOUZI, A.E.L. et al. Efficacy of various extracting solvents on phytochemical composition, and biological properties of Mentha longifolia L. leaf extracts. *Sci Rep* 13, 18028 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-45030-5>
96. CHATTOPADHYAY S., RAINES R. T., Review collagen-based biomaterials for wound healing. *Biopolymers*. 2014;101(8):821-833. doi:10.1002/bip.22486
97. SEN U., BOZKURT A., ATA A., Nafion/poly(1-vinyl-1,2,4-triazole) blends as proton conducting membranes for polymer electrolyte membrane fuel cells, *Institute of Technology, Materials Science and Engineering*, 195(23), 7720-7726, doi:10.1016/j.jpowsour.2010.04.08
98. LI J. H., MIAO J., WU J. L. et al., Preparation and characterization of active gelatin-based films incorporated with natural antioxidants, *Food Hydrocolloids* 37:166–173, 2014, DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.10.015

99. NUNES MARILLIA P. S., BEZERRA M. S., COSTA L., et al., Thermal characterization of usnic acid/collagen-based films, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 99(3):1011-1014, 2010, DOI: 10.1007/s10973-009-0661-8
100. AHMAD M., NIRMAL N. P., DANISH M., CHUPROM J., JAFARZEDEH S., Characterisation of composite films fabricated from collagen/chitosan and collagen/soy protein isolate for food packaging applications, *RSC Advances*, Issue 85, 2016, 6, 821, DOI: <https://doi.org/10.1039/C6RA13043G>
101. HERMANTO S., SUMARLIN L. O., FATIMAH W., Differentiation of Bovine and Porcine Gelatin Based on Spectroscopic and Electrophoretic Analysis, *Journal of Food and Pharmaceutical Science* 1 (2013) 68-73
102. RIAZ T., ZEESHAN R., ZARIF F., et al., FTIR analysis of natural and synthetic collagen FTIR analysis of natural and synthetic collagen, *Applied Spectroscopy Reviews* 53(9), 2018, DOI: 10.1080/05704928.2018.1426595
103. KOZHANTAYEVA A., TURSINOVA N., KOLPEK A., AIBULDINOV Y., TURSINOVA A., MASHAN T., MUKAZHANOVA Z., IBRAYEVA M., ZEINULDINA A., NURLYBAYEVA A., et al. Phytochemical Profiling, Antioxidant and Antimicrobial Potentials of Ethanol and Ethyl Acetate Extracts of *Chamaenerion latifolium* L. *Pharmaceuticals*. 2024; 17(8):996. <https://doi.org/10.3390/ph17080996>
104. BADAWI H. M., Vibrational spectra and assignments of 2-phenylethanol and 2-phenoxyethanol., *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* Volume 82, Issue 1, November 2011, Pages 63-68, doi:10.1016/j.saa.2011.06.066
105. VANITHA A., KALIMUNTHU K., CHINNADUTAI V., JERUN NISHA K. M., 105. Phytochemical screening, FTIR and GCMS analysis of aqueous extract of *Caralluma bicolor* – An endangered plant, Plant Tissue Culture Division, PG and Research Department of Botany, Government Arts College, *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2019, 5(6): 1122-1130
106. Huck-Pezzei, V.A., Pallua, J.D., Pezzei, C. et al. Fourier transform infrared imaging analysis in discrimination studies of St. John's wort (*Hypericum perforatum*). *Anal Bioanal Chem* 404, 1771–1778 (2012). <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6296-9>
107. GE L., ZHU M., LI X., et al., Development of active rosmarinic acid-gelatin biodegradable films with antioxidant and long-term antibacterial activities, *Food Hydrocolloids* 83, 2018, DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.04.052
108. KAMMOUN M, HADDAR M, KALLEL TK, DAMMAK M, SAYARI A. Biological properties and biodegradation studies of chitosan biofilms plasticized with PEG and glycerol. *Int J Biol Macromol*. 2013;62:433-438. doi:10.1016/j.ijbiomac.2013.09.025
109. STRZELECKA M, ŚWIĄTEK P. 1,2,4-Triazoles as Important Antibacterial Agents. *Pharmaceuticals*. 2021; 14(3):224. <https://doi.org/10.3390/ph14030224>
110. PODDEBNIAK P, KALINOWSKA-LIS U. A Survey of Preservatives Used in Cosmetic Products. *Applied Sciences*. 2024; 14(4):1581. <https://doi.org/10.3390/app14041581>
111. DREGER M, ADAMCZAK A, FOKSOWICZ-FLACZYK J. Antibacterial and Antimycotic Activity of *Epilobium angustifolium* L. Extracts: A Review. *Pharmaceuticals*. 2023; 16(10):1419. <https://doi.org/10.3390/ph16101419>
112. LASINSKAS M, JARIENE E, VAITKEVICIENE N, KULAITIENE J, ADAMAVICIENE A, HALLMANN E. The Impact of Solid-Phase Fermentation on Flavonoids, Phenolic Acids, Tannins and Antioxidant Activity in *Chamaenerion angustifolium* (L.) Holub (Fireweed) Leaves. *Plants*. 2023; 12(2):277. <https://doi.org/10.3390/plants12020277>

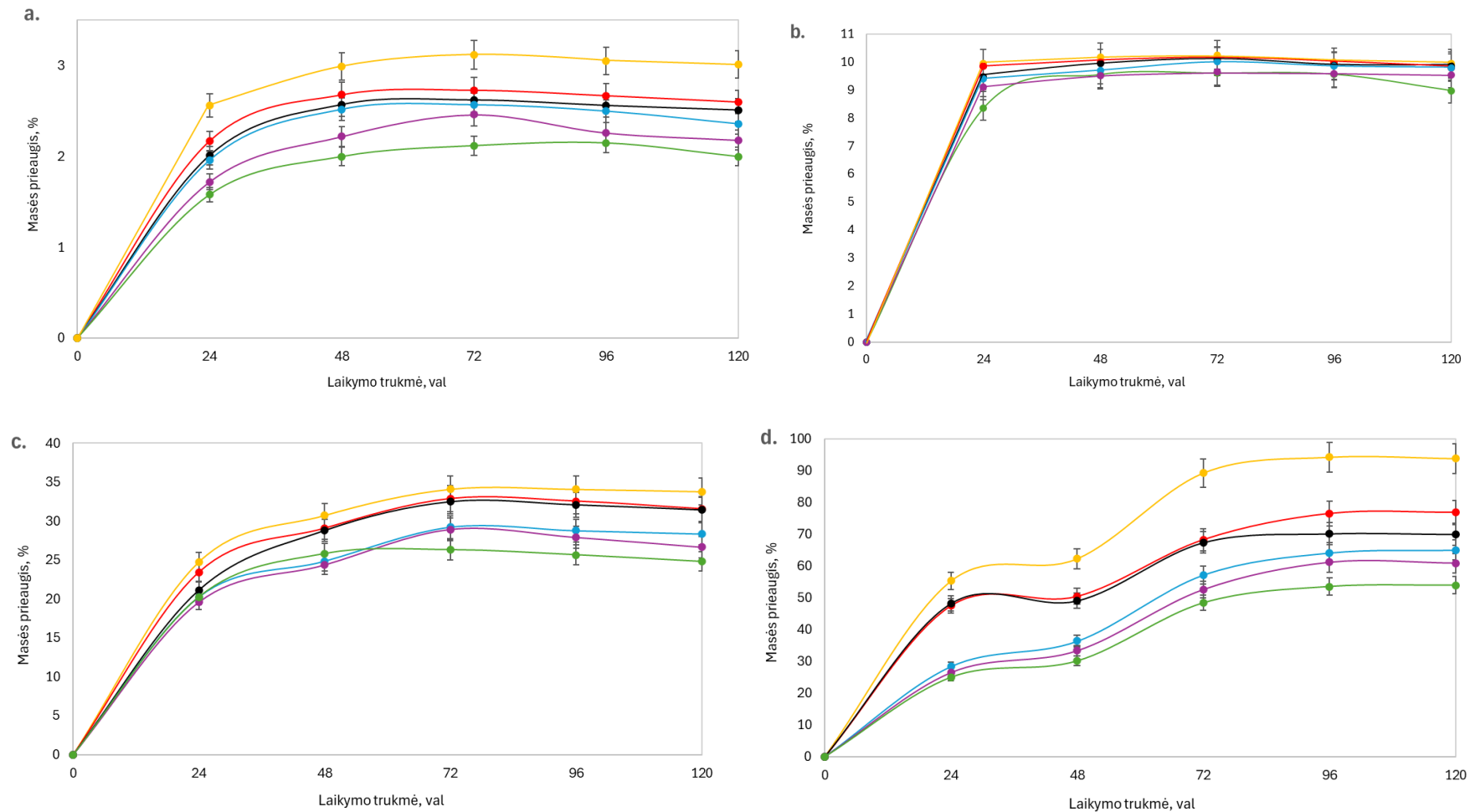
113. KAŠKOKIENĖ V., MARUŠKA A., AKUNECA I., STANKEVIČIUS M., et al., Screening of antioxidant activity and volatile compounds composition of *Chamerion angustifolium* (L.) Holub ecotypes grown in Lithuania, *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 2015, 1-9, doi:10.1080/14786419.2015.1058792
114. FATHI H., EBRAHIMZADEH M. A., Antioxidant and free radical scavenging activities of *Hypericum perforatum* L. (st. John's wort), *Int. J. Forest, Soil and Erosion*, 2013 3(2): 68-72 ISSN 2251-6387
115. „DELTA Industrial Packaging“. Prieiga per internetą: <https://www.deltacontainers.com/product-catalog/stainless-steel-containers/1000-litre-stainless-steel-tank-central-drain/>
116. „GPI Degouwe“. Prieiga per internetą: <https://gpi-degouwe.com/products/mixing-tank/>
117. „VERDER“. Prieiga per internetą: <https://www.verderliquids.com/us/en/packo/packo-zlc-centrifugal-pumps?view=comparator>
118. „Filpro“. Prieiga per internetą: <http://filpro-lb.com/bag-housings/>
119. „Eaton“. Prieiga per internetą: <https://www.eaton.com/content/dam/eaton/products/filtration-solutions/filter-media/filter-bags/hayflow/Eaton-HAYFLOW-filter-elements-TechnicalDataSheet-EN-LowRes.pdf>
120. „Ossila“. Prieiga per internetą: <https://www.ossila.com/products/automatic-film-applicator>
121. „MTI Corporation“. Prieiga per internetą: <https://mtixtl.com/products/dip-coater-1-200-mm-min-with-124-l-temperature-chamber-for-substrate-up-to-16x-9-ptl-mmb02-200>
122. „Vevor“. Prieiga per internetą: https://eur.vevor.com/hot-cold-pouch-laminating-machine-c_10896/39-cold-laminator-manual-roll-laminator-vinyl-photo-film-laminating-machine-p_010382716541?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_id=20886793593&ad_group=162835863771&ad_id=685819026368&utm_term=&gad_source=1&gad_campaignid=20886793593&gbraid=0AAAAABnvVA5j6Edt3DYdUKxztJAwsdBt4&gclid=Cj0KCQjw_8rBBhCFARIsAJrc9yAQGgXm6JN-HS60E9bDCtWLXBkd16ch5jm_6q1Es758GH415jNtvdAaApt5EALw_wcB
123. „Yunhan“. Prieiga per internetą: <https://www.yuanhanequip.com/product/sheet-cutting-slitting-machine-yh-1200s-fq.html>
124. „HARPAK ULMA“. Prieiga per internetą: <https://www.harpak-ulma.com/thermoform-medical/>
125. LIETUVOS RESPUBLIKOS SOCIALINĖS APSAUGOS IR DARBO MINISTRO IR LIETUVOS RESPUBLIKOS SVEIKATOS APSAUGOS MINISTRO ĮSAKYMAS DĖL PROFESINĖS RIZIKOS VERTINIMO BENDRŲJŲ NUOSTATŲ PATVIRTINIMO Nr. A1-457/V-961. Prieiga per internetą: <https://e-seimas.lrs.lt/portal/legalAct/lt/TAD/TAIS.435935?jfwid=>
126. Sigma-Aldrich, SAUGOS DUOMENŲ LAPAS, pagal Reglamentą (EB) Nr. 1907/2006, Sieros rūgštis, CAS Nr. 7664-93-9. Prieiga per internetą: <https://www.sigmaaldrich.com/LT/lt/sds/aldrich/339741?userType=anonymous>
127. 2008 M. GRUODŽIO 16 D. EUROPOS PARLAMENTO IR TARYBOS REGLAMENTAS (EB) NR. 1272/2008 DĖL CHEMINIŲ MEDŽIAGŲ IR MIŠINIŲ KLASIFIKAVIMO, ŽENKLINIMO IR PAKAVIMO, IŠ DALIES KEIČIANTIS IR PANAIGINANTIS DIREKTYVAS 67/548/EEB BEI 1999/45/EB IR IŠ DALIES KEIČIANTIS REGLAMENTĄ (EB) NR. 1907/2006. Prieiga per internetą: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/LT/TXT/?uri=CELEX:32008R1272>

128. Sigma-Aldrich, SAUGOS DUOMENŲ LAPAS, pagal Reglamentą (EB) Nr. 1907/2006, Natrio dichromatas, CAS Nr. 7789-12-0. Prieiga per internetą: <https://www.sigmaaldrich.com/LT/lt/sds/mm/1.06336?userType=anonymous>
129. Sigma-Aldrich, SAUGOS DUOMENŲ LAPAS, pagal Reglamentą (EB) Nr. 1907/2006, Polietilenglikolis, CAS Nr. 25322-68-3. Prieiga per internetą: <https://www.sigmaaldrich.com/LT/lt/sds/mm/8.17018?userType=anonymous>
130. Sigma-Aldrich, SAUGOS DUOMENŲ LAPAS, pagal Reglamentą (EB) Nr. 1907/2006, Glicerolis, CAS Nr. 56-81-5. Prieiga per internetą: <https://www.sigmaaldrich.com/LT/lt/sds/sial/g6279?userType=anonymous>
131. GUINAMA, SAUGOS DUOMENŲ LAPAS, pagal Reglamentą (EU) Nr. 2020/878, 9922-Euxyl pe 9010. Prieiga per internetą: https://www.guinama.com/documentacion-tecnica/9922_FDS-Euxyl-pe-9010-EN-Laboratorios-GUINAMA.pdf
132. LIETUVOS RESPUBLIKOS SVEIKATOS APSAUGOS MINISTRO IR LIETUVOS RESPUBLIKOS SOCIALINĖS APSAUGOS IR DARBO MINISTRO ĮSAKYMAS DĖL LIETUVOS HIGIENOS NORMOS HN 23:2011 „*CHEMINIŲ MEDŽIAGŲ PROFESINIO POVEIKIO RIBINIAI DYDŽIAI. MATAVIMO IR POVEIKIO VERTINIMO BENDRIEJI REIKALAVIMAI*“ PATVIRTINIMO, Nr. V-824/A1-389. Prieiga per internetą: <https://e-seimas.lrs.lt/portal/legalAct/lt/TAD/TAIS.405920>
133. LIETUVOS RESPUBLIKOS SVEIKATOS APSAUGOS MINISTRAS ĮSAKYMAS DĖL LIETUVOS HIGIENOS NORMOS HN 98:2014 „*NATŪRALUS IR DIRBTINIS DARBO VIETŲ APŠVIETIMAS. APŠVIETOS MAŽIAUSIOS RIBINĖS VERTĖS IR BENDRIEJI MATAVIMO REIKALAVIMAI*“ PATVIRTINIMO, Nr. 277. Prieiga per internetą: <https://e-seimas.lrs.lt/portal/legalAct/lt/TAD/TAIS.101854/asr>
134. LIETUVOS RESPUBLIKOS SOCIALINĖS APSAUGOS IR DARBO MINISTRAS IR LIETUVOS RESPUBLIKOS SVEIKATOS APSAUGOS MINISTRAS ĮSAKYMAS DĖL DARBUOTOJŲ APSAUGOS NUO TRIUKŠMO KELIAMOS RIZIKOS NUOSTATŲ PATVIRTINIMO, Nr. A1-103/V-265. Prieiga per internetą: <https://e-seimas.lrs.lt/portal/legalAct/lt/TAD/TAIS.254877/asr>
135. LIETUVOS RESPUBLIKOS SOCIALINĖS APSAUGOS IR DARBO MINISTRO IR LIETUVOS RESPUBLIKOS SVEIKATOS APSAUGOS MINISTRO ĮSAKYMAS DĖL DARBUOTOJŲ APSAUGOS NUO VIBRACIJOS KELIAMOS RIZIKOS NUOSTATŲ PATVIRTINIMO, Nr. A1-55/V-91. Prieiga per internetą: <https://e-seimas.lrs.lt/portal/legalAct/lt/TAD/TAIS.228686/asr>
136. PRIEŠGAISRINĖS APSAUGOS IR GELBĖJIMO DEPARTAMENTO PRIE VIDAUS REIKALŲ MINISTERIJOS DIREKTORIUS ĮSAKYMAS DĖL BENDRŲJŲ GAISRINĖS SAUGOS TAISYKLIŲ PATVIRTINIMO Nr. 64. Prieiga per internetą: <https://e-seimas.lrs.lt/portal/legalAct/lt/TAD/TAIS.250714/asr>

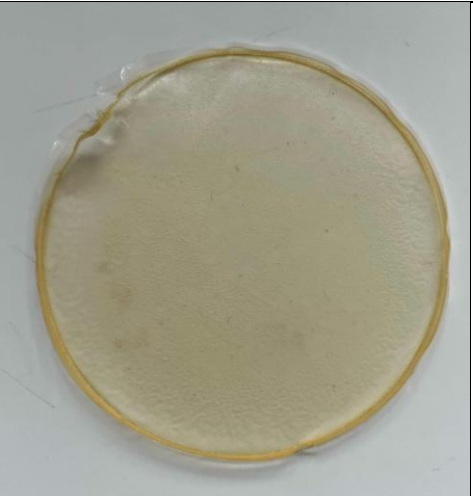
Priedai

1 priedas. Plėvelių drėgmės sorbcijos skirtinguose santykinuose drėgniuose priklausomybė nuo baltymų ir plastifikatoriaus PEG 20000 santykio.

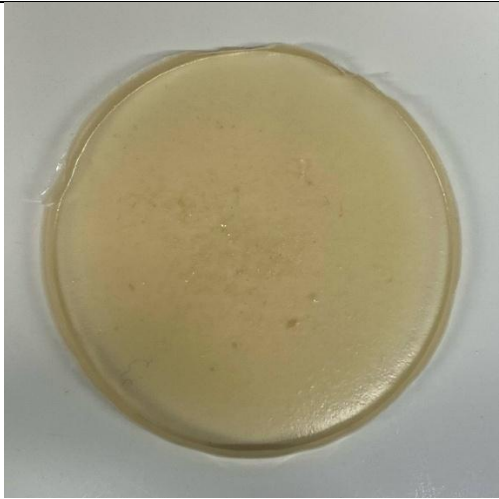
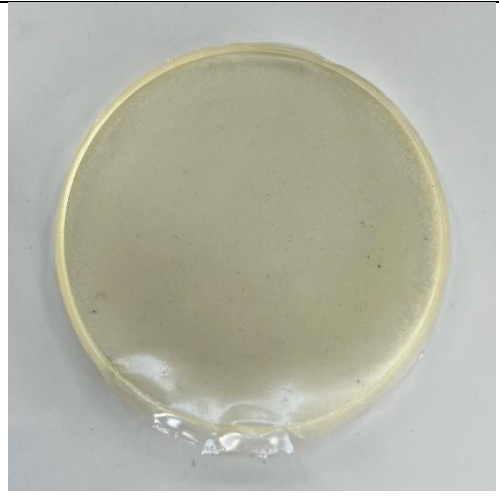
● – 2:1, ● – 4:3, ● – 1:1, ● – 4:5, ● – 2:3, ● – 4:7
a – s.o.d. 25 %, b – s.o.d. 50 %, c – 75 %, d – 100 %



2 priedas. Plėvelių, plastifikuotų su PEG 20000 plastifikatoriumi išvaizdos. Baltymai : Plastifikatorius

			
4:1	2:1	4:3	1:1
			
4:5	2:3	4:7	1:2

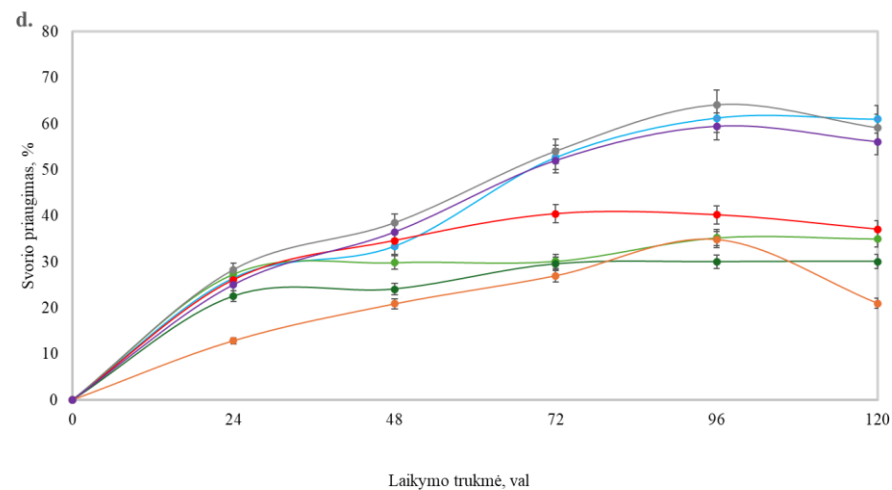
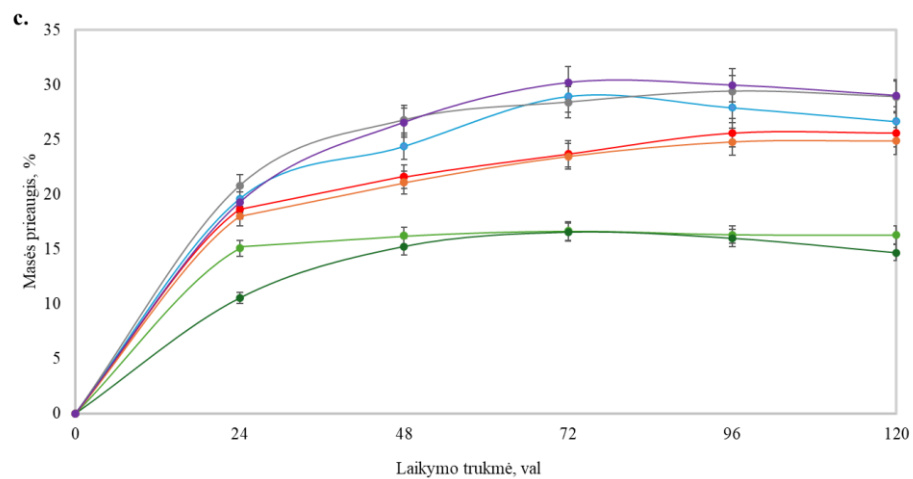
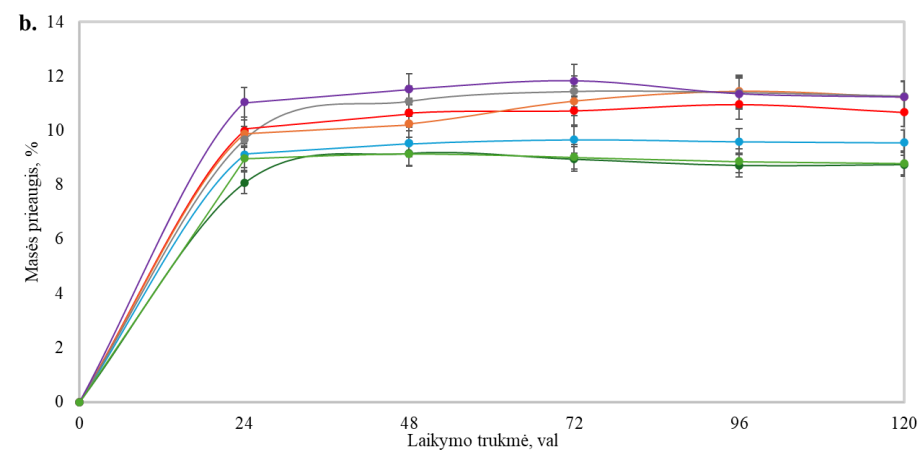
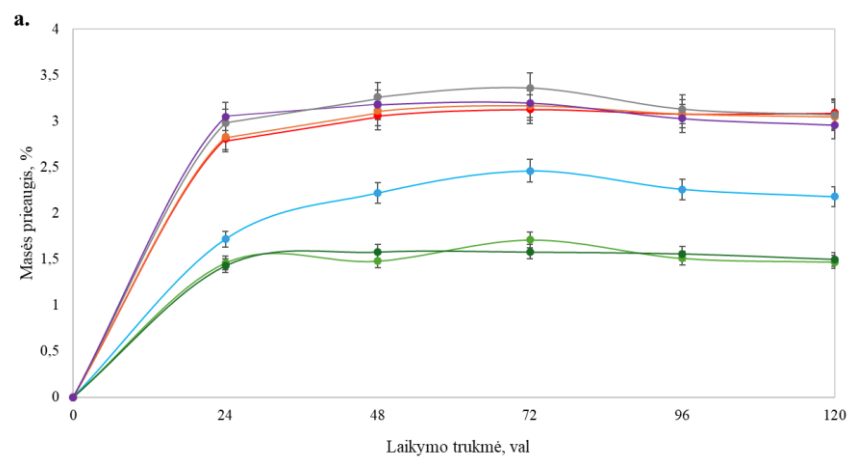
3 priedas. Baltyminių ir PEG plėvelių su bioaktyviomis medžiagomis išvaizdos

	
Su triazolu 7-20 2 %	Su triazolu 7-20 5 %
	
Su Euxyl® 9010 PE 1 %	Su Euxyl® 9010 PE 1,5 %
	
Su jonažolių ekstraktyvu 5 %	Su gauromečio ekstraktyvu 5 %

4 priedas. Sorbuotos plėvelės drėgmės kiekio priklausomybė nuo plėvelės laikymo trukmės

a – s.o.d. 25 %, b – s.o.d. 50 %, c – 75 %, d – 100 %

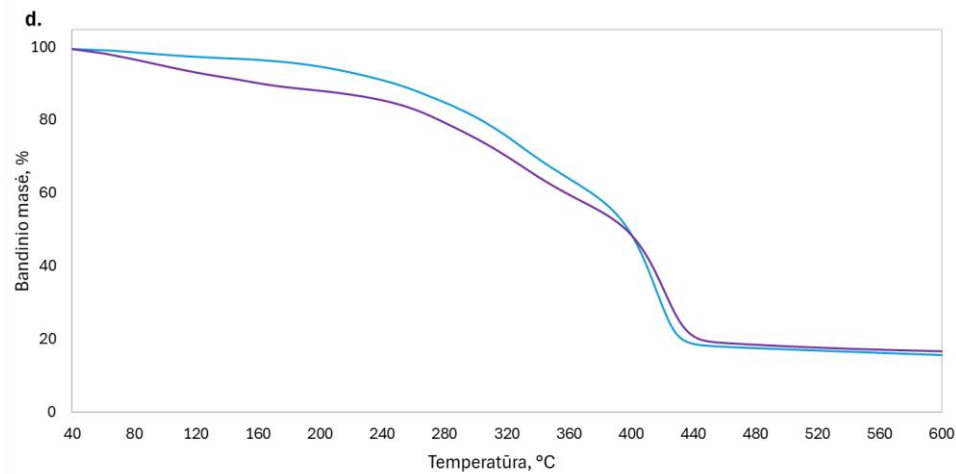
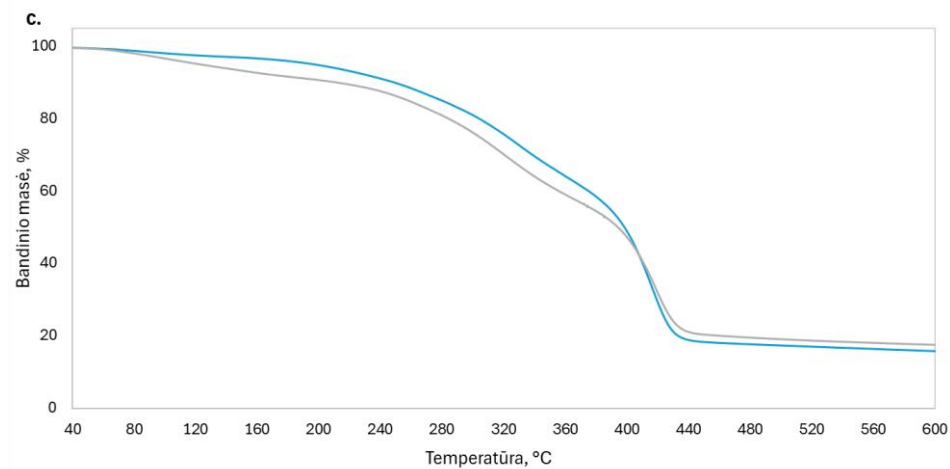
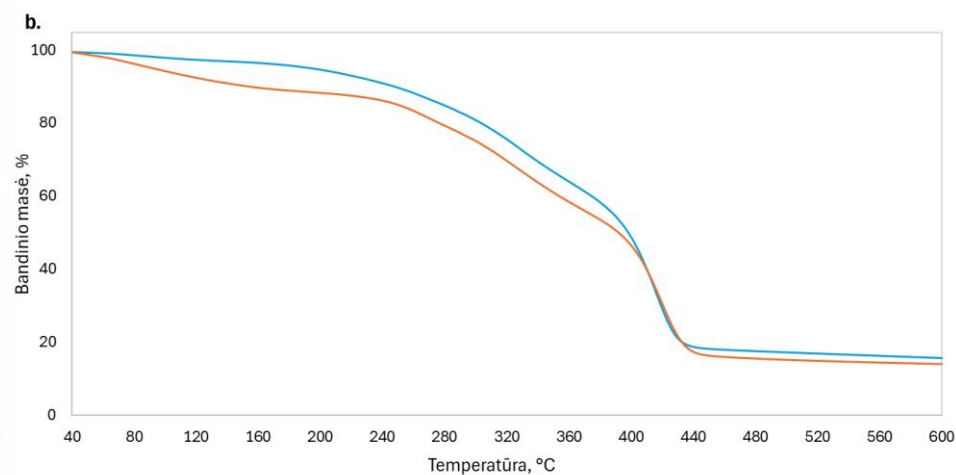
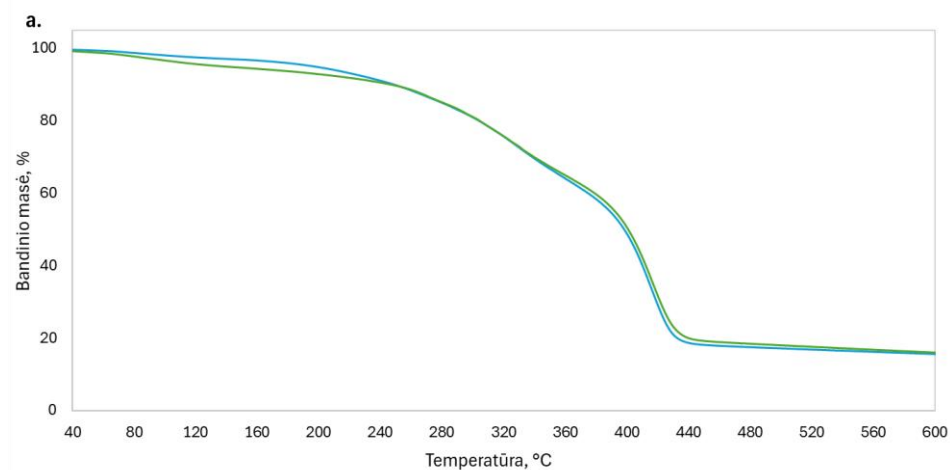
● – Kontrolinis bandinys, ● – Triazolas 7–20 2 %, ● – Triazolas 7–20 5 %, ● – Euxyl® 9010 PE 1 %,
● – Euxyl® 9010 PE 1,5 %, ● – Gauromėčio ekstraktas 5 %, ● – Jonažolių ekstraktas 5 %.



5 priedas. Plėvelių termogravimetrinės kreivės

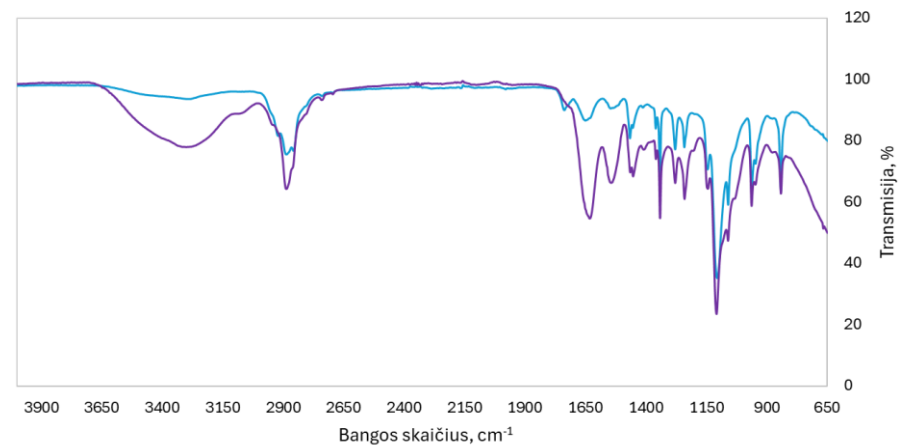
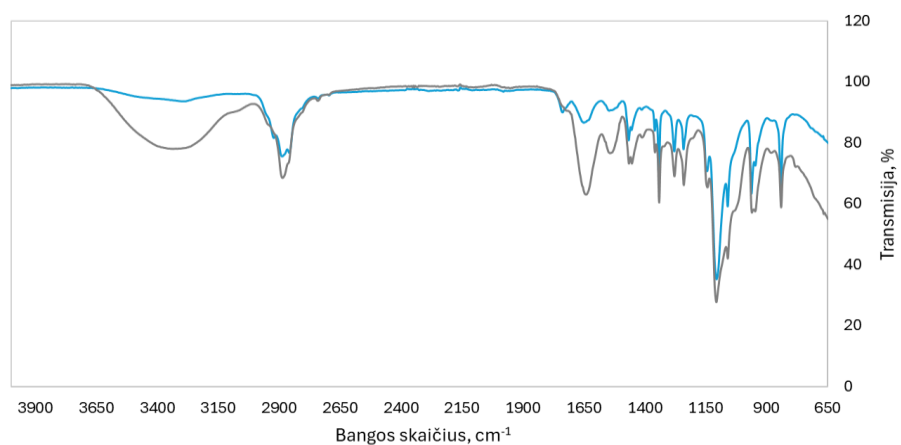
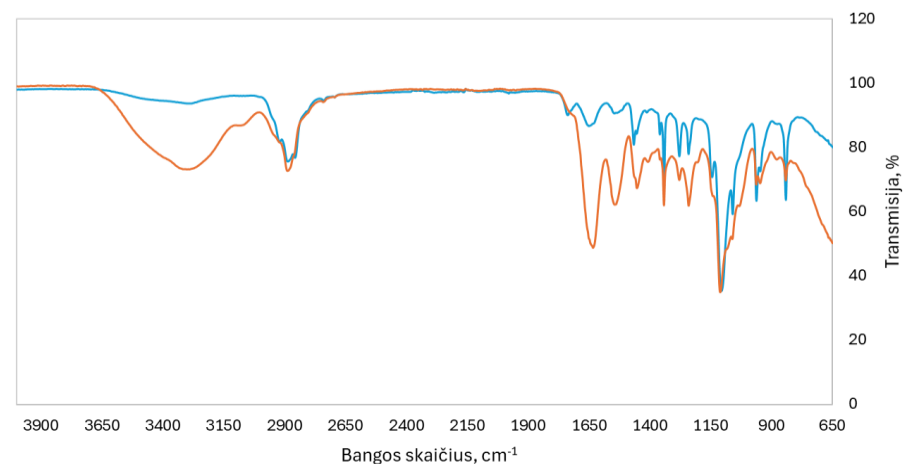
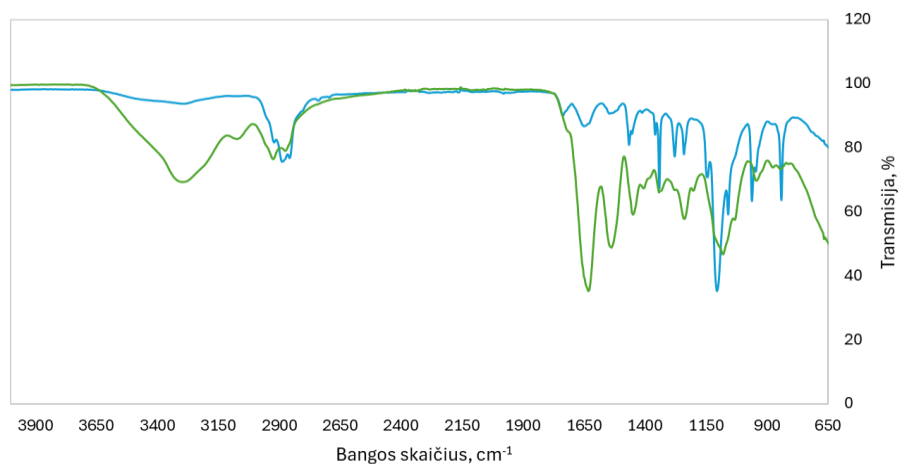
a – kontrolinė plėvelė ir plėvelė su triazolu , b – kontrolinė plėvelė ir plėvelė su Euxyl® 9010 PE,
c – kontrolinė plėvelė ir plėvelė su jonažolių ekstraktyvu, d – kontrolinė plėvelė ir plėvelė su gauromečio ekstraktyvu

● – Kontrolinis bandinys, ● – Triazolas 7–20 2 %, ● – Triazolas 7–20 5 % , ● – Euxyl® 9010 PE 1 % ,
● – Euxyl® 9010 PE 1,5 % , ● – Gauromečio ekstraktyvas 5 % , ● – Jonažolių ekstraktyvas 5 %.

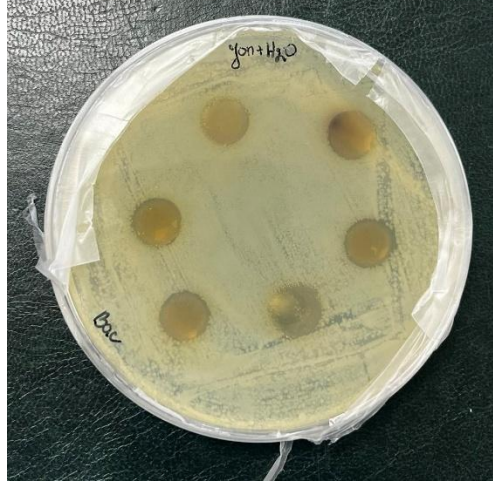


6 priedas. Plėvelių su skirtingomis bioaktyviosiomis medžiagomis FTIR spektrai

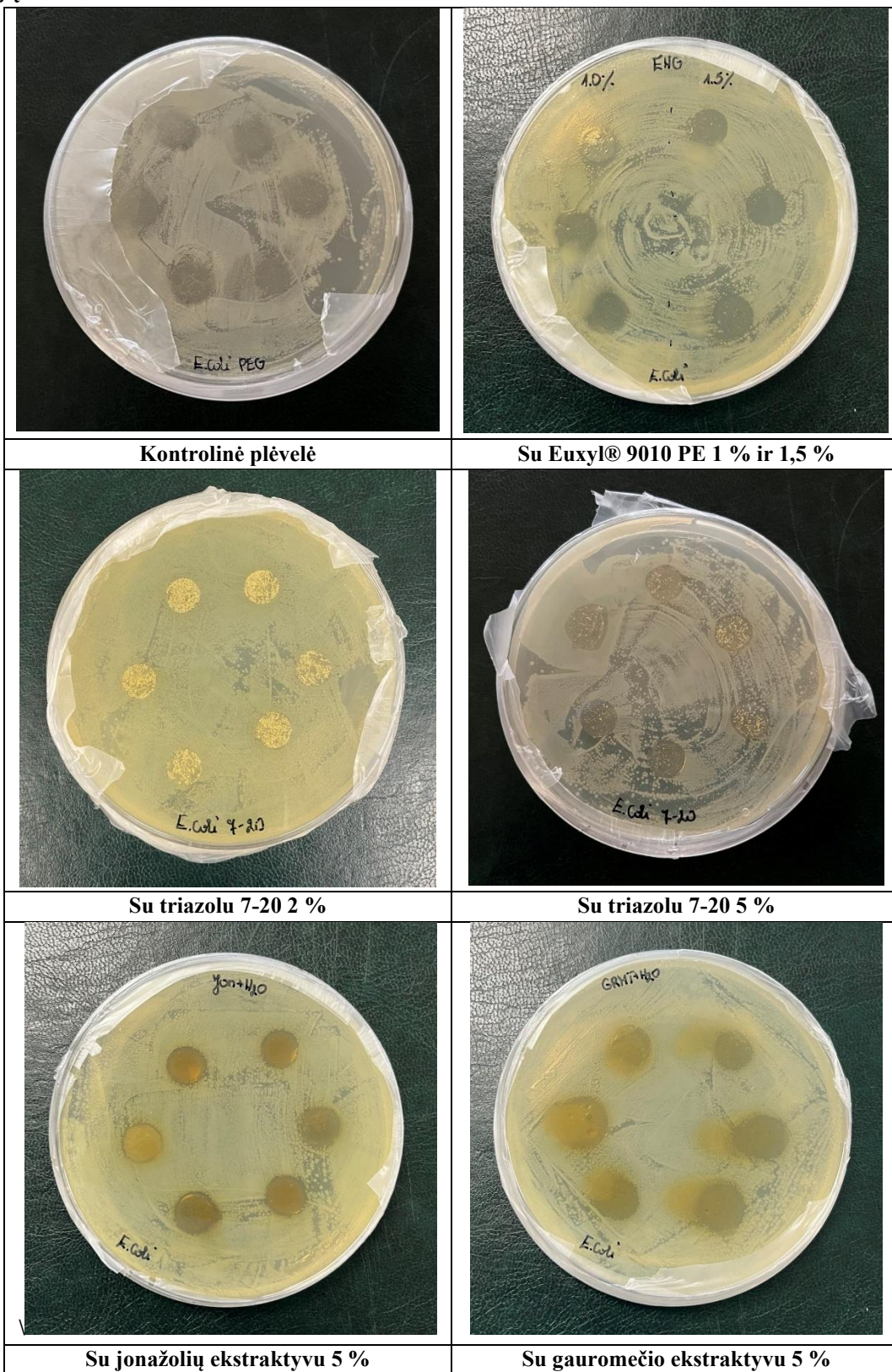
- a – kontrolinė plėvelė ir plėvelė su triazolu, b – kontrolinė plėvelė ir plėvelė su Euxyl® 9010 PE,
c – kontrolinė plėvelė ir plėvelė su jonažolių ekstraktu, d – kontrolinė plėvelė ir plėvelė su gauromečio ekstraktu
- – Kontrolinis bandinys, ● – Triazolas 7–20 2 %, ● – Triazolas 7–20 5 %, ● – Euxyl® 9010 PE 1 %,
● – Euxyl® 9010 PE 1,5 %, ● – Gauromečio ekstraktas 5 %, ● – Jonažolių ekstraktas 5 %.



**7 priedas. Plėvelių su bioaktyviomis medžiagomis antibakterinių savybių tyrimo nuotraukos.
Bakterijų kultūra: *Bacillus Subtilis***

	
Kontrolinė plėvelė	Su Euxyl® 9010 PE 1 % ir 1,5 %
	
Su triazolu 7-20 2 %	Su triazolu 7-20 5 %
	
Su jonažolių ekstraktyvu 5 %	Su gauromečio ekstraktyvu 5 %

8 priedas. Plėvelių su bioaktyviomis medžiagomis antibakterinių savybių tyrimo nuotraukos.
Bakterijų kultūra: *E. Coli*



9 priedas. Fizikinių veiksnių sukeltų pavojų, galinčių pakenkti sveikatai, identifikavimas

Tipinių veiksnių, galinčių kelti pavojų profesinei saugai ir sveikatai, sąrašas	Veiksnių pasireiškimo charakteristikos, atsižvelgiant į nustatytą poveikį ar pavojų *	Ar buvo nustatytas poveikis ar pavojus		Ar būtinos prevencinės priemonės	
		Ne	Taip	Ne	Taip
Darbo vietos šiluminė aplinka (patalpų mikroklimatas)	Laboratorijoje turi būti įrengiamas kondicionierius, palaikantis pastovią temperatūrą.	Ne		Ne	
Darbo vietos apšvietimas	Yra tiek natūralus apšvietimas, tiek apšvietimo sistema. Pagal HN 98:2000 [133], darbas laboratorijoje priklauso III darbų kategorijai, apšvietos mažiausia ribinė vertė yra 500 lx, natūralaus apšvietim NAK ribinė vertė yra 4 %.	Ne		Ne	
Triukšmas	Remiantis Darbuotojų apsaugos nuo triukšmo keliamos rizikos nuostatais, žemutinis triukšmo ekspozicijos vertė ir garso slėgis lygus: $L_{EX, 8h} = 80$ dB(A) ir atitinkamai $p_{peak} = 112$ Pa (135 dB (C), kai pamatinis slėgis 20μPa) [134]. Kadangi triukšmo lygis nesiekia šiuose nuostatuose nustatytų ribinių verčių, dėvėti apsaugos priemonių naudojantis prietaisais laboratorijoje nereikia.	Ne		Ne	
Vibracija, darbas su vibruojančiais įrankiais, vibraciją keliančios mašinos	Darbo metu nenaudojami didelės vibracijos sukeliančių prietaisų. Remiantis Darbuotojų apsaugos nuo vibracijos keliamos rizikos nuostatais [135], kasdienė visą kūną veikiančios vibracijos ribinė vertė neturi viršyti 1,15 m/s ² , o kasdienio veikimo vertė neturi viršyti 0,5 m/s ² (paskaičiuota 8 valandų darbo laiko trukmei).	Ne		Ne	
Jonizuojantis spinduliavimas	Darbo metu nesusiduriama su radiacijos pavojumi.	Ne		Ne	
Infragarsas	Darbo metu nesusiduriama su infragarso pavojumi.	Ne		Ne	
Ultragarasas	Darbo metu nesusiduriama su ultragarso pavojumi.	Ne		Ne	
Elektrostatinis laukas	Darbo metu nesusiduriama su elektrostatiniu lauku.	Ne		Ne	
Elektromagnetinis laukas	Darbo metu nesusiduriama su elektromagnetiniu lauku.	Ne		Ne	
Infraraudonasis spinduliavimas	Darbo metu yra atliekamas FTIR tyrimas, tačiau laikantis standartinių saugos reikalavimų, nėra susiduriama su infraraudonojo spinduliavimu.		Taip		Taip – darbų saugos instruktažas
Ultravioletinis spinduliavimas	Darbo metu yra atliekamas tyrimas su UV spektrofotometru, tačiau laikantis standartinių saugos reikalavimų, nėra susiduriama su ultravioletiniu spinduliavimu.		Taip		Taip – darbų saugos instruktažas

10 priedas. Fizinį veiksmų sukeltų pavojų, galinčių pakenkti sveikatai, identifikavimas

Tipinių veiksmų, galinčių kelti pavojų profesinei saugai ir sveikatai, sąrašas	Veiksnių pasireiškimo charakteristikos, atsižvelgiant į nustatytą poveikį ar pavojų *	Ar buvo nustatytas poveikis ar pavojus		Ar būtinos prevencinės priemonės	
		Ne	Taip	Ne	Taip
Besisukančios ar judamos mašinų dalys	Darbo metu naudojami prietaisai: 1. Inkubatorinis kratytuvas su kontroliuojama temperatūra <i>IKA KS 4000 ic control</i> – mašina pradeda veikti tada, kai yra uždaromas dangtis, atidarius dangtį, judėjimas iš karto sustoja. 2. Rankinis presavimo aparatas – aparate nėra jokių apsaugų, kurios neleistų susižeisti. Kyla pavojus prispausti pirštus. 3. Tempimo mašina (<i>Zwick/Roell</i>) – mašinoje įrengtas avarinis STOP mygtukas, kuris sustabdo eksperimentą nelaimingo atsitikimo atveju.		Taip		Taip – naudoti apsaugines pirštines
Pjovimo įrankiai (rankiniai ir mechaniniai)	Naudojamas peiliukas ir mėginių formelės, skirtos išpjauti vienodo dydžio mėginius. Ruošiant mėginius atsiranda tikimybė įsijauti.		Taip		Taip – naudoti apsaugines pirštines
Transportavimo įranga, kranai, liftai	Darbo metu nesusiduriama su transportavimo įranga.	Ne		Ne	
Transporto keliai, pastoliai, kopėčios	Darbo vietoje negresia pavojus nukristi.	Ne		Ne	
Karštos medžiagos ir/ar paviršiai	Darbo vietoje naudojama: 1. Krosnis – temperatūra keliama daugiausiai iki 110 °C. Kyla rizika nusideginti. 2. Inkubatorinis kratytuvas su kontroliuojama temperatūra <i>IKA KS 4000 ic control</i> – temperatūra keliama daugiausiai iki 70 °C. Kyla rizika nusideginti. 3. TGA tyrimo prietaisas <i>STA PT-1000 LINSEIS</i> – temperatūra keliama daugiausiai iki 603 °C. Kyla rizika nusideginti.		Taip		Taip – naudoti apsaugines pirštines
Medžiagų išmetimas (pvz., plastinių medžiagų liejimo metu), ruošinių išmetimas	Darbo metu susidarantys kenksmingi garai ir dujos yra nukreipiamos į traukos spintą, atliekant bandymus su kenksmingomis medžiagomis dėvimos pirštinės, apsauginiai akiniai. Medžiagų atliekos kaupiamos specialiaame surinkimo konteineryje.	Ne		Ne	
Slėginiai indai	Darbo metu nėra naudojami slėginiai indai.	Ne		Ne	
Elektros įtampa	Darbo metu nėra elektros įtampos pavojaus, prietaisai tinkamai įžeminti.	Ne		Ne	
Darbo vietos priešgaisrinis parengimas	Įrengti evakuaciniai išėjimai. Remiantis Bendrosiomis gaisrinės saugos taisyklėmis [136], evakuaciniai keliai ir išėjimai turi būti neužkrauti, durys turi lengvai atsidaryti iš vidaus. Pagrindinis evakuacijos kelias žmonių evakuacijos plane turi būti pažymėtas ištisine linija, atsarginis – punktyru. Patalpoje yra gesintuvas, jis yra užplombuotas. Gesintuvo korpusas turi būti nudažytas raudonai, jo ženklavimas turi atitikti LST P 1447:1997 standartą. Gesintuvas laikomas lengvai prieinamoje ir matomoje vietoje.	Ne		Ne	

11 priedas. Cheminių veiksmų sukeltų pavojų, galinčių pakenkti sveikatai, identifikavimas

Tipinių veiksmų, galinčių kelti pavojų profesinei saugai ir sveikatai, sąrašas	Veiksnių pasireiškimo charakteristikos, atsižvelgiant į nustatytą poveikį ar pavojų *	Ar buvo nustatytas poveikis ar pavojus		Ar būtinos prevencinės priemonės	
		Ne	Taip	Ne	Taip
Naudojamos bei procese išskiriamos kenksmingos medžiagos, kurių trumpalaikis poveikis labai kenksmingas, sukelia ūmius arba lėtinius profesinius susirgimus	Darbo vietoje naudojamos medžiagos: Dimetilsulfoksidas – trumpalaikio poveikio ribinis dydis 500 mg/m ³ , 150 ppm; Koncentruota sieros rūgštis – trumpalaikio poveikio ribinis dydis 3 mg/m ³ ; Natrio dichromatas – trumpalaikio poveikio ribinis dydis 0,015 mg/m ³ ; Etanolis – trumpalaikio poveikio ribinis dydis 1900 mg/m ³ , 1000 ppm.	Ne		Ne	
Naudojamos bei procese išskiriamos kenksmingos medžiagos, kurių ilgalaikis poveikis sukelia ūmius arba lėtinius profesinius susirgimus	Darbo vietoje nėra išskiriamos kenksmingos medžiagos, kurių ilgalaikis poveikis sukelia ūmius arba lėtinius profesinius susirgimus.	Ne		Ne	
Cheminės medžiagos, sukeliančios sprogimo, gaisro pavojų	Darbo vietoje naudojamos cheminės medžiagos, kurios gali sukelti sprogimą ar gaisro pavojų (pavyzdžiui, etanolis, DPPH). Kai žaliavos yra degios ar sprogios, jos yra laikomos toli nuo atviros ugnies šaltinių, vėsioje, sausoje vietoje, remiantis Lietuvos Higienos norma HN 23:2011 [132].	Ne		Ne	
Dulkės	Darbo vietoje nėra didelės dulkių koncentracijos, tačiau ji gali padidėti grūstuvėje disperguojant triazolo miltelius.		Taip		Taip – naudoti apsauginę kaukę disperguojant triazolo miltelius
Kelių vienos krypties cheminių medžiagų poveikis	Darbo vietoje neveikia kelių vienos krypties cheminių medžiagų poveikis.	Ne		Ne	

12 priedas. Biologinių veiksnių sukeltų pavojų, galinčių pakenkti sveikatai, identifikavimas

Tipinių veiksnių, galinčių kelti pavojų profesinei saugai ir sveikatai, sąrašas	Veiksnių pasireiškimo charakteristikos, atsižvelgiant į nustatytą poveikį ar pavojų *	Ar buvo nustatytas poveikis ar pavojus		Ar būtinos prevencinės priemonės	
		Ne	Taip	Ne	Taip
Mikroorganizmai	Darbo vietoje naudojamos dviejų tipų bakterijų suspensijos: <i>E. Coli</i> ir <i>Bacillus Subtilis</i> . Gali susidaryti įkvėpimo pavojus pipetuojant.		Taip		Taip – naudoti biologinio saugumo spintą, atliekant skiedimus ir bandymus su bakterijomis
Baltyminiai preparatai	Darbo vietoje nėra susiduriama su baltyminių preparatų pavojumi.	Ne		Ne	
Natūralūs organizmo komponentai (amino rūgštys, vitaminai)	Darbo vietoje nėra susiduriama su natūralių organizmo komponentų pavojumi.	Ne		Ne	

13 priedas. Ergonominių ir psichosocialinių veiksnių sukeltų pavojų, galinčių pakenkti sveikatai, identifikavimas

Tipinių veiksnių, galinčių kelti pavojų profesinei saugai ir sveikatai, sąrašas	Veiksnių pasireiškimo charakteristikos, atsižvelgiant į nustatytą poveikį ar pavojų *	Ar buvo nustatytas poveikis ar pavojus		Ar būtinos prevencinės priemonės	
		Ne	Taip	Ne	Taip
Darbo sunkumas (Dinaminis darbas)	Darbo metu nėra sunkių krovinių, todėl pavojaus nėra.	Ne		Ne	
Darbo sunkumas (Statinis darbas)	Darbo metu nėra sunkių krovinių, todėl pavojaus nėra.	Ne		Ne	
Valdymo įrangos išdėstymas nuolatinėje darbo vietoje	Darbo vieta yra įrengta tinkamai, viskas yra išdėstyta pasiekiamose ir prieinamose vietose.	Ne		Ne	
Pastangų dydis, judinant valdymo įrangą	Darbo vietoje nėra sudėtingai ar sunkiai valdomos įrangos.	Ne		Ne	
Darbo poza	Darbo poza nuolat keičiasi, yra tiek sėdimos, tiek stovimos, pavojaus nėra.	Ne		Ne	
Judėjimo atstumas darbo aplinkoje	Judėjimo atstumas darbo aplinkoje, kuri neviršija 4 km per dieną, laikomas nekenksmingu optimaliu, o kai siekia iki 6 km (moteriai) laikomas nekenksmingu normaliu. Darbo judėjimo atstumas neviršija 4 km, todėl yra laikomas nekenksmingu.	Ne		Ne	
Darbo įtampa (dėmesys)	Kai per valandą vienu metu stebimų darbo proceso objektų skaičius neviršija 5, laikoma, kad darbo sąlygos yra nekenksmingos optimalios, kai siekia iki 10 – nekenksmingos normalios. Darbo vietoje objektų skaičius vienu metu neviršija 10, todėl darbo sąlygos yra nekenksmingos.	Ne		Ne	
Darbo įtampa (Regos ir klausos analizatoriai)	Darbo vietoje nėra patiriama regos ir klausos darbo įtampa.	Ne		Ne	
Darbo emocinė įtampa	Darbo metu nėra jaučiama didelė emocinė įtampa.	Ne		Ne	
Darbo monotonija	Aplinką galima laikyti nekenksminga normalia, kadangi atliekant vieną tyrimą, yra 4–10 besikartojančių elementų, todėl pavojaus rizika nekyla.	Ne		Ne	
Darbas izoliuotoje vietoje (kai darbuotojas dirba vienas arba izoliuotoje patalpoje)	Laboratorijose dirba ir kitų žmonių, todėl darbas nėra izoliuotoje vietoje.	Ne		Ne	
Jaunų darbininkų, nėščių moterų, neįgalių asmenų darbas	Visi darbuotojai yra apmokyti, suteikiamos darbo saugos taisyklės	Ne		Ne	
Darbo patalpų dydis, dizainas	Laboratorijos įrengtos tvarkingai, su reikiamomis priemonėmis ir prietaisais, viskas yra lengvai prieinama.	Ne		Ne	