

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

VESTA NAVIKAITĖ-ŠNIPAITIENĖ

ANTOCIANINŲ IR ETERINIŲ ALIEJŲ
VEIKLIŲJŲ SAVYBIŲ IŠSAUGOJIMAS
IMOBILIZUOJANT JUOS ANIJONINIUOSE
POLISACHARIDUOSE

Daktaro disertacija
Technologijos mokslai, chemijos inžinerija (05T)

2017, Kaunas

Disertacija rengta 2013–2017 metais Kauno technologijos universiteto (KTU) Cheminės technologijos fakulteto Polimerų chemijos ir technologijos katedroje. Mokslinius tyrimus rėmė Lietuvos mokslo taryba. Dalis tyrimų atlikta stažuojantis Ciuricho taikomųjų mokslų universitete (*Zurich University of Applied Sciences, ZHAW*) Šveicarijoje ir gavus Šveicarijos stipendijų fondo (*Sciex-NMS^{ch}*) paramą. Antocianinų tyrimai efektyviosios skysčių chromatografijos metodu atlikti Lietuvos sveikatos mokslų universitete (LSMU), vykdant bendrus KTU ir LSMU mokslininkų grupių projektus.

Mokslinė vadovė:

Doc. dr. Rima Klimavičiūtė (Kauno technologijos universitetas, technologijos mokslai, chemijos inžinerija, 05T).

Mokslinė konsultantė:

Doc. dr. Ramunė Rutkaitė (Kauno technologijos universitetas, technologijos mokslai, chemijos inžinerija, 05T).

Interneto svetainės, kurioje skelbiama disertacija, adresas:

<http://ktu.edu>

Redagavo:

Inga Nanartonytė (leidykla „Technologija“)

© V. Navikaitė-Šnipaitienė, 2017

ISBN 978-609-02-1394-0

Leidinio bibliografinė informacija pateikiama Lietuvos nacionalinės Martyno Mažvydo bibliotekos Nacionalinės bibliografijos duomenų banke (NBDB)

TURINYS

SANTRUMPOS	5
ĮVADAS	6
1. LITERATŪROS APŽVALGA	9
1.1. Gamtinės biologiškai aktyvios medžiagos	9
1.1.1. Antocianinų sandara ir stabilumas	9
1.1.1.1. Antocianinų stabilizavimo būdai	11
1.1.2. Eterinių aliejų sandara ir savybės	14
1.2. Sulfatograpių turintys polisacharidai ir jų kompleksai	18
1.2.1. Karageninai ir jų naudojimas kompleksams sudaryti	18
1.2.1.1. Karageninų polielektrolitų kompleksai su kitais polimerais	19
1.2.1.2. Karageninų kompleksai su mažamolekuliais junginiais	21
1.2.2. Dekstrano sulfatas ir jo naudojimas kompleksams sudaryti	23
1.3. Veikliųjų pakuočių kūrimas ir naudojimas	27
1.4. Darbo tikslo pagrindimas	30
2. NAUDOTOS MEDŽIAGOS IR EKSPERIMENTŲ METODIKOS	32
2.1. Naudotos medžiagos	32
2.2. Eksperimentų metodikos	33
2.2.1. Vandeninio mėlynių uogų ekstrakto paruošimas	33
2.2.2. Antocianinų koncentracijos nustatymas	33
2.2.3. Fenolinių junginių kiekio nustatymas	34
2.2.4. Antocianinų ir anijoninių polisacharidų kompleksų gavimas	34
2.2.5. Karageninų tinklinimas epichlorhidrinu	35
2.2.6. Karageninų mikrogranulių brinkumo nustatymas	35
2.2.7. Antocianinų pusiausvirosios adsorbcijos tinkliniais karagenino dariniais tyrimai	35
2.2.7.1. Taikyti matematiniai adsorbcijos modeliai ir termodinaminių rodiklių apskaičiavimas	36
2.2.8. Tinklinio κ-karagenino ir antocianinų mikrogranulių gavimas	37
2.2.9. Antocianinų desorbcijos iš karageninų ir antocianinų kompleksų mikrogranulių tyrimai	38
2.2.10. Antioksidacinių savybių įvertinimas	38
2.2.11. Antocianinų ir anijoninių polisacharidų kompleksų stabilumo tyrimai	39
2.2.12. Antocianinų ir anijoninių polisacharidų kompleksų Furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopija	39
2.2.13. Skirtingų antocianinų tyrimas efektyviaja skysčių chromatografija	39
2.3. Biologiškai aktyvių junginių turinčių plėvelių ar dangų paruošimas ir jų savybių įvertinimas	40
2.3.1. Antocianinų ir jų kompleksų su karageniniais turinčių tirpių plėvelių paruošimas ir įvertinimas	40
2.3.2. Eterinių aliejų turinčių dangų ant orientuotojo polipropileno paruošimas	40
2.3.3. Antimikrobiniai eterinių aliejų ir jų turinčių dangų tyrimai	41
2.3.4. Eugenolio atpalaidavimo iš dangų tyrimai	42
2.3.5. Antioksidacinės pakuotės prototipo paruošimas ir tyrimai	42

2.4. Rezultatų tikslumo ir patikimumo įvertinimas	43
3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	44
3.1. Vandeniame mėlynių ekstrakte esančių antocianinų analizė.....	44
3.2. Dekstrano sulfato kompleksų su vandeniame mėlynių ekstrakte esančiais antocianiniais gavimas.....	46
3.2.1. Dekstrano sulfato ir antocianinų kompleksų tyrimai efektyviosios skysčių chromatografijos metodu.....	51
3.2.2. Dekstrano sulfato ir antocianinų kompleksų FT-IR tyrimai.....	53
3.2.3. Antocianinų, sujungtų su dekstrano sulfatu į optimalios sudėties kompleksą, stabilumo tyrimai.....	54
3.3. Karageninų kompleksų su vandeniame mėlynių ekstrakte esančiais antocianiniais gavimas.....	55
3.3.1. Vandeniuose tirpaluose formuojami karageninų ir antocianinų kompleksai.....	55
3.3.1.1. Karageninų ir antocianinų kompleksų stabilumo ir antioksidacinių savybių tyrimai.....	58
3.3.2. Tinklinių karageninų darinių gavimas ir panaudojimas antocianinų adsorbacijai	59
3.3.3. Antocianinų pusiausvrosios adsorbcijos tinkliniais karagenino dariniais tyrimai	62
3.3.3.1. Antocianinų adsorbcijos tinkliniais karageninų dariniais termodinamika	67
3.3.4. Karageninų ir antocianinų kompleksų FT-IR tyrimai.....	68
3.3.5. Antocianinų desorbcijos iš karageninų ir antocianinų komplekso mikrogranulių tyrimai.....	69
3.3.6. Antocianinų adsorbcijos tinkliniu ι -karageninu ir desorbcijos tyrimai efektyviosios skysčių chromatografijos metodu.....	71
3.3.7. Tinklinio κ -karagenino ir antocianinų kompleksų mikrogranulių panaudojimo galimybės.....	73
3.4. Biologiškai aktyvių junginių turinčių plėvelių bei dangų sukūrimas ir tyrimai	77
3.4.1. Karageninų ir antocianinų kompleksų turinčios tirpios plėvelės.....	77
3.4.2. Eterinių aliejų turinčių veikliųjų dangų sukūrimas.....	78
3.4.2.1. Eterinių aliejų antioksidacinių ir antibakterinių savybių įvertinimas	78
3.4.2.2. Antibakterinių dangų sukūrimas ir tyrimai.....	82
3.4.2.3. Antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčių dangų sukūrimas ir tyrimai	84
3.4.2.4. Antioksidacinės pakuotės prototipo sukūrimas ir tyrimai	87
IŠVADOS.....	92
LITERATŪRA.....	93
MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ DISERTACIJOS TEMA SĄRAŠAS	111
KITOS PUBLIKACIJOS	112
PADĖKA.....	114

SANTRUMPOS

ABTS – 2,2-azino-bis-3-etilbenziazolin-6-sulfono rūgštis;
AK – akrilinis plėvėdaris;
ATC – antocianinai;
CA – celiuliozės acetatas;
CHT – chitozanas;
Cia-3-gluk – cianidino-3-*O*-gliukozidas;
CS – chondroitino sulfatas;
ČI – čiobrelių eterinis aliejus;
DESU – dekstrano sulfatas;
DMSO – dimetilsulfoksidas;
DPPH – 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas;
EA – eterinis aliejus;
EPCH – epichlorhidrinai;
ESC – efektyvioji skysčių chromatografija;
EU – eugenolis;
FJ – fenoliniai junginiai;
GF – garų fazė (kai aktyvioji medžiaga garuoja iš dangos ir taip veikia tiriamąjį substratą, t. y. nėra tiesioginio kontakto tarp dangos ir substrato);
GV – gvazdikėlių eterinis aliejus;
HPMC – hidroksipropilmetilceliuliozė;
K – hidrofobiškai modifikuotas vaškinis kukurūzų krakmolai;
KARG – karageninas;
KARG-T – tinklinis karageninas;
KSV – kolonijas sudarantys vienetai;
MDA – malondialdehidai;
NKB – neigiamas kontrolinis bandinys;
OPP – orientuotasis polipropilenas;
PK – polielektrolitų kompleksas;
PR – propiono rūgštis;
TBARS – tiobarbitūro rūgšties reaktyviosios formos;
TE – trolokso ekvivalentai.

ĮVADAS

Temos aktualumas

Iš augalų išgaunami antocianinai ir eteriniai aliejai pasižymi priešvėžinėmis, uždegimo slopinamosiomis, antioksidacinėmis, antibakterinėmis savybėmis. Dėl šių savybių jie plačiai naudojami ne tik kosmetikoje, farmacijoje, bet ir maisto pramonėje, pavyzdžiui, veikliosioms maisto pakuotėms gaminti [1, 2, 3].

Antocianinai yra nepatvarūs junginiai, todėl stabilumui padidinti jie gali būti imobilizuojami įvairiuose nešikliuose, kurie apsaugo antocianinų molekules nuo fizinių ir cheminių veiksnių poveikio ir padeda išlaikyti antocianinų aktyvumą [4]. Tačiau šie būdai susiję su didelėmis sąnaudomis ir antocianinų nuostoliais. Terpėje, kurios pH vertė yra tarp 1 ir 3, antocianinai egzistuoja raudonos spalvos flavilio katijono pavidalu ir gali sudaryti joninius kompleksus su anijoninių grupių turinčiais polimerais. Kol kas literatūroje yra aprašyti tik stabilūs nanodydžio antocianinų ir chondroitino sulfato kompleksai [5]. Tačiau tokius kompleksus galėtų sudaryti ir kiti sulfatogrūpių turintys gamtiniai ar modifikuoti polisacharidai, pavyzdžiui, karageninai ar dekstrano sulfatas. Tiek vieni, tiek kiti yra plačiai naudojami polimeriniams kompleksams su teigiamojo krūvio polimerais ar joniniams kompleksams su mažamolekuliais teigiamojo krūvio grupių turinčiais junginiais gauti [6, 7]. Joniniai polimerų kompleksai susidaro vandeniniuose tirpaluose dėl elektrostatinės sąveikos tarp priešingų ženklų krūvio grupių turinčių polimerų ir mažamolekulių junginių kambario temperatūroje, t. y. nenaudojant energijos išteklių, neteršiant gamtos organiniais tirpikliais, todėl toks kompleksų susidarymas priskiriamas prie aplinkai nekenksmingų procesų [8].

Veikliųjų pakuočių gamyba yra viena iš inovatyvių technologijų. Tokiose pakuotėse imobilizuotos aktyviosios medžiagos veikia atsipalaiduodamos į pakuotės vidų arba sugerdamos pakuotėje esančias kitas medžiagas, taip apsaugodamos maisto produktus nuo aplinkos poveikio ir pailgindamos jų tinkamumo vartoti trukmę [9]. Antimikrobinių ir antioksidacinių savybių turinčios maisto pakuotės gali būti gaunamos ant jų plėvelės formuojant eterinių aliejų turinčias dangas. Tokioms dangoms gauti kaip plėvėdariai gali būti naudojami gamtiniai, modifikuoti gamtiniai ar sintetiniai polimerai.

Darbo tikslas

Šio darbo tikslas – išsaugoti antocianinų ir eterinių aliejų veikliąsias savybes imobilizuojant juos anijoniniuose polisachariduose.

Darbo tikslui pasiekti suformuluoti šie **uždaviniai**:

1. Parinkti sąlygas tirpiems, nano- ar mikrodalelių dekstrano sulfato, κ -karagenino ir ι -karagenino kompleksams su vandeniniame mėlynių ekstrakto esančiais antocianiniais gauti.
2. Įvertinti į kompleksus su dekstrano sulfatu ar κ -karageninu ir ι -karageninu sujungtų antocianinų stabilumą, antioksidacines savybes ir atpalaidavimą į įvairias terpes.

3. Ištirti sąveiką tarp antocianinų flavilio katijono ir karageninų sulfatograpių pusiausvriosios adsorbcijos sąlygomis, jai aprašyti taikyti dviejų kintamųjų adsorbcijos modelius.
4. Pasiūlyti optimalių savybių antocianinų ir karageninų kompleksų gamybos technologinę schemą.
5. Sukurti eterinių aliejų turinčias dangas, nustatyti jų antibakterinį ir antioksidacinį efektyvumą nesant tiesioginio kontakto su tiriamuoju substratu (per garų fazę).
6. Sukurti veikliosios pakuotės prototipą.

Mokslinis darbo naujumas

Nustatyta, kad vandeniniame mėlynių ekstrakto esantys antocianinai gali sudaryti joninius kompleksus su sulfatograpių turinčiais dekstrano sulfatu ar κ - bei ι -karageniniais, visų pirma, dėl elektrostatinės sąveikos tarp antocianinų flavilio katijono ir polisacharido sulfatograpių. Gauto komplekso pobūdis priklauso nuo jų sudarančių junginių masių santykio ir bendrosios jų koncentracijos: kai polisacharido ir antocianinų masių santykis yra optimalus – 0,4 g/g – ir bendroji dekstrano sulfato ir antocianinų komplekso koncentracija yra $\leq 0,16$ g/l, o karageninų ir antocianinų – $\leq 0,07$ g/l, gaunama stabili komplekso nanodalelių suspensija; padidinus bendrąją kompleksą sudarančių medžiagų koncentraciją, dalis komplekso iškrinta tamsiai raudonos spalvos nuosėdomis.

Efektviosios skysčių chromatografijos metodu įrodyta, kad antocianinai yra išgryninami juos imobilizuojant polimeriniuose nešikliuose.

Antocianinų imobilizavimas kompleksuose su dekstrano sulfatu ar karageniniais apsaugo antocianinų flavilio katijoną nuo hidratacijos ir padidina vandeninių komplekso suspensijų stabilumą saugant. Iš antocianinų ir polisacharidų komplekso mikrogranulių antocianinai yra efektyviai atpalaiduojami į modelines skrandžio ir žarnyno terpes.

Nustatyta, kad čiobrelių eterinio aliejaus ar eugenolio turinčios dangos pasižymi antibakteriniu poveikiu *E. coli* bei *L. monocytogenes* bakterijoms ir stipriu laisvųjų radikalų sujungimu, nesant tiesioginio kontakto su tiriamuoju substratu, veikiant aktyviosios medžiagos garams.

Praktinė darbo vertė

Pagamintos liofilizuotos κ -karagenino ir antocianinų mikrogranulės panaudotos antioksidacinėmis ir uždegimo slopinamosiomis savybėmis pasižyminčių rektalinių žvakučių prototipui sukurti.

Pasiūlyta antocianinų imobilizavimo κ -karagenino mikrogranulėse technologinė schema.

Sukurtas antioksidacinės pakuotės prototipas: šviežia jautiena supakuota polimerine plėvele, padengta eugenolio turinčia danga, kuri apsaugo jautieną 14 dienų nuo lipidų oksidacijos ir mėsos spalvos pokyčių.

Ginamasis disertacijos teiginys

Antocianinai, adsorbuojami iš vandeninio mėlynių ekstrakto sulfatogrupių turinčiais polisacharidais, yra išgryninami išsaugant jų antioksidacines savybes ir vėliau gali būti atpalaiduojami į įvairias terpes.

Darbo rezultatų aprobavimas

Doktorantūros studijų metu 2 publikacijos disertacijos tema paskelbtos *Clarivate Analytics Web of Science* duomenų bazės žurnaluose, turinčiuose citavimo indeksą, 1 straipsnis publikuotas kituose recenzuojamuose mokslo leidiniuose, 9 straipsniai paskelbti mokslinių konferencijų pranešimų medžiagoje.

Darbo apimtis

Daktaro disertaciją sudaro įvadas, 3 skyriai, išvados, literatūros sąrašas, publikacijų disertacijos tema sąrašas ir padėka. Bendra apimtis – 114 puslapių. Darbe pateikti 48 paveikslai, 20 lentelių, 31 matematinė išraiška ir lygtis. Literatūros sąrašą sudaro 240 šaltinių.

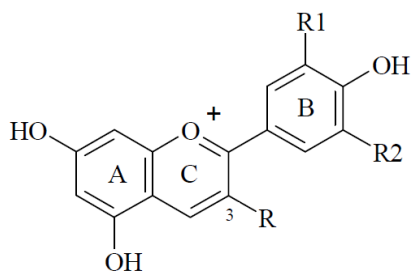
1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Gamtinės biologškai aktyvios medžiagos

1.1.1. Antocianinų sandara ir stabilumas

Antocianinai (ATC) yra vandenyje tirpūs augalų ląstelių pigmentai. ATC naudojami kaip natūralūs dažikliai maisto pramonėje [4] (maisto priedo Nr. E163), kosmetikoje [10], farmacijoje, tekstilėje [11]. Šios medžiagos pasižymi ne tik dažomosiomis savybėmis, bet ir biologiniu aktyvumu, t. y. antioksidaciniu, antibakteriniu, uždegimo slopinamuoju [12, 13], priešvėžiniu, antimutageniniu poveikiu [14]. Dėl veikliųjų savybių ATC naudojami kosmetikoje, farmacijoje ir maisto papildų gamyboje [15, 16, 17]. Šie junginiai taip pat gali būti naudojami kaip jautrikliai saulės elementų gamyboje [18].

Pagrindiniai ATC struktūros elementai yra antocianidinai, sudaryti iš aromatinio žiedo (A), prijungto prie deguonies atomą turinčio heterociklo (C), prie kurio ryšiu „anglis–anglis“ prijungtas aromatinis žiedas (B) [19]. Yra žinoma apie 31 skirtingą antocianidiną. Dažniausiai augaluose randami cianidinas (30 %), delfinidinas (22 %), peonidinas (18 %), o likusius 20 % sudaro pelargonidinas, petunidinas ir malvidinas. Antocianidinai tarpusavyje skiriasi tik hidroksi- ir metoksigrupių, prijungtų prie aromatinio žiedo B, kiekiu [20] (1.1 pav.).

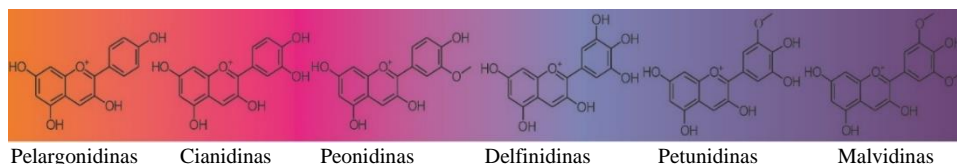


Antocianidinas	R1	R2
Pelargonidinas	H	H
Cianidinas	OH	H
Delfinidinas	OH	OH
Peonidinas	OCH ₃	H
Petunidinas	OCH ₃	OH
Malvidinas	OCH ₃	OCH ₃

R – gliukozę, galaktozę, arabinozę

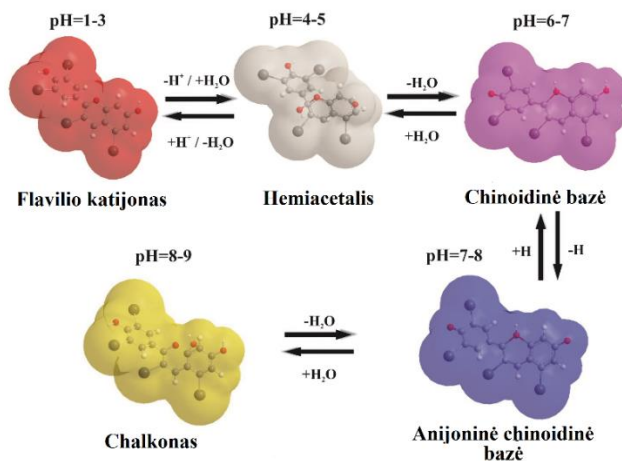
1.1 pav. Antocianidinų struktūrinė formulė

Antocianidinų spalva labiausiai priklauso nuo hidroksigrupių kiekio – jam didėjant junginio spalva kinta nuo oranžinės iki violetinės (1.2 pav.). Antocianinai gaunami prie antocianidinų molekulės heterociklo (C) 3 padėtyje prijungus vieną iš sacharidų: gliukozę, galaktozę ar arabinozę. Prijungus sacharidą junginių spalva tampa raudonesnė, o alifatiniai ar aromatiniai acilpakeitai, prijungti prie sacharido, įtakos spalvai beveik neturi [17].



1.2 pav. Pagrindinių antocianidinų spalvų gama [17]

Kitas veiksnys, lemiantis ATC spalvą, yra terpės pH vertė, nuo kurios priklauso struktūrinės ATC molekulių transformacijos [17]. Terpėje, kurios pH vertė yra tarp 1 ir 3, vyrauja raudonos spalvos flavilio katijonas. Kai terpės pH vertė yra tarp 4 ir 5, vyrauja bespalvis hemiacetalis. Terpės pH vertę padidinus iki 6–7, susidaro purpurinės spalvos chinoidinė bazė, o kai terpės pH yra tarp 7 ir 8, dominuoja mėlynos spalvos anijoninė chinoidinė bazė. Terpėje, kurios pH vertė yra 8–9, vyrauja silpnai geltonas chalkonas (1.3 pav.).



1.3 pav. ATC spalvos ir struktūros priklausomybė nuo vandeninės terpės pH verčių [17]

Gamtoje randama daugybė pačios įvairiausios cheminės struktūros ATC. Pagrindiniai skirtumai tarp įvairių ATC yra hidroksi- ir metoksigrupių kiekis bei padėtis antocianidino molekulėje ir prie antocianidino molekulės prijungtų sacharidų cheminė prigimtis ir skaičius [19]. Yra žinoma apie 700 skirtingos cheminės sudėties ATC [1], tačiau dažniausiai augaluose randamas ATC yra cianidino-3-*O*-gliukozidas [21]. Tik raudonosiose vynuogėse ir jų perdirbimo produktuose (vyne, sultyse ir kt.) daugiau yra malvidino-3-*O*-gliukozido [22]. Nors ATC yra randama tam tikrų rūšių javuose, daržovėse ar vaisiuose, pagrindiniai ATC šaltiniai yra raudonos ar mėlynos uogos (1.1 lent.).

1.1 lentelė. Augalų klasifikacija pagal juose randamą ATC kiekį [23]

ATC kiekis (mg/100 g augalo)	Augalas
>100 mg	Mėlynės, juodieji serbentai, juodosios alyvuogės, juodieji ryžiai, gervuogės, šilauogės, vyšnios, aronijos, šeivamedžio uogos, raudonosios vynuogės, granatai, violetiniai kukurūzai, avietės, raudonieji kopūstai.
10–100 mg	Raudonieji obuoliai, juodosios pupelės, spanguolės, baklažanai, agrastai, slyvos, raudonieji serbentai, raudonieji svogūnai, raudonieji ridikėliai, rabarbarai, braškės.
<10 mg	Greipfrutai, salotos, nektarinai, persikai, kriaušės.

Europoje augančios laukinės mėlynės (*Vaccinium myrtillus* L.) yra vienos iš daugiausia ATC turinčių uogų. Jos pasižymi maloniu skoniu ir turi daug gydomosiomis savybėmis pasižyminčių junginių, tarp jų 15 skirtingų ATC [24, 25, 26]. Tai cianidino, delfinidino, malvidino, petunidino ir peonidino arabinozidai, galaktozidai ir gliukozidai. Tiek bendrasis ATC kiekis, tiek sudėtis priklauso nuo regiono, kuriame mėlynių uogos augo. Lietuvoje augančių mėlynių uogos daugiausia turi cianidino sacharidų [25]. Kiti biologiškai aktyvūs junginiai, randami mėlynėse, yra chlorogeno ir kitos fenolinės rūgštys, askorbo rūgštis, kvercetas ir kt.

Iš uogų ATC yra išgaunami ekstrahuojant parūgštintais etanolio tirpalais [27]. Tačiau kartu su ATC į ekstraktą patenka ir kiti uogose esantys junginiai: sacharidai, fenoliniai junginiai, askorbo rūgštis, kai kurie metalų jonai, kurie skatina ATC skilimą [28]. ATC gryninti taikomi chromatografijos [29], adsorbcijos ant kietųjų adsorbentų [30] ir kiti metodai. Kaip adsorbentai yra naudojami skirtingos sandaros junginiai, pavyzdžiui, prie nejoninių sintetinių polimerinių dervų priskiriami akriloesteriai [31, 32], polistireno-divinilbenzeno kopolimerai [32, 33] ar katijoninės polimerinės dervos [34]. Ypač didelis išgryninimo laipsnis yra gaunamas adsorbuojant ATC flavilio katijoną ant sulfatogrūpių turinčių katijonitinių polimerinių dervų [34].

Pagrindinis antocianinų trūkumas yra mažas stabilumas, kuris priklauso nuo terpės pH vertės [35], ATC koncentracijos [36], temperatūros [37], šviesos [4], tirpale esančių fermentų [38], askorbo rūgšties [39], sacharidų [40] ir kt. ATC tirpalų stabilumas priklauso ne tik nuo jų pH vertės, bet ir nuo ATC koncentracijos [36]: kuo ši didesnė, tuo didesnis ir ATC tirpalo stabilumas. Pažymėtina, kad didėjant ATC turinčių žaliavų ar produktų perdirbimo ir laikymo temperatūrai ATC stabilumas mažėja [37]. Destrukcinis šviesos poveikis ATC priklauso nuo jų cheminės struktūros ir žaliavos, iš kurios ATC ekstraktas buvo gautas [20]. Šviesa mažina ATC stabilumą saugant, ypač kai mišinyje yra sacharidų [41]. Pačių sacharidų poveikis ATC stabilumui priklauso tiek nuo ATC struktūros, tiek nuo sacharidų tipo ir koncentracijos [40]. ATC skilimą taip pat skatina vaisiuose bei uogose esanti askorbo rūgštis bei įvairūs fermentai (glikozidazė, peroksidazė, fenol- ir polifenoloksidazė) [38, 39].

1.1.1.1. Antocianinų stabilizavimo būdai

ATC yra plačiai naudojami maisto pramonėje, farmacijoje, kosmetikoje, todėl labai aktualus yra jų stabilumo padidinimas. Visus literatūroje aprašytus ATC stabilumo padidinimo būdus galima suskirstyti į dvi pagrindines grupes: asociacija ir imobilizavimas [4].

ATC stabilumas padidėja ir kartu jų tirpalo spalva tampa sodresnė vykstant asociacijai su kitais junginiais [19]. Skiriamos trijų tipų ATC asociacijos reakcijos: savaiminė asociacija tarp kelių ATC molekulių; kopigmentacija, kuri skirstoma į intramolekulinę kopigmentaciją (asociacija su kitomis ATC molekulės dalimis) ir intermolekulinę kopigmentaciją su kitais nespaltotais junginiais (kopigmentais), pavyzdžiui, flavonoliais ar flavono glikozidais; asociacija su metalais.

Pirmą kartą savaiminė asociacija, kaip ATC tirpalo spalvos pokyčio priežastis, buvo aprašyta Aseno ir kt. darbe [42]. Vyrauja nuomonė, kad savaiminės asociacijos

metu vyksta hidrofobinė sąveika tarp aromatinių ATC molekulių dalių (dar vadinama stekingu, angl. „stacking“) [43]. Dėl šios sąveikos gerokai išauga šviesos sugertis ATC tirpalais, t. y. tariama ATC koncentracija tirpale padidėja nuo 10^{-4} iki 10^{-2} mol/l su batochrominiu šviesos absorbcijos maksimumo poslinkiu [44]. Tuo pat metu gerokai išauga ATC stabilumas.

ATC kopigmentaciją pirmą kartą aprašė 1916 m. Willstätteris ir Zollingeris [45]. Jie pastebėjo, kad pridėjus taninų ar galo rūgšties malvidino-3-*O*-gliukozido tirpalo spalva pasikeičia iš raudonos į mėlyną ir tai yra vienas iš ATC kopigmentacijos vyksmo požymių. Daugeliu atvejų ne tik keičiasi ATC tirpalo spalva (tirpalas įgauna melsvą atspalvį), bet ir padidėja spalvos intensyvumas, t. y. kopigmentacija yra lydima hiperchrominio efekto.

Intramolekulinėje kopigmentacijoje kopigmentas yra ATC molekulės dalis, t. y. tiek ATC, tiek kopigmentas yra kovalentiniu ryšiu prijungti prie to paties sacharido [46]. Prie sacharido prijungtos aromatinės acilgrupės išsidėsto greta flavilio katijono, apsunkina pirilio žiedo hidrataciją ir padidina ATC stabilumą. Intramolekulinė kopigmentacija priklauso nuo aromatinių acilgrupių kiekio, jų prijungimo sacharido molekulėje vietos ir nuo paties sacharido struktūros.

Intermolekulinė kopigmentacija vyksta tarp ATC ir bespalvio kopigmento dėl van der Valso jėgų, hidrofobinės ir joninės sąveikos [47]. Intermolekulinėje kopigmentacijoje gali dalyvauti tiek flavilio katijonas, tiek chinoidinė bazė. Tiek viena, tiek kita ATC molekulės forma yra plokščia su delokalizuotomis π -elektronų poromis, todėl gali asocijuoti su laisvą π -elektronų porą turinčiais junginiais. Intermolekulinės kopigmentacijos metu ATC ir kopigmento molekulės išsidėsto tam tikra tvarka, dėl kurios ATC flavilio katijonas yra apsaugomas nuo nukleofilinės vandens atakos. Intermolekulinėje kopigmentacijoje gali dalyvauti įvairūs fenoliniai junginiai: kavos, ferulo [48], rozmarinų [49], vanilo [50], chlorogeno [51], galo [52] rūgštys, flavonoliai (rutinas, kvercetino 3- β -D-galaktozidas) [53], procianidiniai (epikatechino monomerai, dimerai ir trimerai) [54]. Kopigmentacijos metu spalvos pasikeitimas priklauso tiek nuo fenolinio junginio, tiek nuo ATC prigimties. Taip, į malvidino-3-*O*-gliukozido tirpalą įpylus rozmarinų rūgšties tirpalo, šviesos sugertis gautu mišiniu padidėjo 2,6 karto, o didžiausias pelargonidino-3-*O*-gliukozido tirpalo spalvos intensyvumas ir stabilumas gautas pridėjus ferulo ar kavos rūgščių [55]. Intermolekulinės kopigmentacijos metu vykstantis ATC tirpalo spalvos pasikeitimas bei stabilumo padidėjimas priklauso nuo kopigmento molekulėje esančių hidroksi-, metoksi- ir (arba) glikozilgrupių skaičiaus ir padėties.

ATC tirpalų spalva keičiasi susidarant chelatiniams ATC ir metalų kompleksams [19]. Toks ATC stabilizavimo būdas yra aktualus maisto produktuose (sultyse, vyne), kuriuose yra didesnis metalų kiekis. Chelatinis kompleksas su metalais gali sudaryti tik ATC, turintys daugiau kaip dvi hidroksigrupes, t. y. cianidino, delfinidino ir petunidino sacharidai. Dažniausiai vaisiuose yra alavo, vario, geležies, aliuminio, magnio, kalio jonų, ir būtent šių metalų kompleksai su ATC suteikia augalams mėlyną spalvą [56]. Mėlynuosiuose kukurūzuose yra daug kalcio, vario ir geležies, kurie sudaro chelatinis kompleksus su cianidinu ir stabilizuoja jo spalvą [19]. Gaminant raudonąjį vyną ATC stabilumas labai priklauso nuo jame esančio geležies kiekio ir jos oksidacijos laipsnio [57]. Schreiberio ir kt. darbe [58]

aprašytas Al^{3+} kompleksų su delfinidinu susidarymas, kuris vyksta dviem stadijomis. Pradžioje susidaro mėlynos spalvos chinoidinės bazės ir Al^{3+} kompleksas. Antroje stadijoje jis yra stabilizuojamas π - π stekingu su kita flavilio katijono pavidalo delfinidino molekule.

Kitas ATC stabilumo padidinimo būdas yra jų imobilizavimas įvairiuose nešikliuose. Imobilizavimas apsaugo ATC molekules nuo fizinių ir cheminių veiksnių poveikio, todėl ATC lieka aktyvūs *in vivo* ir *in vitro*, o tai padidina jų panaudojimo galimybes ir pailgina jų saugojimo trukmę. ATC stabilumo padidėjimas priklauso tiek nuo naudojamo nešiklio, tiek nuo taikomo imobilizavimo metodo. Pagrindiniai ATC imobilizavimo metodai yra purkštuvinis džiovinimas, liofilizavimas, ekstruzija, koacervacija, liposomų, įtarpos kompleksų, emulsijų sudarymas [59]. Biologiškai aktyvioms medžiagoms imobilizuoti naudojami gamtiniai polimerai, liposomos, maltodekstrinai ar ciklodekstrinai [60]. Buvo palygintas iš kviečių ar sojų išskirtų baltymų ir maltodekstrinų stabilizuojamasis poveikis purkštuvinėje džiovvykloje įkapsuliuotiems ATC, esantiems šilauogių ir granatų vaisių ekstrakto, ir nustatyta, kad maltodekstrinuose įkapsuliuoti ATC yra geriau apsaugoti nuo ardomojo šviesos poveikio [61]. Mėlynių ekstrakto esantys ATC buvo įkapsuliuoti keliais skirtingais metodais: ekstruzijos būdu suformuojant ATC ir amidogrupių turinčio pektino kapsules, pagaminant ATC ir kviečių baltymų emulsijas, išdžiovinant purkštuvinėje džiovvykloje, kaip nešiklį naudojant amidogrupių turinčio pektino ir šelako dervos mišinį [62] bei sudarant ATC ir išrūgų baltymų hidrogelius [63]. Iširta imobilizavimo būdo įtaka ATC stabilumui ir jų atpalaidavimui į modelines skrandžio ir žarnyno terpes. Nustatyta, kad, nepriklausomai nuo imobilizavimo būdo, ATC buvo stabilūs tik modelinėje žarnyno terpėje ir kad išrūgų baltymuose imobilizuoti ATC buvo stabilesni. ATC atsparumas aukštai temperatūrai gerokai padidėjo koacervacijos metodu juos imobilizavus į kviečių baltymų bei runkelių pektino nanodaleles [64]. Tyrėjai [65] cianidino-3-O-gliukozido (cia-3-gluk) atsparumą šviesai ir aukštesnei temperatūrai padidino sudarydami sojų pupelėse randamo feritino ir cia-3-gluk nanodaleles. Be privalumų, ATC įkapsuliuojimas turi ir nemažai trūkumų, kurių pagrindiniai yra sudėtinga įranga ir dideli ATC nuostoliai.

Kur kas paprastesnis būdas yra ATC adsorbcija gamtiniais polimerais. Norman ir kt. darbe [66] ATC iš tirpalų buvo adsorbuoti *Hippospongia communis* jūrų pintimis. Adsorbuoti ATC pasižymėjo antioksidacinėmis savybėmis. Daugiausia ATC buvo adsorbuota iš terpės, kurios pH vertė buvo apie 4, autorių nuomone, dėl vandenilinių ryšių tarp ATC ir adsorbento. Choi ir kt. [67] sukūrė ATC turinčias biologiškai skaidžias plėveles iš agaro ir krakmolo, kurias galima naudoti kaip pH indikatorius mėsos užterštumui tikrinti.

Vienas iš alternatyvių būdų padidinti ATC stabilumą yra joninių kompleksų iš ATC flavilio katijono ir anjoninių grupių turinčių polimerų sudarymas. Pirmą kartą tokių kompleksų sudarymas aprašytas tyrime panaudojus chondroitino sulfatą [5]. Chondroitino sulfato ir iš juodųjų sojų pupelių gautų ATC masių santykiui esant 10:1, buvo gauti stabilūs nanokompleksai, kuriuose ATC, palyginti su esančiu pradiniam ekstrakto, pasižymėjo geresnėmis antioksidacinėmis ir priešvėžinėmis savybėmis. Autorių nuomone, susidarant nanokompleksams pasireiškė trijų rūšių sąveika: ATC molekulių stekingas, joninė sąveika tarp polimero sulfatogrupių ir flavilio katijono bei

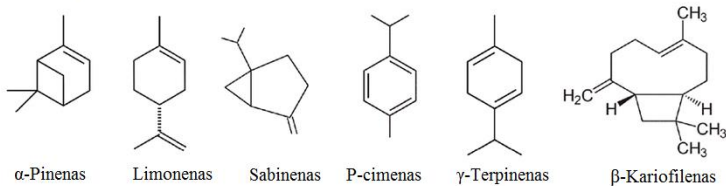
hidrofobinė sąveika tarp chondroitino sulfato acilgrupių ir ATC molekulių asociatų. Tolesniuose tyrimuose į chondroitino sulfato ir ATC kompleksą (CS/ATC) buvo įterptas doksorubicino hidrochloridas (DOX) ir ištirtos tokio nanokomplekso antioksidacinės ir priešvėžinės savybės *in vivo* [68]. Nustatyta, kad CS/ATC/DOX kompleksas gali būti efektyvus gydant navikus.

1.1.2. Eterinių aliejų sandara ir savybės

Eteriniai aliejai (EA) yra išgaunami iš skirtingų augalo dalių (lapų, žievės, žiedynų, pumpurų, žiedų) [69] ir sudaryti iš lipofilinių bei lakiųjų antrinių augalų metabolitų, kurių molekulinė masė yra mažesnė nei 300. Nepaisant didelės įvairovės, pagrindiniai EA sudarantys junginiai pagal sandarą yra skirstomi į terpenus, terpenoidus ir fenilpropanoidus (1.4 pav.).

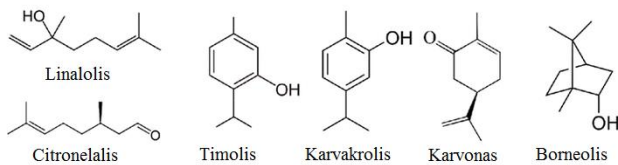
Terpenai

Monoterpenai

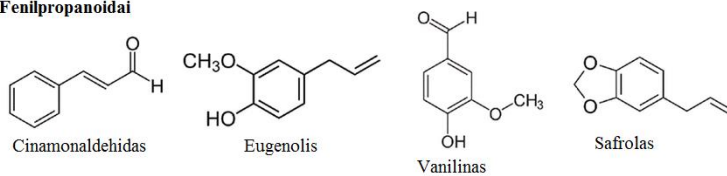


Terpenoidai

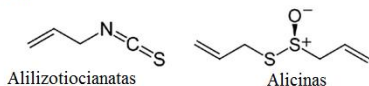
Monoterpenoidai



Fenilpropanoidai



Kiti



1.4 pav. EA sudedamųjų dalių cheminė struktūra [69]

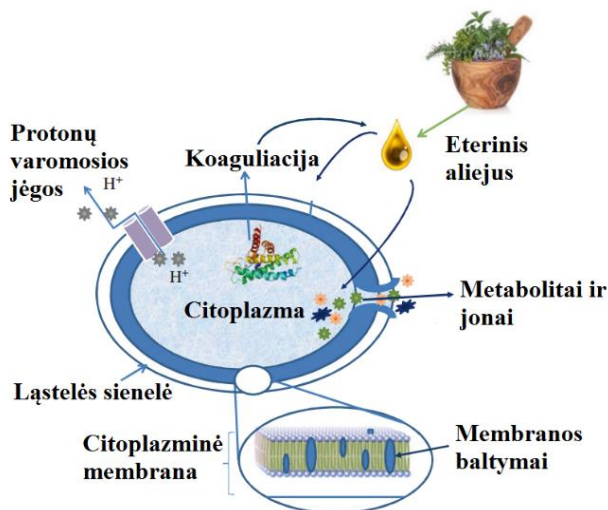
Terpenai sudaryti iš dviejų izopreno (C_5H_8) molekulių. EA yra monoterpenų ($C_{10}H_{16}$), pavyzdžiui, α -pineno, limoneno ir kt., bei seskviterpenų ($C_{15}H_{24}$) (β -kariofilenas). O diterpenų ($C_{20}H_{32}$), triterpenų ($C_{30}H_{48}$) ir tetraterpenų ($C_{40}H_{64}$) EA randama mažais kiekiais. EA junginiai, turintys deguonies, vadinami terpenoidais.

EA, priklausomai nuo cheminės sudėties, pasižymi skirtingu kvapu ir skoniu. *Lamiaceae*, *Myrtaceae* (*Eucalyptus*) ir *Rutaceae* (*Citrus*) šeimų augaluose randama daugiausia lakiųjų junginių [70]. EA iš augalų išgaunami distiliacija vandens garais ir presavimo būdais. Pramonėje dažniausiai taikoma distiliacija vandens garais [71, 72]. EA sudėtis ir savybės priklauso ne tik nuo išgavimo būdo, bet ir nuo augalo kilmės, amžiaus, naudojamos augalo dalies ir kt. [73, 74, 75].

Europos Komisija bei JAV Maisto ir vaistų administracija kvapiųjų junginių turinčius EA registruoja kaip kvapiąsias medžiagas [76, 77]. 2012 metais Europos Sąjunga patvirtino kvapiųjų medžiagų sąrašą. Reglamentas reguliuoja tam tikrų natūralių medžiagų naudojimą ir nustato didžiausius leistinus medžiagų kiekius. Be to, didžioji dalis šių medžiagų visuotinai pripažintos kaip saugios [77].

Dauguma iš augalų išgaunamų junginių yra biologiškai aktyvūs ir pasižymi priešvėžinėmis, uždegimo slopinamosiomis [78], antioksidacinėmis [79], antibakterinėmis [80] ir kt. savybėmis. EA ir pagrindiniai jų komponentai turi poveikį plataus spektro bakterijoms, tarp jų ir atsparioms antibiotikams [81]. Geriausiomis antimikrobinėmis savybėmis pasižymi EA, išgaunami iš *Lamiaceae* šeimos augalų (čiobrelių, raudonėlių, rozmarinų, levandų, mėtų ir kt. EA) [82]. Aktyviausi iš EA randamų junginių yra fenoliai, po jų eina aldehidai, ketonai, alkoholiai, esteriai ir angliavandeniliai [83]. Pagrindinis EA komponentas gali sudaryti daugiau kaip 85 %. Jis dažniausiai ir lemia EA biologinį aktyvumą. Tačiau kitos 15 % sudedamųjų dalių dažnai ne ką mažiau svarbios dėl sinergetinio efekto [82, 84].

EA antimikrobinis poveikis aiškiamas kaip kelių etapų proceso rezultatas [70]. Pirmiausia EA dėl hidrofobinės prigimties padidina bakterijos sienelės pralaidumą. Antrame etape į bakterijos vidų prasiskverbęs EA slopina ląstelės energijos (ATP) gamybą, dėl to sutrinka protonų, jonų ir kt. pernaša. Be to, EA gali veikti kaip citoplazmos koagulantai ir pažeisti joje esančius lipidus, baltymus ir kitus komponentus, taip skatindami makromolekulių pasišalinimą iš ląstelės (1.5 pav.). Paskutiniame etape ląstelės DNR yra suardoma ir bakterija žūsta [70].

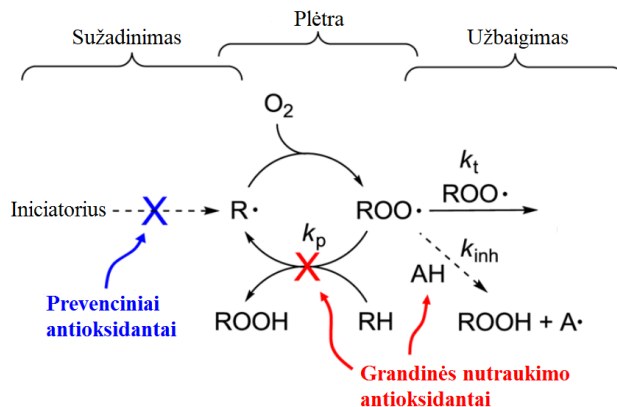


1.5 pav. EA antimikrobinio poveikio bakterijai mechanizmas [70]

Nustatyta, kad gramteigiamų bakterijų padermės yra jautresnės EA poveikiui nei gramneigiamų [85]. Poveikio skirtumas priklauso nuo bakterijų sienelės sandaros. Gramteigiamų bakterijų sienelė sudaryta iš storo peptidoglikano sluoksnio, teicho rūgšties, polisacharidų, mažo kiekio lipidų ir kt. O gramneigiamų bakterijų sienelė turi išorinę ir vidinę membranas, tarp kurių yra plonas peptidoglikano sluoksnis. Būtent dėl išorinės gramneigiamų bakterijų sienelės, turinčios baltymų ir lipopolisacharidų, EA poveikis joms yra silpnesnis nei gramteigiamoms bakterijoms. Gramteigiamų bakterijų sienelės struktūra leidžia lengviau prisiskverbti į ląstelę hidrofobinėms molekulėms.

Kai kurie EA, pavyzdžiui, bazilikų, citrinžolių, gvazdikėlių, česnakų, raudonėlių, rozmarinų ir čiobrelių, efektyviai slopina per maistą plintančių bakterijų augimą [86]. Net maži česnakų, čiobrelių ir raudonėlių EA kiekiai efektyviai veikia prieš *E. coli* ir *L. monocytogenes* bakterijas. Antibakterinis EA efektyvumas siejamas su juose esančiu dideliu kiekiu karvakolio, timolio, citronelalio ir eugenolio [86]. Be to, čiobrelių ir raudonėlių EA gali būti efektyvūs tiek esant tiesioginiam kontaktui su bakterijomis, tiek per EA garus [87]. Nustatyta, kad raudonėlio, čiobrelių ir gvazdikėlių EA pasižymi antipelėsinio poveikiu *Aspergillus niger* ir *Aspergillus flavus* [88]. Pagal šio poveikio silpnėjimą EA išsidėsto šia tvarka: raudonėlių EA, gvazdikėlių EA, čiobrelių EA.

Didžioji dalis EA pasižymi antioksidacinėmis savybėmis ir turi nemažai pranašumų prieš sintetinius antioksidantus [89]. Antioksidantai apibrėžiami kaip junginiai, mažinantys arba stabdantys medžiagų oksidaciją, esant mažam jų kiekiui, palyginti su oksiduojamu substratu. Biologinėse sistemose ir maisto pramonėje nuo oksidacijos dažniausiai saugomi lipidai, baltymai ir angliavandeniai. Šių medžiagų oksidacija vyksta grandininį reakcijų metu formuojantis peroksiradikalams [90]. Vienas iš lipidų oksidacijos ir antioksidantų veikimo mechanizmų pateiktas 1.6 pav. Lipidų oksidacija yra sužadinama, kai radikalas, nepriklausomai nuo savo kilmės ir struktūros, reaguoja su lipidų substratu (RH) ir susidaro alkilradikalas (R[•]). Pastarasis, reaguodamas su deguonimi, sudaro peroksiradikalą (ROO[•]), o šis toliau atakuoja kitą substrato molekulę ir susidaro hidroperoksidas (ROOH). Tokia grandininė reakcija vyksta tol, kol tarpusavyje sureaguoja du radikalai ir reakcija nutrūksta [79].



1.6 pav. Autooksidacijos ir antioksidantų veikimo mechanizmas [79]

Pagal veikimo principą antioksidantai yra skirstomi į pirminius (grandinės nutraukimo) ir antrinius (prevencinius). Pirminiai antioksidantai tiesiogiai reaguoja su laisvaisiais radikalais, susidaro santykinai stabilūs produktai. Dauguma pirminių antioksidantų veikia atiduodami vandenilio atomą laisvajam radikalui. Antriniai antioksidantai mažina oksidacijos greitį skirtingais mechanizmais ir gali veikti sujungdami metalų jonus (Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+}), deguonį, absorbuodami UV spinduliuotę ar slopindami fermentų veiklą [91, 92].

EA yra pirminiai antioksidantai, dalyvaujantys laisvųjų radikalų ($\text{R}\cdot$, $\text{ROO}\cdot$ ir kt.) sujungimo reakcijoje. EA antioksidacinės savybės labai priklauso nuo jų cheminės struktūros. Geriausiomis antioksidacinėmis savybėmis pasižymi fenolinių junginių (karvakolio, timolio, eugenolio ir kt.) turintys EA. Bendruoju atveju tiek sintetiniai, tiek natūralūs fenoliniai junginiai kaip antioksidantai veikia reaguodami su peroksiradikalais ir perduodami vandenilio atomą [93] (1.1 lygtis). Susidaręs fenoksiradikalas yra stabilus. Jis toliau nedalyvauja radikalų grandininėje reakcijoje, nes staigiai reaguoja su antruoju peroksiradikalu ir susidaro neradikaliniai produktai (1.2 lygtis).



Preliminarūs EA ir kitų augalinių ekstraktų antioksidacinio aktyvumo tyrimai atliekami *in vitro* metodais. Dažniausiai taikomas elektronų perdavimu pagrįstas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo) laisvųjų radikalų metodas [94]. Teixeira ir kt. [86] ištyrė pramoninių EA sudėtų dujų chromatografijos metodu ir nustatė jų antioksidacines savybes DPPH metodu. Citrinžolių, gvazdikėlių, raudonėlių, petražolių, salierų, peletrūnų ir čiobrelėlių EA pasižymėjo antioksidacinėmis savybėmis. Didžiausias DPPH laisvųjų radikalų sujungimas gautas su gvazdikėlių ir raudonėlių EA, efektyvios koncentracijos (antioksidanto kiekis, reikalingas sujungti 50 % DPPH laisvųjų radikalų nuo jų pradinio kiekio (EC_{50})) vertės buvo atitinkamai 36 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ir 47 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Autoriai padarė prielaidą, kad gvazdikėlių ir raudonėlių EA savybes lėmė pagrindiniai komponentai, atitinkamai eugenolis ir karvakrolis. Kiti tirti EA pasižymėjo kur kas mažesniu antioksidaciniu aktyvumu, EC_{50} vertės buvo nuo 250 iki 10000 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Bazilikų, rozmarinų, svogūnų, česnakų EA, tiriant DPPH metodu, antioksidacinėmis savybėmis nepasižymėjo.

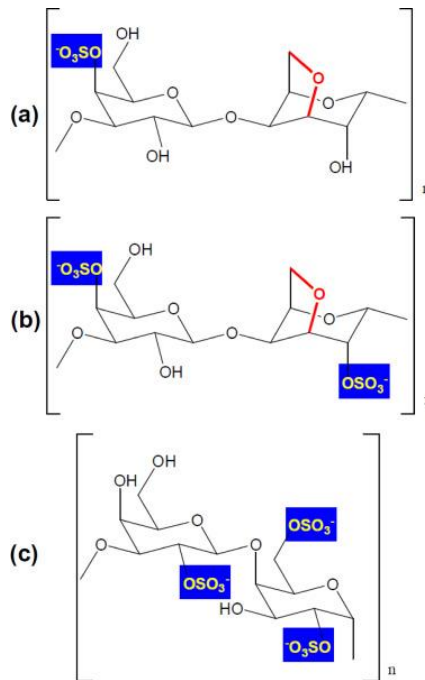
Iki šiol yra aprašyti daugiau nei 3000 skirtingų EA, iš kurių tik apie dešimtadalį svarbūs farmacijos, maisto ir kosmetikos pramonėje [2]. Eukaliptų, pipirmėčių, anyžių, šalavijų, gvazdikėlių, arbatmedžių EA yra naudojami farmacijoje kaip vaistiniai preparatai. Šie EA naudojami kosuliui, bronchitui gydyti, taip pat kaip antimikrobiniai agentai. Dėl antiseptinių ir analgetinių savybių gvazdikėlių EA naudojamas odontologijoje, o arbatmedžių EA dėl antibakterinių savybių – dermatologijoje aknei gydyti. Be to, kai kurie EA farmaciniuose preparatuose naudojami kaip kvapą ar skonį suteikiančios medžiagos. Jie taip pat naudojami vaistiniuose tepaluose, kremuose, kompresuose [3].

Konditerijos gaminiuose, gaiviuosiuose gėrimuose EA yra plačiai naudojami kaip kvapą ir skonį suteikiančios medžiagos. EA pasižymi ir antibakterinėmis, antipelėsinėmis, antioksidacinėmis savybėmis [95, 96], todėl siūloma juos naudoti kaip natūralius antioksidantus ir konservantus maiste ar maistinėse pakuotėse [69, 97, 98].

1.2. Sulfatograpių turintys polisacharidai ir jų kompleksai

1.2.1. Karageninai ir jų naudojimas kompleksams sudaryti

Karageninai (KARG) yra sulfatograpių turintys linijiniai polisacharidai, sudaryti iš D-galaktopiranozės ir 3,6-anhidrogalaktopiranozės likučių, sujungtų α -1,3- ir β -1,4-glikozidiniais ryšiais [99]. Pagal sulfatograpių kiekį skiriami šie KARG: κ -KARG, turintis vieną sulfatograpię, ι -KARG, turintis dvi sulfatogrupes, ir λ -karageninas (λ -KARG), turintis tris sulfatogrupes (1.7 pav.). Be to, λ -KARG, skirtingai nuo κ -KARG ir ι -KARG, elementariojoje grandyje neturi 3,6-anhidrogalaktopiranozės. Sulfatograpiės κ -KARG, ι -KARG ir λ -KARG sudaro atitinkamai apie 20 %, 33 % ir 41 % [100]. Pramonei svarbių KARG vidutinė molekulinė masė svyruoja nuo 100 iki 1000 kDa [101].



1.7 pav. Struktūrinės formulės: (a) – κ -KARG; (b) – ι -KARG; (c) – λ -KARG [6]

KARG yra išgaunami iš *Rhodophyceae* šeimos raudonųjų jūrų dumblių [102], ekstrahuojant karštais šarmų tirpalais, gryninami ir išdžiovinami. KARG cheminė struktūra ir savybė sudaryti gelį labai priklauso nuo ekstrakcijos temperatūros, trukmės, tirpalų pH vertės ar išankstinio jūrų dumblių paruošimo [103].

Sulfatograpių kiekis daro įtaką KARG savybėms ir taikymui. τ - ir κ -KARG yra tirpūs vandenyje ir linę sudaryti gelio struktūras, todėl maisto pramonėje naudojami kaip stingdikliai ir tirštikliai [104]. O λ -KARG nesudaro gelio struktūros ir paprastai naudojamas tik kaip tirštiklis. τ - ir κ -KARG gebėjimas sudaryti gelio struktūras yra siejamas su elementariojoje grandyje esančia 3,6-anhidrogalaktopiranoze, kurios ${}^1\text{C}_4$ -konformacija yra būtina sąlyga geliui susidaryti [105]. Bendrai priimta, kad KARG gelių susidarymas vyksta dviem stadijomis [6]. Pirmojoje stadijoje iš makromolekulių raizginėlio susiformuoja spiralės, kurių struktūrą stabilizuoja vandeniliniai ryšiai. Šis virsmas priklauso nuo temperatūros ir tirpale esančių kalio ar kalcio jonų [106]. Sulfatograpių tokiose spiralėse yra nukreiptos į išorę. Antrojoje stadijoje susidaro dvigubos spiralės, kurios ir suformuoja erdvinę KARG gelio struktūrą. Gelio susidarymas yra grįžtamas procesas: gelis pradeda formotis šaldant maždaug 50 °C temperatūroje ir gali vėl suirti pašildžius iki 80–90 °C [6].

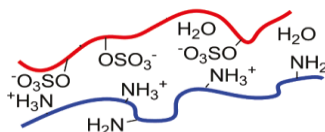
Pastaruoju metu KARG plačiai naudojami kuriant vaistų pernašos sistemas [107]. Patys KARG taip pat pasižymi kai kuriomis medikamentinėmis savybėmis – gali veikti kaip antikoagulantai, imunomodulatoriai, pasižymi priešvėžinėmis, antioksidacinėmis savybėmis [108]. Bendrai priimta, kad KARG nepasižymi toksinėmis ir dirginamosiomis savybėmis: LD_{50} (žiurkės, per skrandį) > 5 g/kg, LD_{50} (triušiai, per odą) > 2 g/kg [109].

1.2.1.1. Karageninų polielektrolitų kompleksai su kitais polimerais

Polielektrolitų kompleksai (PK) susidaro vandeniniuose tirpaluose dėl elektrostatinės sąveikos tarp priešingų ženklų krūvio grupių turinčių polimerų [7]. Pagrindinė PK susidarymo paskata yra sistemos entropijos padidėjimas dėl priešjonių atpalaidavimo į tirpalą ir priklauso nuo polimerų krūvio tankio, molekulinės masės, teigiamųjų ir neigiamųjų krūvių santykio, polimerų supylimo eiliškumo, maišymo intensyvumo, tirpalo joninės jėgos [110, 111]. PK santykinai gali būti suskirstyti į tris grupes: tirpūs PK, t. y. homogeninės sistemos, sudarytos iš makromolekulių agregatų [112]; drumstos, stabilios koloidinės PK nanodalelių suspensijos, kurios susidaro esant tam tikroms kompleksų formavimo sąlygoms [113]; dvifazės sistemos, kuriose PK yra nuosėdos [114]. Koloidinėms PK suspensijoms gauti būtina naudoti labai praskiestus kompleksą formuojančių polimerų tirpalus ir nestechiometrinį priešingų ženklų krūvio grupių santykį. Nestechiometriniai nanodalelių PK yra naudojami mažamolekuliams junginiams imobilizuoti [110] ar dispersinėms sistemoms destabilizuoti [115].

Turėdami sulfatograpių, KARG gali sudaryti PK su teigiamojo krūvio polielektrolitais. Chitozanas (CHT) yra vienintelis gamtinis teigiamojo krūvio grupių turintis polimeras. PK susidaro dėl elektrostatinės sąveikos tarp silpno polielektrolito CHT, jonizuojantis jo pirminėms aminogrupėms, ir stipraus polielektrolito KARG sulfatograpių (1.8 pav.). Priklausomai nuo CHT ir KARG molekulinės masės, molinio santykio, bendrosios koncentracijos, terpės pH vertės ir joninės jėgos, galima gauti tirpius, nanodalelių ar nuosėdų PK [116]. Ypač didelę įtaką CHT/KARG kompleksų pobūdžiui turi terpės pH vertė, nuo kurios pirmiausia priklauso aminogrupių jonizacija ir CHT tirpumas. Rūgštinėje terpėje aminogrupės visiškai jonizuojasi, tarp jų pasireiškia stūmos jėgos, CHT tirpalas yra klampus ir skaidrus. Didėjant terpės pH

vertei, aminogrupių jonizacija mažėja, ir, kai terpės pH vertė yra apie 5, CHT tirpalas pradeda drumstis. O stiprios anijoninės KARG sulfatogrupės yra jonizuotos plačiame pH verčių intervale. Todėl CHT/KARG kompleksų tirpumas susijęs su CHT tirpumu ir kartu terpės pH verte [117]. Kai terpės pH vertė yra mažesnė už 3,5, gaunami tirpūs PK, o pH verčių intervale nuo 3,5 iki 6,5 CHT/KARG PK iškrinta nuosėdomis.

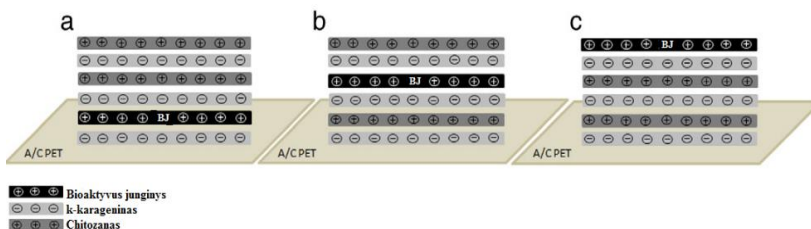


1.8 pav. PK iš CHT ir KARG susidarymas vandeniniuose tirpaluose dėl elektrostatinės sąveikos

Pastaruoju metu ypač daug dėmesio skiriama CHT/KARG nanokompleksams. Šie PK gaunami praskiestuose tirpaluose, o gautų dalelių paviršiaus krūvio ženklas priklauso nuo CHT ir KARG masių santykio ir tirpalų supylimo eiliškumo [118]. Teigiamojo krūvio nanodalelės (+60 mV, 500 nm) gautos praskiestą KARG tirpalą lašinant į CHT tirpalą. Dar mažesnės PK dalelės buvo gautos suformuotus CHT/ κ -KARG PK sutinklinus natrio tripolifosfatu (NaTPF) [119]. CHT/ κ -KARG/NaTPF dalelės, palyginti su netinklomis, buvo mažesnės, gauta didesnė išeiga, jos pasižymėjo didesniu stabilumu saugant.

CHT ir skirtingų KARG kompleksai buvo panaudoti trimetazidino hidrochlorido (TMZC), kaip modelinio vaisto, kontroliuojamam atpalaidavimui [120]. Tyrimai parodė, kad, TMZC turinčias CHT/KARG tabletes perkėlus iš modelinės skrandžio terpės į modelinę žarnyno terpę, *in situ* tabletės paviršiuje formavosi PK plėvelė, kuri papildomai keitė vaisto atpalaidavimo greitį. Be to, CHT/ λ -KARG PK pasižymėjo geresnėmis kontroliuojamo TMZC atpalaidavimo savybėmis nei CHT/ κ -KARG ar CHT/ ι -KARG PK nanodalelės.

Iš CHT ir KARG gali būti formuojami daugiasluoksnių nanodangų PK [121, 122]. CHT/ κ -KARG nanodanga, įmirkymo būdu suformuota ant polietilenteraftalato (PET), buvo 171 nm storio ir, palyginti su CHT ir κ -KARG paprastu mišiniu, pasižymėjo geresnėmis vandens garų, deguonies barjerinėmis ir mechaninėmis savybėmis [121]. CHT/ κ -KARG daugiasluoksnės nanodangos gali būti naudojamos biologiškai aktyviems junginiams imobilizuoti. Tokio tipo dangoms įvertinti buvo panaudotas modelinis biologiškai aktyvus junginys – metileno mėlynasis (MB) [122]. Daugiasluoksnės nanodangos pagrindą sudarė modifikuotas PET, turintis teigiamąjį krūvį. Ant jo suformuoti 5 polisacharidų sluoksniai: 2 sluoksniai CHT ir 3 sluoksniai κ -KARG. MB imobilizuotas į antrą, ketvirtą ir šeštą sluoksnius (1.9 pav.). Tiriant atpalaidavimą, nustatyta, kad iš vidinių sluoksnių MB atpalaiduojamas daug lėčiau. Tokio tipo dangos galėtų būti naudojamos maisto produktams (vaisiams, daržovėms, sūriams) padengti.



1.9 pav. Daugiasluoksėnė CHT/ κ -KARG nanodanga su imobilizuotu biologiškai aktyviu junginiu MB sluoksnyje: *a* – 2-ajame; *b* – 4-ajame; *c* – 6-ajame [122]

Kitas gamtinis polimeras, galintis sudaryti PK su KARG, – želatina, turinti daug aminogrupių [123]. Želatina turi aukštesnę lydymosi temperatūrą, todėl gauti PK pasižymi didesniu terminiu stabilumu nei PK su vienu KARG. Gauti PK buvo panaudoti kvercetinui imobilizuoti. *In vivo* ir preliminarūs *in vitro* tyrimai parodė, kad tokie kompleksai gali būti naudojami akių vaistų formoms kurti [124]. Dul ir kt. [125] suformavo nanodydžio dalelių KARG ir protaminų (PROT) PK. Gautų PK savybės priklausė nuo naudoto KARG (κ -, ι - ar λ -KARG) ir jo koncentracijos, divalenčių metalų katijonų priedo, komplekso komponentų masių santykio ir supylimo eiliškumo. 0,1 % tirpaluose mažiausios PK dalelės buvo gautos su ι -KARG (100–150 nm, polidispersiškumo indeksas 0,1–0,4). 0,05 % tirpaluose buvo suformuotas ir nanodalelių dydžio κ -KARG/PROT kompleksas. Suformuotų PK nanodalelių krūvis, priklausomai nuo kompleksą sudarančių polimerų santykio, buvo nuo –190 iki +40 mV. Gautų PK nanodalelių suspensijų stabilumas saugant priklausė nuo nanodalelių krūvio ženklų ir terpės pH vertės.

1.2.1.2. Karageninų kompleksai su mažamolekuliais junginiais

KARG, kaip gamtiniai polimerai, pasižymi geru biologiniu suderinamumu, todėl plačiai naudojami farmacinių formų kūrimo procese: pagerinti vaistų sudėčiai, pailginti vaistų atpalaidavimui ar sukurti vaistų pernašos sistemoms, jautrioms terpės pH ar temperatūrai [6]. Vaistų atpalaidavimo iš KARG turinčių farmacinių formų greitis priklauso nuo norimo rezultato, pavyzdžiui, per burną vartojami vaistai gali būti atpalaiduojami iškart, t. y. atpalaidavimas gali būti nulinės eilės [100], ar būti pailginto atpalaidavimo, trunkančio 24 val. [126]. Vaistų atpalaidavimo ypatybės priklauso tiek nuo naudojamo KARG, tiek nuo kitų farmacinės formos sudėtinųjų dalių. KARG turinčios farmacinės formos pradėtos naudoti akims [124], makščiai [127] gydyti, vis plačiau taikomos žaizdų gijimą skatinantiems preparatams kurti [128].

Vandeninėje terpėje KARG pasižymi unikalia erdvine struktūra, būtina vaistams atpalaiduoti. Hidratacija prasideda nuo išorinių tabletes sluoksnių. Taip susidaro išorinis gelio (κ - ar ι -KARG atveju) arba klampus (λ -KARG atveju) sluoksniu, kuris supa nehidratuotą branduolį [100]. Gelio pavidalo ar klampus sluoksniu yra tarsi polimerinis apvalkalas, kontroliuojantis vaistų atpalaidavimą, apsaugantis nuo farmacinės formos erozijos, ypač labai rūgščioje terpėje. Vaistų atpalaidavimo greitis priklauso nuo KARG rūšies. Greičiausiai vaistai atpalaiduojami iš κ -KARG turinčių vaistinių formų dėl greitesnio κ -KARG brinkimo ir suirimo [129]. Kita paprasta, bet svarbi KARG savybė yra ta, kad jie gali absorbuoti didelį kiekį

vandens ir taip pagerinti vaistų tirpumą, biologinį prieinamumą vartojant per burną [6], pvz., netirpūs vaistai, κ -KARG turinčioms piliulėms suirus, vandenyje pasklido ir ištirpo greičiau nei per 20 min. [129].

Turėdami stiprių anijoninių sulfatograpių, KARG gali sudaryti joninius kompleksus su mažamolekuliais junginiais, pavyzdžiui, teigiamojo krūvio grupių turinčiais vaistais. Tokiu būdu suformuotos vaistų pernašos sistemos turi pranašumų: galima imobilizuoti didesnę kiekį vaistinio preparato, padidinti jo tirpumą, užtikrinti pailgintą vaisto atpalaidavimą, padidinti jo biologinį prieinamumą ir efektyvumą [6, 107, 120, 124].

κ -, ι - ir λ -KARG buvo panaudoti kompleksams su doksazocino metansulfoninės rūgšties druska (DM) sudaryti [126, 130]. Nustatyta, kad sąveika tarp DM ir KARG yra kooperatyvi, t. y. pradžioje DM yra sujungiamas į kompleksą dėl stiprios elektrostatinės sąveikos, o po to vyksta savaiminė DM asociacija išilgai KARG makromolekulių grandinės dėl hidrofobinės sąveikos [126]. Sąveikos tarp DM ir KARG intensyvumas ir kartu DM atpalaidavimo iš komplekso greitis priklausė nuo sulfatograpių skaičiaus KARG elementariojoje grandyje ir pagal tai KARG išsidėstė šia tvarka: κ -KARG > ι -KARG > λ -KARG. Linijinis neigiamųjų krūvių tankis λ -KARG makromolekulėje yra didžiausias, todėl ir sąveika su vaisto molekulėmis yra stipriausia. Dzeta potencialo matavimai parodė, kad dėl stiprių sąveikos jėgų kompleksas iš λ -KARG ir DM gali formuotis *in situ* atpalaidavimo terpėje ir būtent tai lemia pailgintą DM atpalaidavimą [130]. Atpalaidavimo terpės pH vertės ir joninės jėgos pasikeitimas ekranuoja polielektrolito jonogenines grupes, slopina vaisto sąveiką su polimeru ir taip skatina DM atpalaidavimą. Vaisto atpalaidavimui ne mažiau svarbus yra tablečių suirimo greitis, kuris taip pat priklauso nuo KARG rūšies [130]. Tabletės, turinčios κ -KARG, visiškai suiro per 8 val., tačiau per tą patį laiką suiro tik 83 % ι -KARG ar λ -KARG tabletės. Tablečių suirimo laipsnis yra siejamas su vandens sorbcija, o ši – su KARG sulfatograpių kiekiu, todėl jis mažėja šia tvarka: κ -KARG > ι -KARG > λ -KARG.

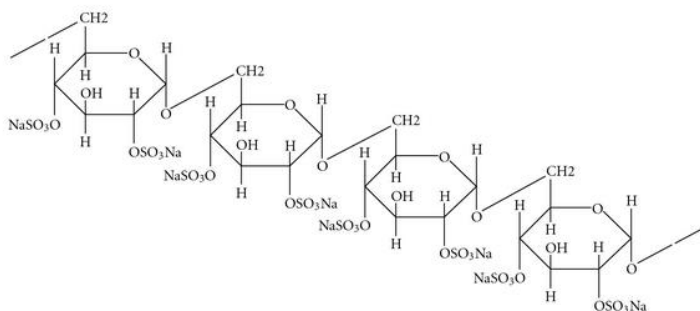
Bonferoni ir kt. [124, 131, 132] tyrė kompleksų susidarymą iš λ -KARG ir diltiazemo hidroklorido (DT). Buvo ruošiamos tabletės, turinčios DT, λ -KARG, hidroksipropilmetilceliuliozės (HPMC) bei laktozės, ir tiriamas kompleksų susidarymas *in situ* atpalaidavimo terpėje, arba kompleksas iš λ -KARG ir DT buvo sudaromas iš anksto ir tada formuojama tabletė. Kai λ -KARG ir DT turinti tabletė patenka į atpalaidavimo terpę, tabletės paviršiuje formuojasi λ -KARG/DT kompleksas, todėl DT difuzija į terpę sumažėja ir vyksta tik dėl tabletės erozijos [131]. Šiuo atveju sąveika tarp λ -KARG ir DT nepriklausė nuo terpės pH vertės intervale nuo 1,8 iki 6,8, tačiau labai priklausė nuo terpės joninės jėgos. Tačiau terpės pH vertė neturėjo didelės įtakos DT atpalaidavimui iš tablečių su jau suformuotu λ -KARG/DT kompleksu. DT iš tokių kompleksų atpalaiduojami tik per daugiau kaip 20 val. [124]. Autoriai pabrėžė, kad šis faktas labai svarbus vartojant vaistus per burną, kai jie patenka į virškinamąjį traktą, kurio skirtingose vietose terpės pH vertės skiriasi. Kompleksų iš λ -KARG ir teigiamojo krūvio grupių turinčių vaistų susidarymas ir stabilumas taip pat priklauso nuo vaisto savybių. Metoprololtartratas iš komplekso su λ -KARG buvo atpalaiduotas greičiau nei DT, nes yra tirpesnis vandenyje [132].

Kitas KARG ir vaisto kompleksų privalumas yra didesnis imobilizuoto vaisto kiekis. Daniel-da-Silvos ir kt. darbe [133], taikant atvirkštinių emulsijų ir temperatūra inicijuoto gelių formavimo techniką, buvo gauti nanodalelių dydžio (<100 nm) κ -KARG hidrogeliai. Jie buvo panaudoti metileno mėlynajam dažikliui, kaip modeliniam katijoniniam junginiui, imobilizuoti. Tyrimai parodė, kad, κ -KARG kiekį nanogelyje padidinus nuo 1 iki 4 %, į kompleksą sujungto dažiklio kiekis padidėja dvigubai.

Dėl elektrostatinės sąveikos tarp KARG ir vaistų padidėja vaistų tirpumas. Komplexas iš mažai vandenyje tirpaus piperidino ir piridino junginio ir λ -KARG buvo gautas vandeninėje terpėje, kurios pH vertė 1,2 [134]. Junginio tirpumas padidėjo nuo 1 iki 39 $\mu\text{g/ml}$, autorių nuomone, dėl to, kad sujungtas į kompleksą vaistas tampa amorfinės būsenos. Su tolterodino L-tartrato perėjimu į amorfinę būseną kompleksuose su λ -KARG yra siejamas jo tirpumo padidėjimas [100].

1.2.2. Dekstrano sulfatas ir jo naudojimas kompleksams sudaryti

Dekstrano sulfatas (DESU) yra anijoninis polisacharidas, gaunamas modifikuojant dekstraną piridino ir sieros trioksido kompleksu [135]. DESU sudarytas iš linijinių ir šakotųjų makromolekulių, sujungtų atitinkamai α -1,4- ir α -1,6-gliukozidiniais ryšiais. Kiekviename gliukopiranozės likutyje vidutiniškai yra po dvi sulfatogrupes prie C2 ir C4 atomų (1.10 pav.). DESU molekulinė masė priklauso nuo paskirties ir gali būti nuo 5000 (maža molekulinė masė) iki 500 000 (didelė molekulinė masė) [135].

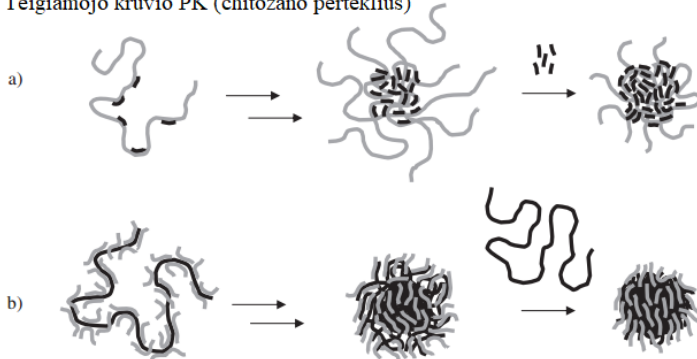


1.10 pav. DESU natrio druskos struktūrinė formulė

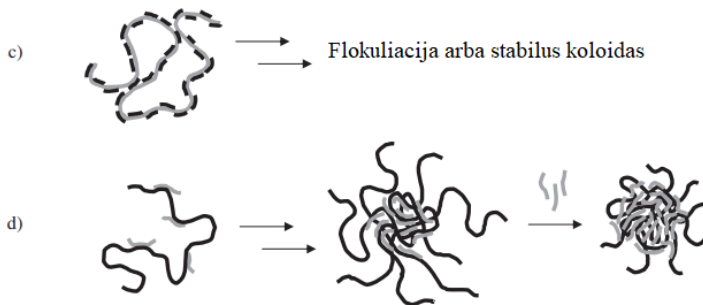
Nuodugniau ištirti ir aprašyti yra DESU ir CHT PK, kurie, kaip ir KARG ir CHT PK, susidaro dėl elektrostatinės sąveikos tarp DESU sulfatogrupių ir jonizuotų CHT aminogrupių. DESU/CHT kompleksų pobūdis labai priklauso nuo jų molekulinės masės [136, 137]. Kai didelės molekulinės masės polijonų tirpale yra perteklius (šeimininkas), palyginti su mažesnės molekulinės masės priešingo ženklo krūviu polijonų (svečias) kiekiu, dėl krūvių neutralizacijos susiformuoja neutralūs šeimininko-svečio tipo PK segmentai, kurie po to agreguojasi ir sudaro PK dalelių branduolį, o polijono perteklius – išorinį branduolio apvaskalą (1.11 pav., *a* ir *d*) [138]. Tačiau toks modelis netinka, kai yra mažos molekulinės masės polijono perteklius. Tokiu atveju PK susidarymas turi būti siejamas su mažos molekulinės masės polimero

galimybe neutralizuoti didelės molekulinės masės polimero krūvį. Dėl β -1,4-glikozidinių ryšių mažos molekulinės masės CHT grandys yra standesnės nei mažos molekulinės masės DESU grandys, sujungtos α -1,4-glikozidiniais ryšiais. Todėl mažos molekulinės masės CHT sunkiau neutralizuoti visus didelės molekulinės masės DESU krūvius – nepasiekiamas makromolekulių komplementarumas (1.11 pav., *b*). Taip gaunamos stabilios PK koloidinės dalelės. O mažos molekulinės masės DESU perteklius gali visiškai neutralizuoti didelės molekulinės masės CHT makromolekulės teigiamąjį krūvį, ir dėl elektrostatiinių traukos jėgų susidaro dribsnių pavidalo PK (1.11 pav., *c*).

Teigiamojo krūvio PK (chitozano perteklius)

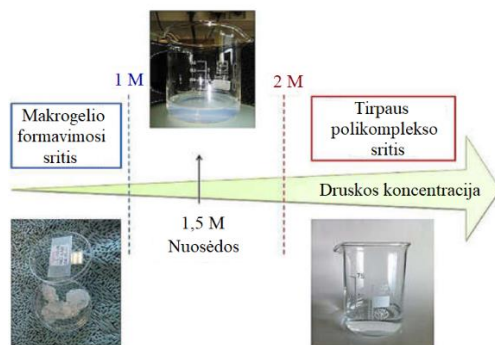


Neigiamojo krūvio PK (dekstrano sulfato perteklius)



1.11 pav. PK iš CHT (--) ir DESU (--) susidarymas esant skirtingai jų molekulinei masei (MM): *a* ir *c* – didelės MM CHT ir mažos MM DESU; *b* ir *d* – didelės MM DESU ir mažos MM CHT [138]

Daugiausia dėmesio yra skiriama stabilių nanodalelių dydžio CHT/DESU kompleksų suspensijoms gauti. Costalat ir kt. [7] tyrime norimo dydžio CHT/DESU nanodalelės buvo gautos į tirpalą pridėjus NaCl (1.12 pav.). Kai NaCl koncentracija komplekso formavimo tirpale buvo 2 mol/l ar didesnė, susidarė tirpūs CHT/DESU kompleksai. Gautus PK tirpalus dializuojant, t. y. iš jų pašalinus NaCl, susidarė netirpus, stabilus saugant nanodalelių PK koloidas.



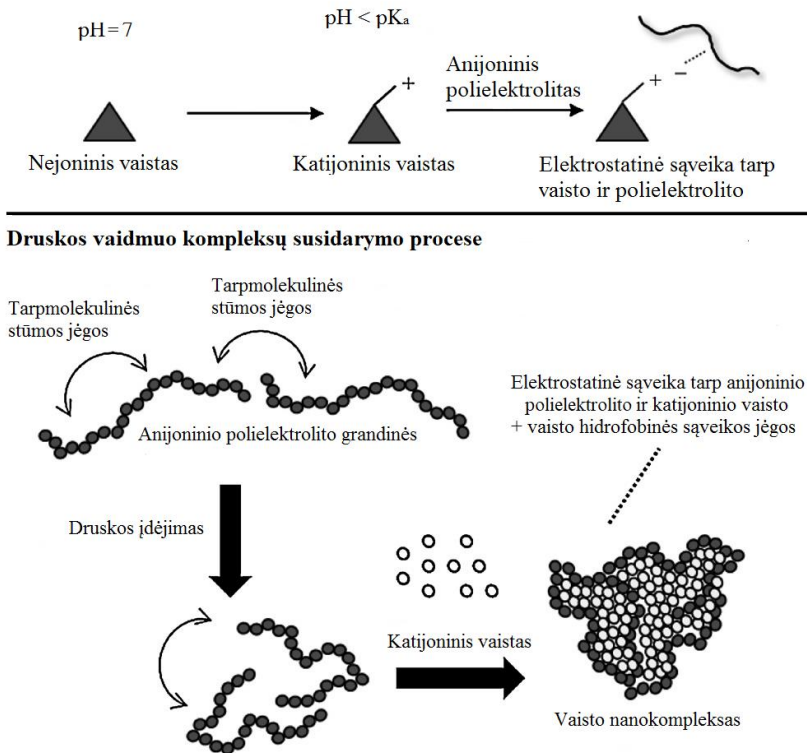
1.12 pav. NaCl koncentracijos įtaka tirpale susidariusio CHT/DESU PK pavidalui [7]

CHT/DESU nanodalelės panaudotos biologiškai aktyviai medžiagai kurkuminui imobilizuoti [139]. Kurkumino turinčios 200–220 nm dydžio neigiamojo krūvio nanodalelės buvo gautos su 74 % išeiga. Per 120 val. iš šių dalelių buvo atpalaiduota apie 70 % kurkumino. Autoriai konstatavo, kad CHT/DESU kompleksai gali būti sėkmingai naudojami hidrofobiniams vaistams imobilizuoti. CHT/DESU nanodalelės panaudotos metotreksatui – vaistui, skirtam smegenų vėžiui gydyti, – imobilizuoti ir atpalaiduoti [140] bei insulinui sujungti [141]. Buvo iširtas insulino imobilizavimo ir atpalaidavimo modelinėje skrandžio terpėje efektyvumas, jis palygintas su CHT ir alginato PK efektyvumu. Nustatyta, kad CHT/DESU efektyviau sujungia insuliną ir pailgina jo atpalaidavimą.

DESU ir polietilenimino nanokompleksai panaudoti granatų vaisių žievės ekstraktui, skirtam burnos gleivinei dezinfekuoti, imobilizuoti [142]. Optimaliomis PK sudarymo sąlygomis buvo gautos apie 500 nm dydžio teigiamojo krūvio kompleksų dalelės su 98 % vaistinės medžiagos imobilizavimo išeiga. Buvo stebimas pailgintas ekstrakto atpalaidavimas iš šių dalelių su pradiniu staigiu, 5 min. trunkančiu didesnio kiekio atidavimu. Atpalaiduotas ekstraktas pasižymėjo antimikrobinu poveikiu burnos bakterijoms. Nimesho ir kt. [143] tyrime buvo suformuoti DESU, polialilamino (PAA) ir DNR nanokompleksai. Autoriai pabrėžia, kad tokie PK gaunami vandeninėje terpėje su daugiau kaip 93 % išeiga. Buvo palygintas PAA/DESU/DNR, PAA/DNR ir DNR kompleksų su pramoniniu preparatu lipofektinu veiksmingumas, transformuojant genus į HEK 293 ląsteles *in vitro*, ir nustatyta, kad PAA/DESU/DNR kompleksai yra veiksmingiausi, ypač kai PAA ir DESU santykis yra 2.

DESU gali sudaryti joninius kompleksus su mažamolekuliais teigiamojo krūvio grupių turinčiais junginiais. DESU buvo panaudotas kompleksams su antibiotikais – ofloksacinu (OFX), levofloksacinu (LEV) [8] ar ciprofloksacinu (CIP) [144] – sudaryti. Rūgštinėje terpėje OFX, LEV ar CIP jonizuojasi, tampa katijonais ir dėl elektrostatinės sąveikos sudaro joninį kompleksą su DESU. Esant tam tikrai kritinei koncentracijai, kuri priklauso nuo vaisto hidrofobiškumo, tarp išilgai DESU makromolekulės išsidėsčiusių vaisto molekulių atsiranda hidrofobinė sąveika [8]. Susidaro vaisto ir DESU kompleksų nanodalelės. Jos yra stabilizuojamos išorėje išsidėsčiusių DESU makromolekulių (1.13 pav.). DESU ir LEV, pasižyminčių

didesniu hidrofobiškumu, komplekso susidarymas buvo efektyvesnis nei DESU/OFX komplekso [8]. DSK tyrimai parodė, kad dėl elektrostatinės sąveikos kompleksas susidaro labai greitai, todėl antibiotikai komplekse yra amorfinės fazinės būsenos, skirtingai nuo kristalinės pradinių antibiotikų fazinės būsenos. Iš susidariusių kompleksų antibiotikai į druskų tirpalus buvo visiškai atpalaiduoti per 3 val. ir išsaugojo antimikrobinį efektyvumą [8]. Tirpale esančio elektrolito koncentracija turėjo įtakos DESU ir vaisto komplekso nanodalelių susidarymui. Esant nedidelei NaCl koncentracijai buvo gautos smulkesnės ir tolygesnės DESU/CIP komplekso nanodalelės [144]. Be to, kompleksas susidarė platesniame molinių santykių intervale, palyginti su komplekso susidarymu tirpale be elektrolito.



1.13 pav. DESU ir antibiotikų kompleksų susidarymas dėl elektrostatinės sąveikos ir savaiminės agregacijos druskų tirpaluose [8]

Naudojant CIP, kaip modelinį vaistą, buvo palygintas DESU ir κ -KARG, kaip kompleksą sudarančių polielektrolitų, efektyvumas [145]. CIP/DESU ir CIP/ κ -KARG amorfiniai nanodalelių kompleksai susidarė esant panašioms reaguojančių medžiagų moliniams santykiams ir tirpalo joninei jėgai. Tačiau κ -KARG, kaip kompleksą sudarančio polimero, efektyvumas buvo mažesnis, jis sujungė mažiau CIP, buvo gautos mažesnės komplekso dalelės, palyginti su CIP/DESU kompleksu. Mažesnė CIP/ κ -KARG kompleksų išeiga yra aiškinama mažesniu κ -KARG neigiamųjų krūvių tankiu, didesniu hidrofobiškumu ir standesnėmis, palyginti su DESU, makromolekulėmis.

1.3. Veikliųjų pakuočių kūrimas ir naudojimas

Veikliųjų pakuočių gamyba yra naujosios kartos pakavimo medžiagų ir pakuočių kūrimo technologija. Pakuotėje esančios aktyviosios medžiagos gali išsaugoti supakuotų maisto produktų kokybę, išskirdamos arba absorbuodamos medžiagas, sąveikaujančias su pakuotėje esančiu maistu ir jo aplinka [9]. Pagal veikimą veikliosios pakuotės skirstomos į deguonies arba etileno neutralizatorius, kvapų, drėgmės absorbentus, antimikrobines, antioksidacines pakuotes. Aktyvieji junginiai gali būti įterpiami į skirtingas pakuočių vietas: plėveles, dangas, etiketes, paketėlius, daugiasluoksnes plėveles ir kt [146].

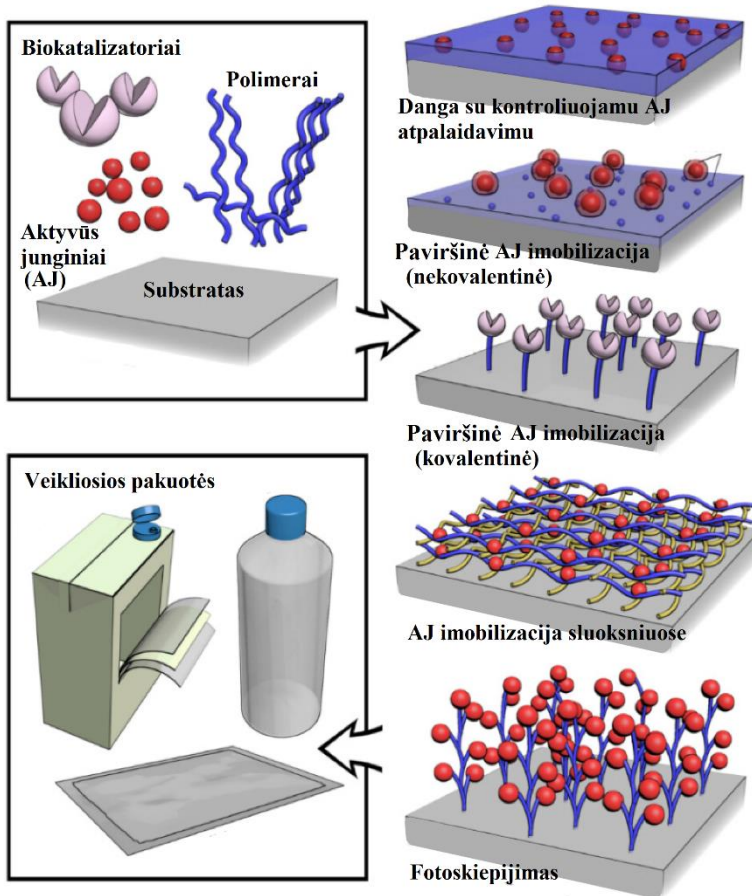
Antimikrobinių ir antioksidacinių savybių maisto pakuotės dažniausiai yra gaunamos arba į polimerinę matricą įterpiant aktyviuosius junginius, arba ant polimerinių substratų formuojant dangas [147]. Pagrindiniai aktyviųjų junginių įterpimo į polimerinę matricą būdai yra ekstruzija ir tirpalo liejimas [148, 149]. Taikant liejimo būdą, aktyvusis junginys turi ištirpti arba būti tolygiai disperguotas polimero tirpale. Iš gauto polimero ir aktyviojo junginio mišinio, tirpikliui išgaravus, susiformuoja plėvelė. Ekstruzijos būdu aktyvioji polimerinė medžiaga pakuotei gaunama aktyvųjų junginių kaitinant kartu su polimero lydalu. Šis būdas turi trūkumų, nes aukštoje temperatūroje aktyvieji junginiai garuoja, sumažėja jų stabilumas [151]. Be to, papildomų problemų kelia netolygus aktyviojo junginio pasiskirstymas mišinyje. Tirpalų liejimo metodas, plačiai taikomas laboratorijose, taip pat turi trūkumų, kai yra taikomas gamyboje. Dauguma polimerų, naudojamų maistui pakuoti, tirpsta tik organiniuose tirpikliuose, esant aukštai temperatūrai [150], kuri turi neigiamą poveikį aktyviųjų junginių stabilumui ir veiksmingumui. Dėl šios priežasties aktyvieji junginiai dažniausiai įterpiami į biologiškai skaidžių polimerų, pavyzdžiui, poli(pieno rūgšties), poli(butilen-adipato-ko-tereftalato), celiuliozės darinių, dangas [148]. Į polimerinę matricą imobilizavus net mažą kiekį priedų, gali pasikeisti medžiagos mechaninės (stipris tempiant, tampros modulis, santykinė ištįsa trūkio metu), terminės (lydymosi temperatūra, stiklėjimo temperatūra, kristalizacijos temperatūra, šiluminė talpa), barjerinės (vandens garų, O₂ ir CO₂ pralaidumas) plėvelių savybės [148, 151]. O dangų suformavimas ant pakavimo medžiagos neturi didelės įtakos jos fizikinėms ir cheminėms savybėms. Todėl dangų formavimo ant jau paruoštos plėvelės technologija yra pranašesnė už aktyviųjų junginių įterpimą į pakuotės medžiagą [147].

Aktyvieji junginiai pakuočių dangose gali būti imobilizuojami taikant skirtingas technologijas (1.14 pav.). Kai reikia, kad šie junginiai migruotų į pakuotės vidų, jie imobilizuojami visu dangos tūriu (kontroliuojamas atpalaidavimas) arba paviršiuje (nekovalentinė sąveika) ir išskirtiniais atvejais formuojant kelis dangų sluoksnius (aktyviojo junginio imobilizacija sluoksniuose). O paviršinė imobilizacija (kovalentinė sąveika), imobilizacija sluoksnis po sluoksnio ir fotoskiepytoji technologija taikoma formuojant nemigruojantį aktyvų priedą turinčią maisto pakuotės dangą [147].

Gaminant veikliąją pakuotę, veiklioji danga turi tikti tiesioginiam kontaktui su maistu, turėti geras adhezijos su plėvelės substratu savybes; veiklioji medžiaga turi

suteikti funkcines savybes; veikliosios dangos struktūra turi atitikti maisto produktų pakavimo reikalavimus.

Kontroliuojamo atpalaidavimo dangose aktyvūs priedai yra imobilizuojami polimerinėse matricose, iš kurių jie gali migruoti ir turėti tam tikrą funkcinį poveikį (antimikrobinį, antioksidacinį ir kt.) [152]. Aktyviųjų junginių kontroliuojamas atpalaidavimas priklauso tiek nuo fizikinių, tiek nuo cheminių savybių: aktyviojo junginio ir matricos giminiškumo, dangos morfologijos, akučių dydžio [147, 148]. Be to, aktyviųjų junginių kontroliuojamam atpalaidavimui gali būti formuojamos daugialaminatės sistemos [148, 153].



1.14 pav. Veikliųjų dangų tipai [147]

Imobilizuojant aktyviuosius junginius ant pakavimo medžiagos paviršiaus nekovalentinėmis arba kovalentinėmis sąveikos jėgomis, reikalinga paviršiaus modifikacija. Paviršius gali būti aktyvuojamas fizikiniu ir „šlapiuoju“ būdu. Fizikiniai būdai – liepsnos, UV spinduliuotės, vainikinio išlydžio, plazmos panaudojimas. Taikant „šlapiąjį“ būdą, naudojami polimero koroziją sukiantys skysčiai: vandenilio peroksido ir sieros rūgšties mišinys, natrio hidroksido ir sieros rūgšties, chromo

rūgštis, kalio permanganato ir azoto rūgštis mišiniai. Paviršius aktyvuojamas susidarant karbonil-, hidroksi- ir karboksigrupėms [154, 155]. Pramonėje polimerinių pakavimo medžiagų paviršiu aktyvuoti taikomas vainikinio išlydžio metodas, naudojama atmosferinė ar vakuuminė plazma. Taip nuo polimerinės plėvelės paviršiaus pašalinami teršalai, padidinama paviršiaus energija, drėkumas ir sujungtų deguonies atomų kiekis [156]. Nekovalentinė aktyviųjų junginių imobilizacija paremta elektrostatine sąveika bei substrato ir aktyvaus priedo giminiškumu. Šiuo atveju polimero paviršius, turėdamas tam tikrą krūvį, pritraukia priešingo ženklo krūvio molekules [155]. O kovalentinė sąveika susidaro tarp ligando ir akceptoriaus. Kovalentiškai imobilizuoti aktyvieji junginiai nemigruoja į pakuotę.

Formuojant dangas sluoksniuose po sluoksnio, aktyvieji junginiai imobilizuojami polielektrolitų (baltymų, polisacharidų, sintetinių polimerų) sluoksniuose. Sluoksniai gaunami įmirkant substratą polielektrolito tirpale ar jį purškiant ant substrato paviršiaus [157]. Formuojant veikliąsias dangas fotoskiepėjimo būdu, prie polimero grandinės priskiepijami monomerai, naudojant iniciatorius ir UV spinduliuotę [158].

Plačiausiai aprašytos ir perspektyviausios yra veikliosios pakuotės, pasižyminčios antioksidacinėmis ir antibakterinėmis savybėmis. Lyginant su sintetinėmis aktyviosiomis medžiagomis, natūralūs aktyvieji junginiai yra patrauklūs dėl saugumo žmogui ir aplinkai [159]. Tyrimai parodė, kad natūralių junginių iš prieskoninių ir vaistinių žolelių ar kitų augalų imobilizavimas į pakuočių plėveles ar dangas suteikia pakuotei funkcinių savybių [160]. Veikliosios dangos dažniausiai yra užnešamos ant polimerinių plėvelių iš polietileno (PE), polipropileno (PP), mažo tankio polietileno (LDPE), polietilentereftalato (PET), poli(pieno rūgšties) (PLA), poliamido (PA), polistireno (PS), poli(vinilo alkoholio) (PVOH) ir kt. plėvelių [147].

Europos patente [161] aprašytas EA turinčių akrilinių, vinilinių ar nitroceliuliozės dangų suformavimas ant polimerinių plėvelių ir jų savybės. Monso ir kt. [162] ištyrė vienos iš patentuotų dangų antigrybelinį poveikį skirtingoms *Aspergillus* ir *Penicillium* rūšims. Nustatyta, kad 4 % ir 6 % cinamono EA turinti danga ant PP (2,50 g/m² aktyviojo junginio) visiškai stabdė pelėsių augimą. Valderrama-Solano ir kt. [163] suformavo čiobrelių ir raudonėlių EA turinčias dangas ant LDPE plėvelės ir difuzijos į agarą metodu nustatė jų antimikrobinį poveikį *E. coli*, *S. Typhimurium* ir *L. monocytogenes*. 4 % EA turinti danga ant LDPE pasižymėjo geru antigrybeliniu veiksmingumu ir nepakeitė plėvelės mechaninių savybių.

Corlini ir kt. [164] suformavo antioksidacinių savybių turinčią dangą, purkšdami citrinų aliejų ant PET indelio. Tokioje pakuotėje laikant kalakutieną, antioksidacinis EA poveikis išliko 6 mėn. [165]. Bolumaras ir kt. [166] padengė LDPE vyniojamą plėvelę rozmarinų ekstraktu ir nustatė, kad, joje laikant vištienos dešreles, sumažinama lipidų oksidacija.

Garcesas ir kt. [167] patentavo antioksidacinę dangą, sudarytą iš polimerų mišinio ir augalų ekstraktų. Tokia antioksidacinė pakuotė gali sujungti laisvuosius radikalus pakuotės viršerdvėje, nesant tiesioginio kontakto su maistu [168, 169, 170]. Rozmarinų, raudonėlių ekstraktų ar jų EA turinčios veikliosios pakuotės buvo panaudotos šviežiai avienai [171], jautienai [172, 173] ar arklienai [174] apsaugoti nuo lipidų oksidacijos ir spalvos pokyčių. Nustatyta, kad raudonėlių ekstrakto turinti pakuotė pasižymėjo geresnėmis antioksidacinėmis savybėmis nei turinčioji rozmarinų

ekstrakto [171]. Raudonėlių ekstraktas buvo panaudotas pakuotėse šviežios jautienos tinkamumo vartoti trukmei pailginti. Raudonėlių ekstrakto turinti pakuotė sumažino arklienos lipidų ir baltymų oksidaciją [174]. Rozmarinų ekstraktas buvo imobilizuotas į 3 sluoksnių PP plėvelę ir ši panaudota šviežiai jautienai pakuoti. Jautienoje, supakuotoje veiklojoje pakuotėje, po 14 dienų oksiduotų lipidų buvo gerokai mažiau nei kontroliniame bandinyje [173].

Polimerai iš atsinaujinančių šaltinių kelia didelį susidomėjimą dėl savo biologinio skaidumo ir saugumo žmogui [175]. Tačiau iš biopolimerų pagamintos pakavimo medžiagos turi trūkumų. Visų pirma, biopolimerai yra kur kas brangesni nei sintetiniai. Antra, plėvelės iš biopolimerų pasižymi prastomis mechaninėmis savybėmis. Mechaninėms savybėms pagerinti gaminant plėveles biopolimerai maišomi su kitomis medžiagomis (sintetinėmis ar natūraliomis), dedama plastifikatorių ar biopolimerai yra chemiškai modifikuojami [175].

Tyrimai parodė, kad EA gali būti imobilizuojami į chitozano [176], κ-karagenino [177, 178], celiuliozės [179] ar krakmolo [180] darinių pagrindu pagamintas plėveles ar dangas. Eugenolio turinčios chitozano nanodalelės ekstruzijos būdu buvo įterptos į termoplastinį krakmolą, suteikiant bioplastikui stiprias antioksidacines savybes [180]. Shojaee-Aliabadi ištyrė, kad mėtų ir daržinių dašių EA, kaip natūralūs antioksidantai ir antimikrobinės medžiagos, gali būti panaudoti karagenino plėvelėse, apsaugančiose maisto produktus nuo oksidacijos ar mikrobiologinio užterštumo [177, 178]. Cinamono ar gvazdikėlių EA turinčios celiuliozės plėvelės pasižymėjo antioksidacinėmis savybėmis, nustatytomis DPPH metodu, ir slopino lipidų oksidaciją sojų pupelių aliejuje [181]. Teixeira ir kt. perdirbo jūrų gėrybių atliekas ir jų baltymus panaudojo biologiškai skaidžių plėvelių gamyboje. Gvazdikėlių, imbierių ar raudonėlių EA turinčios jūrinių lydekų baltymų plėvelės pasižymėjo tiek antibakterinėmis, tiek antioksidacinėmis savybėmis [182].

1.4. Darbo tikslo pagrindimas

Iš augalų išgaunami ATC ir EA pasižymi ne tik biologiniu aktyvumu, bet ir didesniu saugumu žmogui bei aplinkai nei sintetinės medžiagos. Tačiau dažnai šių junginių naudojimas yra ribotas: ATC – dėl jų nepatvarumo, o EA – dėl spartaus veikliųjų medžiagų atpalaidavimo [1, 2, 3].

Uogų ekstraktuose esančių ATC stabilumui padidinti literatūroje siūlomi įvairūs metodai. Visų pirma, tai ATC imobilizavimas įvairiuose nešikliuose, kurie apsaugo ATC molekules nuo fizinių ir cheminių veiksnių poveikio. Pagrindiniai siūlomi ATC imobilizavimo polimeriniuose nešikliuose metodai yra purkštuvinis džiovinimas, liofilizavimas, ekstruzija, koacervacija, liposomų, įtarpos kompleksų, emulsijų sudarymas [59]. Pagrindiniai šių metodų trūkumai yra sudėtinga įranga, didelės gamybos sąnaudos ir ATC nuostoliai. Vienas iš alternatyvių būdų padidinti ATC stabilumą yra joninių ATC flavilio katijono ir anijoninių grupių turinčių polimerų kompleksų sudarymas. Pirmą kartą tokių kompleksų sudarymas aprašytas panaudojus chondroitino sulfatą [5].

Anijoninių sulfatograpių turintys polisacharidai KARG ir DESU dėl elektrostatinės sąveikos gali sudaryti joninius kompleksus su katijoninių grupių turinčiais mažamolekuliais junginiais, tarp jų katijoninių grupių turinčiais vaistinėmis

preparatais. Taip suformuotos vaistų pernašos sistemos turi nemažai pranašumų: galima imobilizuoti didesnę kiekį vaistinio preparato, padidinti jo tirpumą, užtikrinti pailgintą vaisto atpalaidavimą, padidinti jo biologinį prieinamumą ir efektyvumą [107]. Tačiau literatūroje nerasta duomenų apie KARG ar DESU panaudojimą joniniams kompleksams su ATC flavilio katijonu gauti.

Kai kurie EA, pavyzdžiui, bazilikų, citrinžolių, gvazdikėlių, česnakų, raudonėlių, rozmarinų ir čiobrelėlių, efektyviai slopina per maistą plintančių bakterijų augimą [183]. Be to, didžioji jų dalis pasižymi antioksidacinėmis savybėmis ir turi pranašumų prieš sintetinius antioksidantus [89]. EA turinčios dangos, kaip plėvėdary naudojant modifikuotus gamtinius ar sintetinius polimerus, gali būti formuojamos ant maistui skirtų polimerinių plėvelių. Žinant, kad EA yra sudaryti iš lakiųjų junginių, o maistas dažnai pakuojamas taip, kad nebūtų tiesioginio kontakto su viršutine pakuotės dalimi, labai aktualus yra EA garų antioksidacinių ir antimikrobinių savybių įvertinimas.

Todėl šio disertacinio darbo tikslas yra išsaugoti ATC ir EA veikliąsias savybes imobilizuojant juos anijoniniuose polisachariduose. Kaip anijoninius polisacharidus pasirinkus sulfatograpių turinčius DESU, κ -KARG ir ι -KARG, numatoma gauti jų kompleksus su vandeniniame mėlynių ekstrakte esančiais ATC, taip apsaugant flavilio katijoną nuo hidratacijos ir padidinant ATC stabilumą. Netirpiems ATC ir KARG kompleksams gauti bus taikoma ATC adsorbicija tinkliniais KARG dariniais. Bus įvertintas ATC, imobilizuotų kompleksuose su DESU ar KARG, stabilumas ir atpalaidavimas į skirtingos sudėties terpes.

Kitoje darbo dalyje EA imobilizuoti bus panaudoti kontaktui su maistu leidžiami plėvėdariai ir suformuotos dangos ant maistinių polimerinių plėvelių. Imobilizuotų EA antimikrobinės ir antioksidacinės savybės bus įvertintos nesant tiesioginio kontakto tarp plėvelės su veikliąja danga ir tiriamojo substrato, t. y. veikiant dangoje esantiems EA garams.

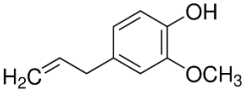
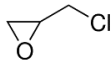
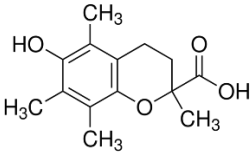
Įvertinus tyrimų rezultatus, bus sukurti tiksliniai ATC ar EA turintys produktai, pasižymintys papildomomis funkcinėmis savybėmis.

2. NAUDOTOS MEDŽIAGOS IR EKSPERIMENTŲ METODIKOS

2.1. Naudotos medžiagos

Vandeniniam mėlynių ekstraktui paruošti buvo naudojamos šaldytos 2014 ir 2015 m. derliaus mėlynių uogos (*Vaccinium myrtillus* L.) „Gardu“, fasuotos UAB „Vėtrija“, kurių kilmės šalis Baltarusija. Kitos pagrindinės tyrimuose naudotos medžiagos yra pateiktos 2.1 lent. Naudotos medžiagos buvo chemiškai grynos ir prieš eksperimentus nebuvo papildomai grynintos.

2.1 lentelė. Tyrimams naudotos medžiagos

Medžiagos pavadinimas (trumpinys), <i>gamintojas ar tiekėjas</i>	Formulė	Pastabos
Dekstrano sulfatas (DESU), <i>Loba Feinchemie</i>	$(C_6H_9NaO_8S)_n$	an. gr.
Kappa karageninas (κ-KARG), <i>Sigma-Aldrich</i>	$(C_{12}H_{18}O_{12}S)_n$	–
Jota karageninas (ι-KARG), <i>Sigma-Aldrich</i>	$(C_{12}H_{17}O_{14}S_2)_n$	–
Celiuliozės acetatas (CA), <i>Sigma-Aldrich</i>	$((C_6H_6O_2(OH))_n(OCOCH_3)_{3-n})$	MM = 30 000; 39,8 % acetilgrupių
Hidroksipropilmetilceliuliozė (HPMC), <i>Sigma-Aldrich</i>	$((C_6H_6O_2(OH))_n(OCH_2CH(OH)CH_3)_{3-n}(OCH_3)_n)$	2 %, klampa 80–120 cP
Hidrofobiškai modifikuotas vaškinių kukurūzų krakmolas (K), <i>Ingredion GmbH</i>	–	–
Gvazdikėlių eterinis aliejus (GV), <i>Sigma-Aldrich</i>	–	–
Eugenolis (EU), <i>Sigma-Aldrich</i>		98 % grynumo
Čiobrelių eterinis aliejus (ČI), <i>Sigma-Aldrich</i>	–	–
Epichlorhidrinas (EPCH), <i>Sigma-Aldrich</i>		98 % grynumo
Troloksas (TE), <i>Sigma-Aldrich</i>		97 % grynumo
Akrilinis plėvedaris (AK) <i>Premo® STAR OPV FDA-WP3P-00AH, Flint group</i>	–	40 % sausųjų medžiagų

2.1 lentelė (tęsinys). Tyrimams naudotos medžiagos

Medžiagos pavadinimas (trumpinys), <i>gamintojas ar tiekėjas</i>	Formulė	Pastabos
2,2-azino-bis-3-etilbenziazolin-6-sulfono rūgštis (ABTS), <i>Sigma-Aldrich</i>	$C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$	an. gr.
2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas (DPPH), <i>Sigma-Aldrich</i>	$C_{18}H_{12}N_5O_6$	an. gr.
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	–	–
<i>L. monocytogenes</i> (ATCC 19111)	–	–
<i>Luria-Bertani</i> (LB) agaro terpė, <i>Carl Rots</i>	–	–
<i>Brain Heart Infusion</i> (BHI) agaro terpė, <i>Carl Rots</i>	–	–
<i>Tryptic Soy agar</i> (TSA) agaro terpė, <i>Biolife</i>	–	–
<i>Luria-Bertani</i> (LB) sultinys, <i>Merck</i>	–	–
<i>Brain Heart Infusion</i> (BHI) sultinys, <i>Sigma-Aldrich</i>	–	–
Bakteriologinis peptonas, <i>Biolife</i>	–	–

Druskos rūgštis, natrio hidroksidas, kalio chloridas, natrio acetatas, izopropilo ir metilo alkoholis gauti iš *Eurochemicals*, monokalio fosfatas ir dikalio fosfatas – iš *Alfa Aesar*, kalio persulfatas – iš *Penta*, propiono rūgštis – iš *Roth*, dimetilsulfoksidas – iš *Sigma-Aldrich*, etilo alkoholis – iš *UAB Stumbras*. Visos medžiagos buvo analitinio grynumo.

2.2. Eksperimentų metodikos

2.2.1. Vandeninio mėlynių uogų ekstrakto paruošimas

Atšildytos ir sutrintos mėlynių uogos buvo užpildytos distiliuotu vandeniu (masių santykiu 1:1) ir 30 min. maišytos magnetine maišykle. Uogų minkštimui atskirti mišinys filtruotas per stambų sietą, po to – per stiklo filtrą ir ypač smulkioms nuosėdoms pašalinti filtratas centrifuguotas 15 min. 6000 sūkių per minutę greičiu. Gautas ekstraktas iki bandymų laikytas šaldiklyje $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Prieš bandymus atšildytas ekstraktas dar kartą centrifuguotas 15 min. 9000 sūkių per minutę greičiu. Darbinio mėlynių uogų ekstrakto pH vertė buvo $3,1\pm 0,1$.

2.2.2. Antocianinų koncentracijos nustatymas

Antocianinų koncentracijai vandeniniame mėlynių uogų ekstrakto nustatyti taikytas šviesos absorbcijos skirtingų pH verčių tirpalais metodas [184]. Mėlynių ekstraktas buvo praskiestas buferiniais tirpalais, kurių pH vertė 1 ir 4,5, ir regimosios spinduliuotės spektrofotometru *T60* (*PG Instruments*, Anglija) buvo užrašyti šviesos sugerties gautais tirpalais spektrai. Antocianinų koncentracija (g/l) apskaičiuota pagal formulę ir išreikšta *cia-3-glk* koncentracija:

$$C = \frac{(D_{pH=1} - D_{pH=4,5}) \cdot MM \cdot P}{\varepsilon \cdot l}; \quad (2.1)$$

čia $D_{pH=1}$ ir $D_{pH=4,5}$ – šviesos sugertis antocianinų tirpalu, kurio pH vertė atitinkamai 1 ir 4,5; MM – antocianinų molekulinė masė ($MM = 449,2$ g/mol), g; P – tirpalo praskiedimas; ε – molinis ekstinkcijos koeficientas ($\varepsilon = 26900$ l/mol·cm); l – matuojamo sluoksnio storis (1 cm).

2.2.3. Fenolinių junginių kiekio nustatymas

Fenolinių junginių kiekis nustatytas taikant *Folin-Ciocalteu* metodą [185]. Į stiklinį mėgintuvėlį įpilta 1 ml tiriamojo bandinio tirpalo, 5 ml *Folin-Ciocalteu* reagento, praskiesto distiliuotu vandeniu santykiu 1:10, ir sumaišyta. Po 5 min. įpilta 4 ml 7,5 % natrio karbonato tirpalo ir dar kartą sumaišyta. Gautas mišinys 2 val. laikytas kambario temperatūroje. Spektrofotometru *T60 (PG Instruments, Anglija)* išmatuota 640 nm monochromatinio spindulio sugertis tiriamuoju tirpalu. Palyginimui naudotas tirpalas, kuriame vietoje bandinio tirpalo įpilta 1 ml distiliuoto vandens. Bendrasis fenolinių junginių kiekis išreikštas galo rūgšties ekvivalentais, naudojant jai sudarytą kalibracinę tiesę.

2.2.4. Antocianinų ir anijoninių polisacharidų kompleksų gavimas

1 g/l dekstrano sulfato tirpalas gautas vandenyje kambario temperatūroje ištirpinus reikiamą kiekį polimero.

1 g/l κ - ar ι -karagenino vandeniniai tirpalai paruošti 500 ml distiliuoto vandens ištirpinus reikiamą kiekį polimero, pašildžius tirpalus iki 80 °C temperatūros ir atvėsintus praskiedus iki 1000 ml.

Prieš bandymus DESU ir KARG tirpalai buvo praskiesti iki tokios pat koncentracijos kaip ATC vandeninis ekstraktas. Į stiklines įpiltas reikiamas kiekis DESU ar KARG tirpalo, tada maišant magnetine maišykle (150 aps./min.) supiltas reikiamas kiekis ATC tirpalo. Prireikus prieš tai buvo įpiltas tam tikras kiekis distiliuoto vandens. Gautas mišinys buvo toliau maišomas 30 min. Naudojant regimosios spinduliuotės spektrofotometrą *T60 (PG Instruments, Anglija)*, užrašyti šviesos sugerties komplekso tirpalais spektrai.

DESU ar KARG kompleksai su ATC (DESU/ATC ar KARG/ATC) charakterizuoti pagal jų masių santykį, kuris buvo 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,6 0,8, 1 ar 2. Visais atvejais ATC koncentracija komplekso mišinyje buvo vienoda, o DESU ar KARG koncentracija – keičiama. Bendroji kompleksą sudarančių medžiagų koncentracija DESU/ATC atveju buvo nuo 0,08 iki 0,88 g/l, o KARG/ATC atveju – nuo 0,07 iki 0,7 g/l.

DESU/ATC ir KARG/ATC kompleksų dalelių dydis išmatuotas *DelsaNano C* matuokliu (*Beckman Coulter, Japonija*). Dalelių dydis yra nustatomas pagal išsklaidytosios lazerio šviesos intensyvumo kitimą. Išsklaidytosios šviesos intensyvumas yra susijęs su tirpale esančių makromolekulių ar nanodalelių matmenimis ir forma, o šviesos intensyvumo fliuktuacijos laike – su difuzijos

koeficientu. Dinaminės šviesos sklaidos duomenys yra analizuojami naudojant NNLS (angl. *non-negative least-squares*) algoritimą.

Netirpi gauto komplekso dalis buvo atskiriama centrifuguojant 60 min. 9000 sūkių per min. greičiu. Fugate nustatyta likutinė ATC koncentracija, o atskiruose bandymuose – ir fenolinių junginių kiekis. Atskirta netirpi kompleksų dalis buvo išdžiovinta liofilizatoriuje *SP Scientific Freeze Dryer (SP Industries)*.

2.2.5. Karageninų tinklinimas epichlorhidrinu

κ -KARG ir ι -KARG pasikartojančio disacharido vieneto molinė masė yra atitinkamai 384 g/mol ir 463 g/mol. κ -KARG ir ι -KARG tinklininti epichlorhidrinu (EPCH) izopropilo alkoholio ir vandens mišinyje santykiu 2:1 (pagal tūrį) šarminėje terpėje (pH = 11) 20 °C arba 50 °C temperatūroje. EPCH ir KARG moliniai santykiai buvo 0,3, 0,6, 0,8, 1 mol/mol. Reakcijos trukmė 6 val. Pasibaigus reakcijai gauti tinkliniai dariniai (κ -KARG-T ar ι -KARG-T) Biuchnerio piltuve plauti druskos rūgštimi parūgštintu izopropilo alkoholio ir vandens mišiniu iki neutralios filtrato pH vertės. Tada bandiniai plauti acetonu ir išdžiovinti kambario temperatūroje.

2.2.6. Karageninų mikrogranulių brinkumo nustatymas

Žinomos masės centrifugos indelyje pasverta 0,25 g absoliučiai sausų κ -KARG-T ar ι -KARG-T mikrogranulių ir užpilta 20 g distiliuoto vandens arba vandeninio mėlynių ekstrakto ir laikyta 30 min. 20 °C temperatūroje, kas 5 min. sumaisant. Mikrogranulės nuo maišyti naudotos stiklinės lazdelės buvo nuplaunamos 10 g distiliuoto vandens. Po to bandiniai greitai atšaldyti ledo vonioje iki 5 °C temperatūros ir centrifuguoti toje temperatūroje 20 min. 8000 aps./min. greičiu. Po centrifugavimo skaidri tirpalo dalis nupilta, indelyje likusi bandinio dalis pasverta ir išdžiovinta 105 °C temperatūros krosnelėje iki pastovios masės. Brinkumas (g/g) apskaičiuotas naudojantis (2.2) formulę:

$$B = \frac{m_a}{m_p}; \quad (2.2)$$

čia m_a – išbrinkusių granulių masė (g); m_p – sausų granulių masė (g).

2.2.7. Antocianinų pusiausvirosios adsorbcijos tinkliniais karagenino dariniais tyrimai

Į konusines 250 ml talpos kolbas pasverta po 0,025 g absoliučiai sausų κ -KARG-T, ι -KARG-T mikrogranulių ir įpilta 100 ml atitinkamos koncentracijos ATC tirpalo. Gautų suspensijų pH vertė, priklausomai nuo pradinio mėlynių ekstrakto praskiedimo, buvo nuo 3,1 iki 3,4. Kolbos užkimštos ir įstatytos į termostatuojamą vandens vonią su kratykle *WB-14 (Mammert, Vokietija)*, joje temperatūra buvo palaikoma ± 1 °C tikslumu. Kratyklė judėjo 135 judesių per minutę dažniu. Suspensijos kratytos 60 min. 22 °C, 30 °C ar 40 °C temperatūroje. Po adsorbcijos suspensijos filtruotos per stiklo filtrą ir filtrate nustatyta likutinė ATC koncentracija. Adsorbuotų ATC kiekis (q_e) buvo apskaičiuotas pagal formulę ir išreikštas g/g:

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e) \cdot V}{m}; \quad (2.3)$$

čia C_0 – pradinė ATC koncentracija (g/l); C_e – pusiausviroji ATC koncentracija (g/l); V – tirpalo tūris (l); m – absoliučiai sauso bandinio masė (g).

2.2.7.1. Taikyti matematiniai adsorbcijos modeliai ir termodinaminių rodiklių apskaičiavimas

Adsorbcijos izotermoms aprašyti pritaikyti Lengmiūro [186], Freundlichio [187], Dubinino ir Radushkevicho [188] bei Temkino modeliai [189]. Lengmiūro adsorbcijos modelio lygtys yra tokios:

$$q_e = \frac{K_L \cdot Q_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e}, \quad (2.4)$$

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{Q_L \cdot K_L} + \frac{1}{Q_L} C_e \text{ (tiesės lygtis);} \quad (2.5)$$

čia q_e – adsorbato kiekis adsorbente (g/g arba mmol/g); C_e – adsorbtyvo kiekis tirpale pusiausvyros sąlygomis (g/l arba mmol/l); Q_L – maksimalus adsorbato kiekis adsorbento masės vienetė, kuriam esant adsorbento paviršius visiškai padengiamas adsorbato monosluoksniu (Lengmiūro sorbcinė geba (g/g arba mmol/g)); K_L – Lengmiūro pusiausvyros konstanta (1/g arba l/mmol).

Freundlichio modelio lygtys yra tokios:

$$q_e = K_F \cdot C_e^{n_F}, \quad (2.6)$$

$$\ln q_e = \ln K_F + \frac{1}{n_F} \ln C_e \text{ (tiesės lygtis);} \quad (2.7)$$

čia K_F – Freundlichio konstanta, apibūdinanti santykinę adsorbento sorbcinę gebą (l/mmol); n_F – nedimensinė Freundlichio konstanta.

Dubinino ir Radushkevicho adsorbcijos modelio lygtys:

$$q_e = Q_{DR} \exp(-\beta \varepsilon^2), \quad (2.8)$$

$$\ln q_e = \ln Q_{DR} - \beta \varepsilon^2 \text{ (tiesės lygtis);} \quad (2.9)$$

čia Q_{DR} – maksimalus adsorbtuotas adsorbato kiekis (Dubinino ir Radushkevicho sorbcinė geba (mmol/g)); β – konstanta, susijusi su laisvąja adsorbcijos energija (mol^2/kJ^2); ε – Polanyi potencialas.

Polanyi potencialas apskaičiuojamas taip:

$$\varepsilon = RT \ln \left(1 + \left(\frac{1}{C_e} \right) \right). \quad (2.10)$$

Atidėjus priklausomybę tarp $\ln q_e$ ir ε^2 iš gautos tiesės atkirtimo ir polinkio galima apskaičiuoti Q_{DR} ir β vertes. Žinant konstantos β vertę, Dubinino ir Radushkevicho adsorbcijos energija E_{DR} (kJ/mol) apskaičiuojama taip:

$$E_{DR} = \frac{1}{\sqrt{2\beta}} \cdot \quad (2.11)$$

Temkino modelio lygtys yra tokios:

$$\theta = \frac{1}{f} \cdot \ln K_T \cdot C_e, \quad (2.12)$$

$$\theta = \frac{1}{f} \cdot \ln C_e + \frac{1}{f} \cdot \ln K_T \text{ (tiesės lygtis);} \quad (2.13)$$

čia θ – adsorbatu užimtų aktyviųjų vietų dalis; C_e – adsorbtyvo kiekis tirpale pusiausvyros sąlygomis (mol/l); K_T – Temkino pusiausvyros konstanta (l/mol); f – Temkino konstanta, susijusi su adsorbcijos šiluma.

$$f = \frac{\Delta E_T}{RT}; \quad (2.14)$$

čia ΔE_T – Temkino adsorbcijos energijos pokytis tarp dviejų gretimų aktyviųjų centrų (J/mol); T – temperatūra (K); R – universalioji dujų konstanta (J/mol·K).

Termodinaminiai ATC adsorbcijos KARG-T rodikliai – Gibso laisvosios energijos (ΔG°), entalpijos (ΔH°) ir entropijos (ΔS°) pokyčiai – apskaičiuoti taip:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_C, \quad (2.15)$$

$$\ln K_C = \frac{\Delta S^\circ}{R} - \frac{\Delta H^\circ}{RT}; \quad (2.16)$$

čia K_C – termodinaminė pasiskirstymo konstanta tarp adsorbato kiekio adsorbente (q_e (mol/g)) ir adsorbtyvo kiekio tirpale (C_e (mol/l)) pusiausvyros sąlygomis; T – temperatūra (K); R – universalioji dujų konstanta (J/mol·K).

Termodinaminės pasiskirstymo konstantos K_C vertė gali būti gauta atidėjus eksperimentinius adsorbcijos izotermų duomenis $\ln q_e/C_e$ nuo q_e koordinatėse. Gautos tiesės lygties atkirtimas yra $\ln K_C$ [190]. Žinant $\ln K_C$ vertes, ΔH° ir ΔS° vertės yra apskaičiuojamos iš tiesės polinkio ir atkirtimo, atidėjus priklausomybę $\ln K_C$ nuo $1/T$.

2.2.8. Tinklinio κ -karagenino ir antocianinų mikrogranulių gavimas

2 g absoliučiai sausų κ -KARG-T (tinklinimui naudota 0,3 EPCH mol/mol KARG) mikrogranulių užpilta 500 ml atitinkamos koncentracijos vandeninio mėlynųjų ekstraktų ir 30 min. maišyta magnetine maišykle 20 ± 1 °C temperatūroje. Po adsorbcijos mišinys nufiltruotas per stiklo filtrą, filtrate nustatyta likusių ATC koncentracija ir apskaičiuotas κ -KARG-T adsorbuotų ATC kiekis. κ -KARG-T/ATC

mikrogranulės praplautos distiliuotu vandeniu du kartus ir džiovintos liofilizatoriuje *SP Scientific Freeze Dryer (SP Industries)*.

2.2.9. Antocianinų desorbcijos iš karageninų ir antocianinų komplekso mikrogranulių tyrimai

Pasvertas toks liofilizuotų κ -KARG-T/ATC ar ι -KARG-T/ATC mikrogranulių kiekis, kad jose būtų 0,09 g/g adsorbuotų ATC. Jos užpiltos 50 ml desorbcijos tirpalo ir 30 min. maišytos 300 aps./min. greičiu 22 ± 1 °C temperatūroje. Po to bandiniai filtruoti per stiklo filtrą ir filtrate nustatyta ATC koncentracija. Desorbuotų ATC kiekis apskaičiuotas iš pradinės su mikrogranulėmis įdėtų ATC koncentracijos atėmus nustatytą filtrate. Kaip desorbcijos tirpalai naudoti distiliuotas vanduo, etanolis, 0,1 M HCl tirpalas, etanolio ir 0,1 M HCl mišiniai, fosfatiniai ir acetatiniai buferiniai tirpalai.

2.2.10. Antioksidacinių savybių įvertinimas

Antioksidacinės ATC ir jų kompleksų su DESU ar KARG savybės įvertintos dviem metodais. Taikant modifikuotą *2,2-azino-bis-3-etilbenziazolin-6-sulfono rūgšties radikalo (ABTS*) metodą* [191], 5 mg komplekso mikrogranulių užpilta 5 ml etanolio ir 0,1 M HCl tirpalo mišinio (2:3 pagal tūrį) ir maišyta magnetine maišykle 30 min. Po to įpilta 25 ml ABTS* tirpalo, gauto sumaišius 7 mM ABTS reagento ir 2,45 mM $K_2S_2O_8$ tirpalus tūrio santykiu 1:1. Gautas mišinys maišytas magnetine maišykle 2 val. ir išmatuota 734 nm monochromatinio spindulio sugertis gautu mišiniu.

Antioksidacinis efektyvumas (AOEF) apskaičiuotas pagal formulę:

$$AOEF = \frac{A_K - A_B}{A_K} \cdot 100\%; \quad (2.17)$$

čia A_K – šviesos sugertis pradiniu DPPH ar ABTS* tirpalu; A_B – šviesos sugertis DPPH ar ABTS* tirpalu su tiriamuoju bandiniu.

Pagal etanolinio *2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo spalvos pasikeitimą (DPPH metodas)* [192]. Stikliniame mėgintuvėlyje sumaišyta 1 ml tiriamojo tirpalo ar komplekso suspensijos ir 3 ml 0,004 % etanolinio DPPH tirpalo. Mišinys 30 min. laikytas tamsoje kambario temperatūroje. Po to išmatuota 517 nm monochromatinio spindulio sugertis tiriamuoju tirpalu. Kaip palyginamasis tirpalas naudotas vandens ir etanolio mišinys (1:3). Santykinis antioksidacinis efektyvumas (SAOEF) apskaičiuotas kaip antioksidacinio efektyvumo santykis su pradiniu bandinio antioksidaciniu efektyvumu ($AOEF_0$) laiko momentu t ($AOEF_t$):

$$SAOEF = \frac{AOEF_t}{AOEF_0} \cdot 100\%; \quad (2.18)$$

EA antioksidacinių savybių įvertinimas DPPH metodu. Į 96 šulinėlių plokštelę įlašinta 24 μ l bandinio ir 216 μ l 0,1 mM metanolinio DPPH tirpalo. Palyginimui naudoti pradinis DPPH ir askorbo rūgšties tirpalai. Užpildyta šulinėlių plokštelė laikyta kratyklėje (350 aps./min.) 30 min. 22 ± 2 °C temperatūroje ir išmatuota 517 nm

monochromatinio spindulio sugertis tiriamuoju tirpalu, naudojant plokštelių skaitytuvą *Synergy HT* (*BioTek Instruments*, Šveicarija). Antioksidacinis aktyvumas apskaičiuotas pagal trolokso (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilchromano-2-karboksirūgštis) kalibracinę kreivę ir išreikštas trolokso ekvivalentais (TE) arba DPPH laisvųjų radikalų sujungimu (%) pagal (2.4) formulę.

Kartu su Ciuricho taikomųjų mokslų universiteto mokslininkais gvazdikėlių eterinio aliejaus (GV) ar eugenolio (EU) turinčių dangų antioksidacinėms savybėms įvertinti, nesant tiesioginio kontakto tarp dangos ir tiriamojo substrato, kai veikia iš dangos atsipalaidavę EA garai, buvo sukurtas naujas metodas, pavadintas garų fazės-DPPH (GF-DPPH) metodu. 2,5 ml 0,1 mM metanolinio DPPH tirpalo buvo įpilta į Petri lėkštelę, o orientuotojo polipropileno (OPP) plėvelė su tiriamąja danga pritvirtinta vidinėje lėkštelės dangtelio pusėje. Kaip kontrolinis bandinys naudota OPP plėvelė be EA. Sandariai uždarytos Petri lėkštelės buvo kratomos kratyklėje (80 aps./min.) 22 ± 2 °C temperatūroje tamsoje. Praėjus 30, 60, 120, 180, 240 ar 300 min. nuo bandymo pradžios, 240 μ L bandinio buvo įdėta į 96 šulinėlių plokštelę ir išmatuota 517 nm monochromatinio spindulio sugertis tiriamuoju tirpalu, naudojant skaitytuvą *Synergy HT*. Pagal (2.4) formulę apskaičiuotas DPPH laisvųjų radikalų sujungimas (%). Analogiškai buvo ištirtos EA turinčio filtravimo popieriaus antioksidacinės savybės, kaip kontrolinį bandinį naudojant popierių, turintį 250 μ L metanolio.

2.2.11. Antocianinų ir anijoninių polisacharidų kompleksų stabilumo tyrimai

Paruoštos vandeninės DESU/ATC ar KARG/ATC kompleksų suspensijos buvo laikomos atitinkamai 12 ir 10 dienų tamsoje 4 °C temperatūroje uždaruose induose. Tam tikrais laiko intervalais buvo nustatoma ATC koncentracija ir antioksidacinis efektyvumas. Kartu buvo laikomas ir pradinis vandeninis mėlynių ekstraktas.

2.2.12. Antocianinų ir anijoninių polisacharidų kompleksų Furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopija

Liofilizuoto mėlynių ekstrakto, DESU/ATC, KARG/ATC kompleksų bei pradinių DESU, KARG, cia-3-glk miltelių FT-IR visiško atspindžio (ATR) spektrai užrašyti *Frontier* spektrofotometru (*Perkin Elmer*, JAV). Nedidelis kiekis bandinio buvo prispaudžiamas prie deimanto kristalo plokštelės ir buvo užrašomas spektras intervale nuo 4000 iki 655 cm^{-1} . Skenavimų skaičius 5, skiriamoji geba 4 cm^{-1} .

2.2.13. Skirtingų antocianinų tyrimas efektyviaja skysčių chromatografija

Tyrimai atlikti LSMU Analizinės ir toksikologinės chemijos bei Farmakognozijos katedrų darbuotojų. Efektyviosios skysčių chromatografijos metodu (ESC) įvertinta kiekybinė mėlynių ekstrakto sudėtis. Chromatografinis atskyrimas ir smailių identifikavimas atliktas pagal Europos farmakopėjos monografiją 02394 [193]. Skirstymas atliktas chromatografu *Waters 2965* (*Miliford*, JAV) su detektoriumi *Waters 996 PDA* (*Miliford*, JAV) ir *ACE C18* kolonėle (5 μ m, 250 mm/4,6 mm, *MAC-MOD Analytical*, Inc.). Judrioji fazė buvo sudaryta iš vandens ir skruzdžių rūgšties mišinio santykiu 91,5:8,5 (eliuntas A) ir iš vandens, acetoniitrilo, metanolio, skruzdžių rūgšties mišinio santykiu 41,5:22,5:22,5:8,5 (eliuntas B).

Taikytas gradientinis eliuavimas, gradiento kitimas: 0 min. – 7 % B (93 % A), 35 min. – 25 % B (75 % A), 45 min. – 65 % (35 % A), 46–50 min. – 100 % B (0 % A), 51 min. – 7 % B (93 % A). Tėkmės greitis 1 ml/min., kolonėlės temperatūra 30 °C. ATC ir kiti fenoliniai junginiai stebėti 200–600 nm intervale, ATC kiekybiškai įvertinti taikytas 535 nm bangos ilgis. ATC įvertinti naudojant etaloninius junginius ir pamatinę medžiagą – standartizuotą mėlynių ekstraktą, naudojamą vaistų kokybei įvertinti pagal Europos Direktorato nurodymus. Skirtingų ATC kiekis buvo apskaičiuotas iš chromatogramose pateiktų smailių plotų.

Netirpiai komplekso daliai atskirti prieš ESC DESU/ATC ir KARG/ATC kompleksų suspensijos buvo centrifuguojamos 60 min. 9000 sūkių per minutę greičiu.

2.3. Biologiškai aktyvių junginių turinčių plėvelių ar dangų paruošimas ir jų savybių įvertinimas

2.3.1. Antocianinų ir jų kompleksų su karageniniais turinčių tirpių plėvelių paruošimas ir įvertinimas

Plėvelių liejimo mišiniui paruošti buvo sumaišyta 30 g 10 % hidroksipropilmetilceliuliozės (HPMC) tirpalo ir 60 ml vandens, ATC tirpalo ar KARG/ATC komplekso suspensijos. ATC koncentracija visuose mišiniuose buvo tokia pati. Oro burbuliukams pašalinti mišiniai 15 min. buvo veikiami ultragarsu vonelėje. Į 9,5 cm skersmens Petri lėkšteles buvo įpilta 25 g gauto plėvelių ruošimo mišinio ir išdžiovinta kambario temperatūroje.

Mechaninės plėvelių savybės įvertintos pagal ASTM D882 standarto reikalavimus. Bandymai atlikti tempimo mašina *BDO-FBo.5TH* (*Zwick GmbH*, Vokietija) aplinkos temperatūroje. Iš gautų tempimo kreivių apskaičiuoti šie rodikliai: stipris tempiant, santykinė ištįsa trūkio metu ir tampros modulis. Rodiklių vertė išreikšta kaip aritmetinis 3 bandymų rezultatų vidurkis.

Plėvelių pavyzdžiai buvo švitinami 30 val. lankine ksenono blukinimo lempa, naudojama tekstilės dažinių atsparumui dirbtinei šviesai pagal LST EN ISO 105-B02:2003 nustatyti VMTI Fizinių ir technologijos mokslų centro Tekstilės instituto Tekstilės medžiagų fizinių-cheminių tyrimų skyriuje. Tyrimo pavyzdys buvo sudarytas iš dviejų plėvelių: viršutinės (apsauginės) HPMC plėvelės, turinčios ATC ar KARG/ATC komplekso, ir apatinės (apsaugomos) HPMC plėvelės, turinčios tik ATC. Prieš švitinimą ir po jo tiksliai pasvertas plėvelės kiekis buvo ištirpintas 10 ml vandens, maišant magnetine maišykle. Gautame tirpale nustatyta ATC koncentracija ir antioksidacinis efektyvumas.

2.3.2. Eterinių aliejų turinčių dangų ant orientuotojo polipropileno paruošimas

Danga akrilinio plėvėdario Premo^(R)STAR OPV FDA-WP3P-00AH (AK) pagrindu. Pradžioje buvo ruošiama EA emulsija, kaip emulsiklį naudojant 25 % hidrofobiškai modifikuoto vaškinių kukurūzų krakmolo (K) vandeninį tirpalą. EA kiekis emulsijoje sudarė 12,5 % arba 25 % nuo jos sausųjų medžiagų kiekio. Emulsijai gauti EA ir K mišinys 2 min. 15 000 aps./min. greičiu homogenizuotas dispergatoriuje *POLYTRON® PT 2500 E* (Šveicarija). Gauta emulsija įvairiais santykiais maišyta su AK. Ši danga žymima AK/K/EA.

Danga celiuliozės acetato (CA) pagrindu. Buvo paruoštas 12 % CA tirpalas acetone, į jį maišant įpilta 7 %, 15 % ar 30 % nuo CA sausųjų medžiagų kiekio EA. Ši danga žymima CA/EA.

Abiejų tipų dangos buvo užneštos ant vainikiniu išlydžiu aktyvuotos orientuotojo polipropileno plėvelės pusės dangų liejimo prietaisu *ZEHNTNER ZAA 2300* (Šveicarija), naudojant skirtingai graviruotas lazdeles. Priklausomai nuo naudotos lazdelės, šlapios dangos storis ant OPP buvo 20,14 μm, 40,15 μm, 100 μm, 171 μm. Užnešta danga džiovinta 1 val. kambario temperatūroje. EA kiekis AK/K/EA dangoje buvo nuo 0,11±0,02 iki 6,40±0,14 g/m² ir sudarė nuo 2,5 iki 20 % sausosios dangos masės. EA kiekis CA/EA dangoje buvo nuo 0,18±0,03 iki 0,82±0,13 g/m² ir sudarė 7 %, 13 % ir 23 % sausosios dangos masės.

2.3.3. Antimikrobiniai eterinių aliejų ir jų turinčių dangų tyrimai

Tyrimuose naudotos *E. coli* (ATCC 25922) ir *L. monocytogenes* (ATCC 19111) bakterijų kultūros, kurios kultivuotos ant *Luria-Bertani* (LB) ir *Brain Heart Infusion* (BHI) agarų terpių. Bandymams bakterijų kultūrų suspensijos buvo auginamos 10 ml paruošto LB ar BHI sultinio 18–24 val. 37 °C temperatūroje.

Difuzijos į agarą metodas [194]. 100 μl *E. coli* ar *L. monocytogenes* bakterijų suspensijos paskleista 94 mm skersmens Petri lėkštelėse ant LB ar BHI agarų terpių. Po to ant bakterijomis užsėtose agarų terpėse buvo dedami 10 mm skersmens OPP plėvelės su veikliąja danga arba 10 μl EA tirpalo DMSO turintys filtravimo popieriaus bandiniai. Kaip kontrolinis bandinys naudota OPP plėvelė be dangos arba filtravimo popierius su užlašintu DMSO. Bandymui patikrinti naudotas filtravimo popierius, turintis propiono rūgšties. Visos lėkštelės buvo inkubuojamos 24 val. 37 °C temperatūroje. Antibakterinis aktyvumas įvertintas išmatavus bakterijų augimo slopinimo zonų skersmenį (mm).

Garų difuzijos metodas buvo sukurtas Ciuricho taikomųjų mokslų universitete ir aprašytas Peterio Andre [195] bakalauro baigiamajame darbe. Metodo esmę sudaro antibakterinių savybių nustatymas nesant tiesioginio kontakto su tirama medžiaga ir bakterijomis, toliau vadinamas „per garų fazę“. Garų difuzijos metodo taikymas susideda iš kelių etapų. Pirmajame etape naudojant Neubauerio hemocitometrą (*Neubauer Improved, Assistant*, gylis 0,01 mm, faktorius 2,5·10⁶) nustatytas tiriamų bakterijų kiekis. Po to skiedimo būdu paruošta 10⁷ kolonijas sudarančių vienetų (KSV) litre turinti bakterijų suspensija ir 100 ml jos filtruota per 0,45 μm celiuliozės nitrato filtrą. Ant filtro liko 10⁶ KSV, jis įdėtas į Petri lėkštelę ant *tryptic soy agar* (TSA) kultivavimo terpės. 55 mm skersmens sterilus filtravimo popierius ar OPP plėvelė su čiobrelių aliejaus (ČI) turinčia AK/K/ČI danga buvo pritvirtinta vidinėje dangtelio pusėje – nebuvo tiesioginio kontakto su mikroorganizmais. Ant sterilaus filtravimo popieriaus buvo užlašinta skirtingos koncentracijos 100 μl ČI tirpalo DMSO. Kaip kontrolinis bandinys naudota OPP plėvelė be dangos arba filtravimo popierius su užlašintu DMSO. Bandymui patikrinti naudotas filtravimo popierius, turintis propiono rūgšties. Sandariai uždarytos Petri lėkštelės buvo laikomos 24 val. 37 °C temperatūroje. Po to celiuliozės nitrato filtravimo popierius buvo įdėtas į 10 ml LB ar BHI sultinio turintį indelį ir intensyviai kratytas 15 min. Gyvybingų ląstelių kiekiui nustatyti gautas LB ar BHI sultinys buvo keletą kartų skiedžiamas. 100 μl

praskiesto sultinio buvo paskleista ant LB ar BHI agaro turinčių lėkštelių ir bandiniai laikyti 24 ir 48 val. 37 °C temperatūroje. Kolonijas sudarančių vienetų (KSV) kiekis apskaičiuotas pagal formulę:

$$KSV = \frac{\sum C}{(n_1 + 0,1n_2) \cdot V \cdot d}; \quad (2.19)$$

čia $\sum C$ – kolonijų, suskaičiuotų ant visų vertinti atrinktų lėkštelių, suma; V – bakterijų suspensijos tūris (0,1 ml); n_1 – pirmojo skiedinio lėkštelių, kuriuose buvo suskaičiuota nuo 10 iki 300 kolonijų, skaičius; n_2 – antrojo skiedinio lėkštelių, kuriuose buvo suskaičiuota nuo 10 iki 300 kolonijų, skaičius; d – skiedimo koeficientas, atitinkantis pirmąjį skiedinį, kurio lėkštelės buvo atrinktos kolonijoms skaičiuoti.

2.3.4. Eugenolio atpalaidavimo iš dangų tyrimai

Tyrimai atlikti LSMU Analizinės ir toksikologinės chemijos bei Farmakognozijos katedrų darbuotojų. Iš dangų išsiskyrusio ir viršerdvėje esančio EU kiekiui nustatyti bandiniai buvo imami *SHIMADZU AOC-5000 Plus* automatinio rinktuvo ir analizuojami dujų chromatografijos-masių spektrometrijos metodu (DC-MS). DC-MS įranga buvo sukomplektuota iš *SHIMADZU GC2010 Plus* chromatografo ir *GCMS-QP2010 Ultra* masių spektrometrinio detektoriaus, naudojant *RXI-5MS* kapiliarinę kolonėlę (*Restek Corporation*; 30 m×0,25 mm×0,25 μm). Temperatūra dujų chromatografe buvo keičiama palaipsniui nuo 80 °C (1 min.) iki 170 °C (1 min.) 8 °C/min. greičiu ir iki 270 °C (2 min.) 30 °C/min. greičiu. Analizės sąlygos: injektoriaus temperatūra – 260 °C; helio srauto greitis – 1,43 ml/min.; injektuojamo viršerdvės bandinio kiekis – 500 μl, o skysto bandinio – 1 μl. Masių spektro diapazonas buvo nuo 35 iki 500 amu. EU identifikacija atlikta pagal masių spektre žinomas sulaikymų trukmes, o kiekybinė analizė – pagal sudarytą kalibracinę kreivę. EU atpalaidavimui iš dangų į viršerdvę tirti dangų bandiniai buvo įdėti į 20 ml tūrio indus. Sandariai uždaryti indai laikyti kambario temperatūroje tamsoje, ir po tam tikro laiko nustatytas į viršerdvę atpalaiduoto ir dangoje likusio EU kiekis.

EU kiekiui dangose nustatyti dangos buvo tirpinamos 10 ml acetono. Pasiskirstymo koeficientas K apskaičiuotas pagal formulę:

$$K = C_g/C_f; \quad (2.20)$$

čia C_g – EU kiekis (nmol) garų fazėje (viršerdvėje); C_f – dangoje likusio EU kiekis (nmol).

2.3.5. Antioksidacinės pakuotės prototipo paruošimas ir tyrimai

90 g svorio ir 1,5 cm storio šviežios jautienos (*Longissimus Dorsi*) kepsniai buvo įdėti į PS/EVOH/PE dėklą (204×147×250 mm) ir uždengti nulupama PET/PE/EVOH/PE plėvele (*Südpack*, Vokietija) įrenginyje *Multivac T200* (Šveicarija) naudojant atmosferą, sudarytą iš 80 % O₂ ir 20 % CO₂ (*PanGas*, Šveicarija). Prieš pakavimą vidinėje PET/PE/EVOH/PE plėvelės pusėje buvo pritvirtinta 187 cm² ploto OPP plėvelė su veikliąja danga. Kaip kontrolinis bandinys naudota pakuotė be veikliosios dangos. Bandiniai buvo laikomi 14 dienų 2±1 °C

temperatūroje. Pirmas 24 val. bandiniai laikyti fluorescencinės lempos (*HE 21 W/827, Osram LUMILUX Interna*, Italija) šviesoje, po to tamsoje. Tam tikrais laiko intervalais po 30 min. nuo pakuotės atidarymo spektrofotometru *CR-400 Konica Minolta*, naudojant šviesos šaltinį D65, būdavo išmatuojama mėsos spalva ir nustatomas oksiduotų lipidų kiekis.

Jautienos lipidų oksidacija įvertinta taikant *Food TBARS Assay Kit (Oxford Biomedical Research, Inc.)* [196] metodą, atlikus keletą pakeitimų. 5 g mėsos ir 5 ml distiliuoto vandens buvo homogenizuojami 2 min. 15000 aps./min. greičiu dispergatoriumi *POLYTRON® PT 2500 E* (Šveicarija) iki tolygios suspensijos. 1 g suspensijos atsverta mikrocentrifuginiame indelyje ir įpilta 1 ml 5 % 2-tiobarbitūro rūgšties (TBA) tirpalo DMSO, turinčio rūgštinio katalizatoriaus. Kaip „tuščias“ bandinys naudotas TBA tirpalas. Bandiniai kratyti sūkurine kratykle 1 min. ir 60 min. laikyti kambario temperatūroje. Po to bandiniai centrifuguoti 16000×g 5 min. ir spektrofotometru *GENESYS™ 10S UV-Vis (JAV)* išmatuota 532 nm monochromatinio spindulio sugertis gautu fugatu. Oksiduotų lipidų kiekis apskaičiuotas iš malondialdehido (MDA) kalibracinės kreivės ir išreikštas MDA miligramais kilogramui mėsos.

2.4. Rezultatų tikslumo ir patikimumo įvertinimas

Bandymų rezultatai buvo apskaičiuojami kaip aritmetiniai vidurkiai pagal formulę:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^N X_i}{N}; \quad (2.21)$$

čia \bar{X} – aritmetinis vidurkis; N – bandymų skaičius; X_i – vieno bandymo rezultatas.

Standartinis nuokrypis apskaičiuotas pagal formulę:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (\bar{X} - X_i)^2}{N - 1}}; \quad (2.22)$$

čia $\sum_{i=1}^N (\bar{X} - X_i)^2$ – nuokrypių nuo aritmetinio vidurkio kvadratų suma visiems bandymams.

Nustatant tiesinę priklausomybę tarp bandymų duomenų, tiesės lygtis buvo randama mažiausių kvadratų metodu. Tiesinės koreliacijos (Pirsono) koeficientas R apskaičiuotas pagal formulę:

$$R = \frac{n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{[n\sum x^2 - (\sum x)^2][n\sum y^2 - (\sum y)^2]}}; \quad (2.23)$$

čia x – nepriklausomojo kintamojo vertės; y – priklausomojo kintamojo vertės; n – bandymų skaičius.

Koreliacija buvo įvertinama pagal šio koeficiento vertę, pakeltą kvadratu (R^2).

3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1. Vandeniniame mėlynių ekstrakte esančių antocianinų analizė

Mėlynės yra vienos iš daugiausia ATC turinčių uogų, todėl buvo pasirinktos vandeniniams ATC ekstraktams paruošti. Kadangi ekstraktui ruošti šaldytos mėlynių uogos buvo perkamos ne vienu metu, vandeninio mėlynių ekstrakto sudėtis visais atvejais buvo įvertinta ESC metodu (I–V bandinių serijos). Gauti duomenys pateikti 3.1 lent.

Kaip matyti iš lentelėje pateiktų duomenų, vandeniniame mėlynių ekstrakte buvo identifiukuota 15 skirtingų ATC. Jų kiekis priklausė tiek nuo antocianidino, tiek nuo prie jo prijungto sacharido. Kaip ir kitų autorių darbuose [25, 197], mėlynių ekstrakte nustatytas vyraujantis antocianidinas – cianidinas. Daugiausia mėlynių ekstrakte buvo cianidino ir delfinidino sacharidų, atitinkamai apie 31 % ir 27 %, o mažiausiai, apie 8 %, – peonidino sacharidų. Be to, pusę visų rastų ATC sudarė antocianidinų gliukozidai. Pagrindinę dalį (~85 %) vandeniniame mėlynių ekstrakto sudarė 9 ATC: cianidino-3-*O*-arabinozidas, cianidino-3-*O*-galaktozidas, cianidino-3-*O*-gliukozidas, delfinidino-3-*O*-galaktozidas, delfinidino-3-*O*-gliukozidas, delfinidino-3-*O*-arabinozidas, malvidino-3-*O*-gliukozidas, petunidino-3-*O*-gliukozidas ir peonidino-3-*O*-gliukozidas. Atskirų ATC kiekis skirtingose ekstraktų serijose priklausė nuo konkretaus antocianidino. Ekstraktuose, ruoštuose iš skirtingų mėlynių uogų, mažiausiai skyrėsi cianidino ir petunidino sacharidų, o daugiausia – delfinidino ir peonidino sacharidų kiekis.

Visais atvejais ATC kiekis vandeniniame mėlynių ekstrakto, nustatytas ESC metodu, buvo didesnis už bendrąjį kiekį, nustatytą pH metodu. Gauti skirtumai gali būti paaiškinti tuo, kad antruoju atveju bendroji ATC koncentracija yra išreikiama *cia-3-glk*, kurio molekulinė masė yra 449 g/mol, ekvivalentais. O daugelio kitų ATC molekulinė masė yra didesnė.

Vandeninio mėlynių ekstrakto pH vertė buvo $3,1 \pm 0,1$. Esant tokiai ekstrakto pH vertei, ATC gali egzistuoti tiek raudonos spalvos flavilio katijono, tiek mėlynos spalvos chinoidinės bazės forma [17]. Tarp flavilio katijono ir neigiamojo krūvio grupių turinčių polimerų gali vykti elektrostatinė sąveika ir susidaryti joniniai kompleksai, kuriuose gerokai padidėja ATC stabilumas [5].

3.1 lentelė. Skirtingų ATC kiekis vandeniniame mėlynių ekstrakto, esant skirtingai bendrajai ATC koncentracijai

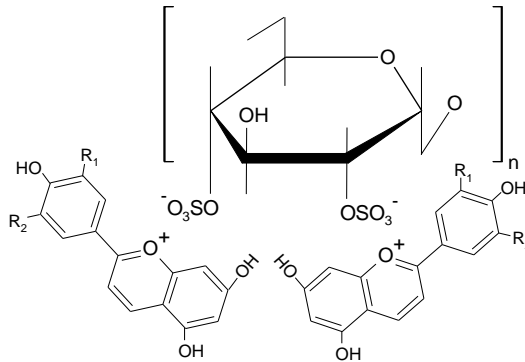
ATC	Bandinių serija										Vidurkis (%)
	I		II		III		IV		V		
	Koncentracija										
	(g/l)	(%*)	(g/l)	(%*)	(g/l)	(%*)	(g/l)	(%*)	(g/l)	(%*)	
Cianidino-3- <i>O</i> -arabinozidas	0,082	7,52	0,039	7,85	0,054	7,30	0,072	7,77	0,070	7,75	7,64±0,22
Cianidino-3- <i>O</i> -galaktozidas	0,111	10,22	0,060	12,15	0,086	11,49	0,093	10,09	0,091	10,15	10,82±0,94
Cianidino-3- <i>O</i> -gliukozidas	0,129	11,88	0,063	12,89	0,095	12,77	0,115	12,50	0,113	12,6	12,53±0,39
Delfinidino-3- <i>O</i> -arabinozidas	0,080	7,36	0,028	5,74	0,045	6,03	0,077	8,32	0,075	8,32	7,15±1,22
Delfinidino-3- <i>O</i> -galaktozidas	0,106	9,70	0,037	7,55	0,062	8,29	0,092	10,00	0,090	10,00	9,11±1,12
Delfinidino-3- <i>O</i> -gliukozidas	0,117	10,71	0,037	7,60	0,067	9,01	0,110	11,93	0,107	11,94	10,24±1,90
Malvidino-3- <i>O</i> -arabinozidas	0,028	2,62	0,015	3,15	0,022	2,92	0,022	2,40	0,022	2,44	2,71±0,32
Malvidino-3- <i>O</i> -galaktozidas	0,052	4,76	0,026	5,31	0,038	5,15	0,035	3,79	0,034	3,79	4,56±0,73
Malvidino-3- <i>O</i> -gliukozidas	0,145	13,31	0,069	14,05	0,094	12,61	0,102	11,11	0,101	11,22	12,46±1,29
Peonidino-3- <i>O</i> -arabinozidas	0,007	0,66	0,004	0,78	0,006	0,83	0,007	0,80	0,007	0,79	0,77±0,07
Peonidino-3- <i>O</i> -galaktozidas	0,010	0,91	0,009	1,76	0,014	1,92	0,011	1,17	0,010	1,10	1,37±0,44
Peonidino-3- <i>O</i> -gliukozidas	0,063	5,75	0,033	6,75	0,054	7,25	0,049	5,29	0,048	5,29	6,07±0,89
Petunidino-3- <i>O</i> -arabinozidas	0,0245	2,25	0,012	2,41	0,017	2,27	0,022	2,40	0,020	2,27	2,32±0,08
Petunidino-3- <i>O</i> -galaktozidas	0,040	3,66	0,020	4,06	0,031	4,16	0,035	3,78	0,034	3,79	3,89±0,21
Petunidino-3- <i>O</i> -gliukozidas	0,097	8,88	0,0405	8,25	0,060	7,98	0,080	8,68	0,077	8,54	8,46±0,36
Suminė koncentracija	1,090	–	0,492	–	0,746	–	0,920	–	0,900	–	–
ATC koncentracija**	0,880	–	0,464	–	0,613	–	0,790	–	0,790	–	–

* nuo bendrosios koncentracijos

** nustatyta pH metodu

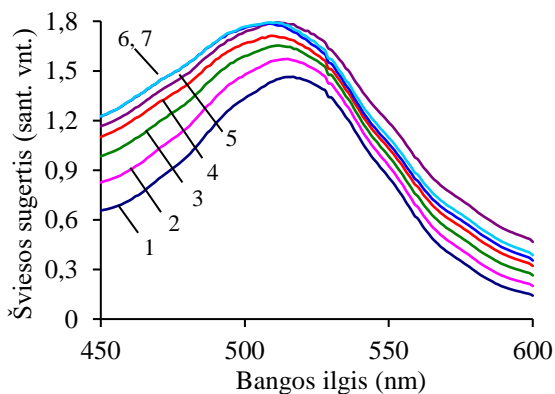
3.2. Dekstrano sulfato kompleksų su vandeniniame mėlynių ekstrakte esančiais antocianiniais gavimas

DESU yra vandenyje tirpus nedidelės molekulinės masės polisacharidas, turintis $5,5 \cdot 10^{-3}$ mol/g sulfatogrupių. Joninis kompleksas iš DESU ir ATC gali susidaryti dėl elektrostatinės sąveikos tarp DESU sulfatogrupių ir ATC flavilio katijono (3.1 pav.). Apie ATC sąveiką su kitais mažamolekuliais junginiais – kopigmentais [60] ar polimerais [5] – galima spręsti iš ATC turinčių tirpalų spalvos pokyčio iš raudonos į mėlyną, t. y. bathochrominio regimosios spinduliuotės absorbcijos maksimumo poslinkio ilgesniųjų bangų pusėn kartu su hiperchrominiu efektu – tirpalų spalvos intensyvumo padidėjimu.



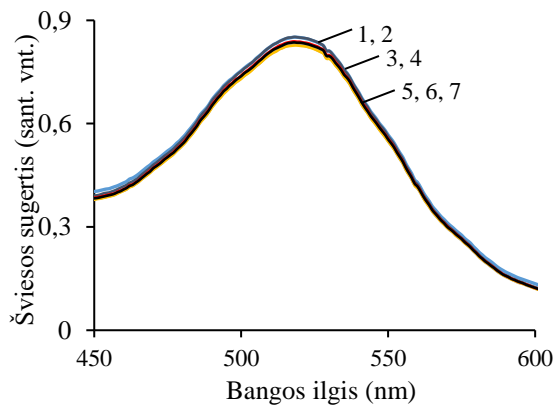
3.1 pav. Joninė sąveika tarp DESU sulfatogrupių ir ATC flavilio katijono

Buvo paruošti tirpalai, kuriuose ATC koncentracija buvo pastovi – 0,066 g/l, o DESU koncentracija – nuolat didinama. Tirpalų sudėtis buvo įvertinta DESU ir ATC masių santykiu (DESU/ATC). Buvo užrašyti šių tirpalų šviesos sugerties spektrai (3.2 pav.).



3.2 pav. Šviesos sugerties spektrai ATC (1) ir DESU/ATC komplekso masių santykiu: 2 – 0,1; 3 – 0,2; 4 – 0,3; 5 – 0,4; 6 – 0,8; 7 – 1. Komplekso tirpalų pH = $3,1 \pm 0,2$. Naudotas vandeninis mėlynių ekstraktas, kuriame ATC koncentracija 0,066 g/l

Kai ATC koncentracija tirpale yra pastovi, iš monochromatinio spindulio bangos ilgio (λ_{\max}), kuriam esant šviesos sugertis tirpalu buvo didžiausia (D_{\max}), kitimo galima spręsti apie sąveiką tarp DESU ir ATC. Kaip matyti iš 3.2 pav. pateiktų duomenų, skirtingai nuo kopigmentacijos atvejų [60], didėjant DESU kiekiui vandeniniame ATC tirpale pastebimas hipsochrominis šviesos sugerties maksimumo poslinkis trumpesniųjų bangų link, tirpalas įgauna raudonesnį, palyginti su ATC tirpalu, atspalvį, o D_{\max} vertė didėja. Tokie pokyčiai ypač gerai matomi, kai DESU ir ATC masių santykis tirpale kinta nuo 0,2 iki 0,4 (3.2 pav. 2–5 kreivės). Toliau didinant DESU koncentraciją tirpale pokyčiai ne tokie dideli (3.2 pav. 6–7 kreivės). Tačiau jokių šviesos sugerties pokyčių nėra, kai DESU yra pilamas į etanolio, kuris žinomas kaip joninių kompleksų ardytojas [137], turintį ATC tirpalą (3.3 pav.). Tai leidžia patvirtinti, kad vandeniniuose tirpaluose iš DESU ir ATC susidarė joniniai kompleksai.



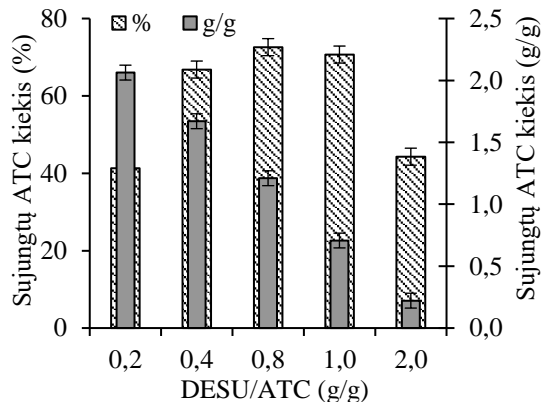
3.3 pav. Šviesos sugerties spektrai ATC (I) ir DESU/ATC komplekso masių santykiu: 2 – 0,1; 3 – 0,2; 4 – 0,3; 5 – 0,4; 6 – 0,8; 7 – 1. Naudotas etanolinis mėlynių ekstraktas, kuriame ATC koncentracija 0,033 g/l

Hipsochrominis šviesos absorbcijos poslinkis vietoje batochrominio pridėjus DESU į vandeninį ATC tirpalą ir šviesos absorbcijos pokyčių nebuvimas pridėjus DESU į etanolinius ATC tirpalus leidžia teigti, kad tik sąveika tarp priešingų ženklų krūvio grupių – stiprių neigiamojo krūvio sulfatogrūpių ir flavilio katijono – lemia DESU ir ATC kompleksų susidarymą. Šie rezultatai skiriasi nuo aprašytų Jeongo ir Na darbe [5], kuriame buvo tiriamas chondroitino sulfato ir ATC kompleksų susidarymas. Autorių nuomone, susidarant nanokompleksui pasireiškia trijų rūšių sąveika: ATC molekulių stekingas, joninė sąveika tarp polimero sulfatogrūpių ir flavilio katijono bei hidrofobinė sąveika tarp chondroitino sulfato acilgrūpių ir antocianinų molekulių asociatų. O susidarant DESU/ATC kompleksams veikia tik elektrostatinės sąveikos jėgos. Gautus skirtumus gali lemti skirtinga DESU ir chondroitino sulfato prigimtis. Pastarasis yra sulfatinis glikozaminoglikanas, kurio elementarioji grandis sudaryta iš *N*-acetilgalaktozamino ir gliukurono rūgšties. Sulfatogrūpės tiek DESU, tiek chondroitino sulfatui suteikia hidrofilines savybes ir nulemia elektrostatinę sąveiką su ATC flavilio katijonu. O chondroitino sulfate esančios *N*-acetilgrupės lemia hidrofobinę sąveiką su ATC ir gali padėti

intermolekuliniam ATC molekulių stekingui [5]. DESU turi tik sulfatogrupių, todėl elektrostatinė sąveika gali vykti tik su ATC. Elektrostatinė sąveika tarp flavilio katijono ir sulfatogrupių yra grindžiamas ATC grynimasis katijoninėmis dervomis [30, 198, 199].

Viena iš priežasčių, kodėl didėjant DESU ir ATC masių santykiui tirpale mažėjo šviesos sugerties pokyčiai (3.2 pav.), gali būti netirpaus DESU/ATC komplekso susidarymas, dėl kurio dalis ATC yra eliminuojama iš tirpalo, t. y. sumažėja regimąją spinduliuotę sugeriančių ATC kiekis.

Vandeniniuose tirpaluose buvo sudaryti DESU ir ATC kompleksai, esant skirtingam jų masių santykiui, tačiau esant pastoviai bendrajai DESU ir ATC koncentracijai – 0,66 g/l. Netirpiai komplekso frakcijai pašalinti tirpalai buvo centrifuguojami ir likusiame tirpale buvo nustatoma ATC koncentracija bei apskaičiuojamas DESU sujungtų ATC kiekis. Preliminarūs tyrimai parodė, kad tirpūs ir nanodalelių dydžio DESU/ATC kompleksai yra išardomi buferiniuose tirpaluose, kurie naudojami ATC koncentracijai ar fenolinių junginių kiekiui *Folin-Ciocalteu* metodu nustatyti. Į kompleksą sujungtų ATC kiekis išreikštas dviem būdais: procentais nuo pradinės ATC koncentracijos ir ATC gramais, tenkančiais gramui DESU. Gauti rezultatai pateikti 3.4 pav. Iš jo matyti, kad, didėjant DESU masės daliai, į kompleksą sujungto ATC kiekis, išreikštas procentais, yra didžiausias, kai DESU ir ATC masių santykis 0,8. O į kompleksą sujungtas ATC kiekis, išreikštas g/g, nuolat mažėja. Kai tarp didžiosios DESU sulfatogrupių dalies ir ATC vyksta elektrostatinė sąveika, komplekso tirpumas sumažėja ir jis iškrinta į nuosėdas. Komplekse didėjant DESU masės daliai, dalis sulfatogrupių lieka laisvos ir padidėja komplekso hidrofiliškumas – susidaro dalis tirpaus komplekso. ATC, sujungti į tirpų kompleksą su DESU ar labai smulkių nanodalelių, nenusėdančių centrifuguojant, kompleksą, padidina likutinę ATC koncentraciją ir kartu sumažina ATC dalį, sujungtą į kompleksą.



3.4 pav. Į kompleksą sujungtų ATC kiekio priklausomybė nuo DESU ir ATC masių santykio. Bendroji ATC ir DESU koncentracija 0,66 g/l

Įvertinus į kompleksą sujungtų ATC kiekį, išreikštą tiek procentais, tiek g/g DESU, galima daryti išvadą, kad ATC efektyviausiai sujungiami, kai komplekso

sudėtis yra $DESU/ATC = 0,4$. Tokiame komplekse 1 g DESU sujungia apie 1,7 g ATC, išreikštą *cia-3-glk* ekvivalentais, arba 70 % nuo pradinės ATC koncentracijos. Tariant, kad susidarant kompleksui yra visiškai realizuojama joninė sąveika, ir žinant, kad DESU yra $5,5 \cdot 10^{-3}$ mol/g anijoninių sulfatogrūpių, galima apskaičiuoti, kad 1 g DESU sujungia $3,8 \cdot 10^{-3}$ molių ATC, išreikštų *cia-3-glk* moliais.

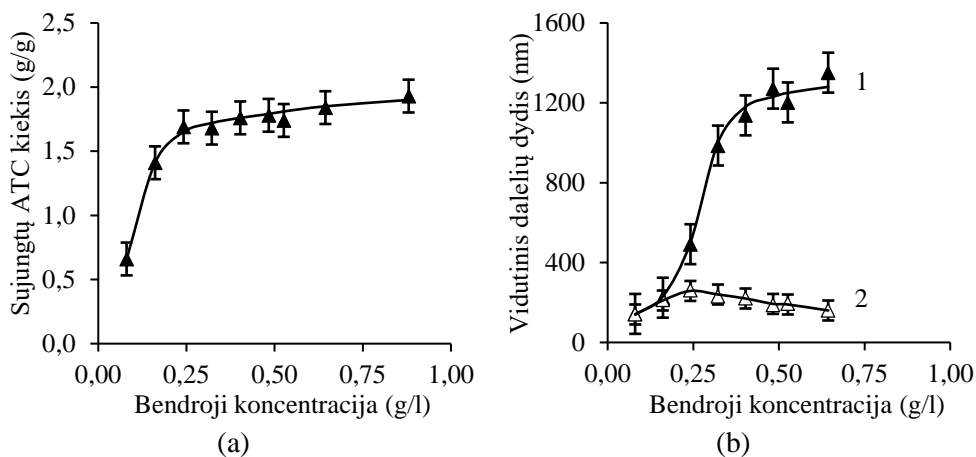
Bendrasis fenolinių junginių kiekis (FJ) vandeninėje mėlynių ištraukoje priklauso tiek nuo ATC, tiek nuo kitų FJ kiekio. *Folin-Ciocalteu* metodu buvo nustatytas FJ tiek pradinuose, tiek DESU/ATC kompleksų tirpaluose po centrifugavimo ir apskaičiuotas bendrojo FJ kiekio santykis su ATC kiekiu. 3.2 lent. pateikta šio santykio priklausomybė nuo DESU/ATC komplekso sudėties.

3.2 lentelė. FJ ir ATC koncentracijos ir masių santykio (FJ/ATC) priklausomybė nuo DESU/ATC komplekso sudėties

DESU/ATC (g/g)	ATC koncentracija (g/l)		FJ (g/l)		FJ/ATC _{pr}	FJ/ATC _{lik}
	Pradinė	Likutinė	Pradiniai	Likutiniai		
0,2	0,53	0,33	1,12	0,89	2,11	2,60
0,4	0,45	0,14	0,96	0,66	2,11	4,47
0,8	0,35	0,08	0,75	0,49	2,11	5,28
1,0	0,32	0,10	0,67	0,48	2,11	3,69
ATC tirpalas	0,66	–	1,35	–	2,12	–

Kaip matyti iš lentelėje pateiktų duomenų, susidarant DESU/ATC kompleksams, tirpale po centrifugavimo sumažėja ne tik ATC, bet ir FJ koncentracija. Tačiau FJ ir ATC masių santykis susidarius kompleksui gerokai išauga, palyginti su jų santykiu pradiniam ATC tirpale. Tai leidžia patvirtinti, kad susidarant DESU/ATC kompleksams iš vandeninio mėlynių ekstrakto yra sujungiami ATC, o kiti fenoliniai junginiai (nejonogeniniai ar anijoniniai) lieka nesujungti.

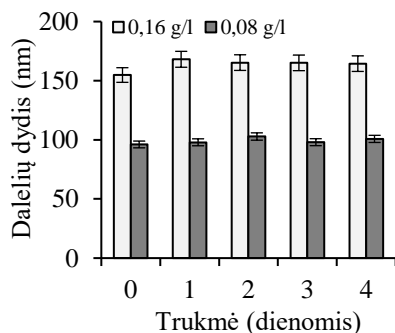
Esant optimaliam DESU ir ATC masių santykiui (0,4), buvo ištirta bendrosios DESU ir ATC koncentracijos įtaka į kompleksą sujungtų ATC kiekiui ir susidariusio komplekso dalelių dydžiui. Likutinė ATC koncentracija nustatyta po centrifugavimo, o kompleksų dalelių dydis išmatuotas prieš centrifugavimą ir po jo. Prieš centrifugavimą matuotas tirpale virš nuosėdų pakibusių kompleksų dalelių dydis. Didėjant bendrajai kompleksą sudarančių medžiagų koncentracijai tirpale, tirpalas vis daugiau susidrumščia, o nustojus maišyti susidaro vis daugiau nuosėdų. Kaip matyti iš 3.5 pav. *a* dalyje pateiktų duomenų, didinant bendrąją kompleksą sudarančių medžiagų koncentraciją, į kompleksą sujungtų ATC kiekis staigiai didėja ir pasiekia ~1,7 g/g DESU, kai bendroji DESU ir ATC koncentracija yra 0,24 g/l. Tolesnis bendrosios koncentracijos didinimas tik šiek tiek padidina į kompleksą sujungtų ATC kiekį. Šie rezultatai koreliuoja ir gali būti paaiškinti 3.5 pav. *b* dalyje pateiktais kompleksų dalelių matavimo rezultatais. Kompleksų dalelių dydžio prieš centrifugavimą priklausomybė nuo bendrosios DESU ir ATC koncentracijos yra S pavidalo kreivė. O po centrifugavimo likusių komplekso dalelių dydis mažai priklauso nuo bendrosios reaguojančių komponentų koncentracijos ir yra kiek didesnis, kai bendroji koncentracija 0,24 g/l.



3.5 pav. Sujungtų ATC kiekio (a) ir komplekso vidutinio dalelių dydžio (b) priklausomybė nuo bendrosios DESU ir ATC koncentracijos: 1 – prieš centrifugavimą; 2 – po centrifugavimo. DESU/ATC = 0,4

Reikia atkreipti dėmesį, kad kai bendroji DESU ir ATC koncentracija yra 0,16 g/l ar mažesnė, komplekso dalelių dydis prieš centrifugavimą ir po jo yra panašus, t. y. esant tokiai bendrajai DESU ir ATC koncentracijai gaunama stabili centrifuguojant nenusėdančių komplekso nanodalelių suspensija. Nustatant likutinę ATC koncentraciją po centrifugavimo į nanodalelių dydžio kompleksą sujungti ATC padidina likutinę ATC koncentraciją ir kartu sumažina į kompleksą sujungtų ATC kiekį.

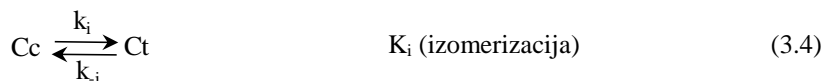
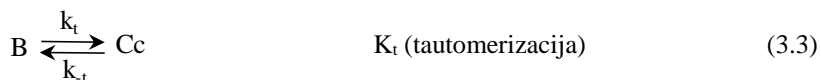
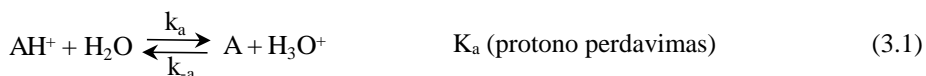
Esant optimaliam DESU ir ATC masių santykiui (0,4), buvo suformuoti kompleksai, kuriuos sudarančių medžiagų bendroji koncentracija – 0,08 g/l ir 0,16 g/l. Gautos komplekso dalelių suspensijos 4 paras buvo laikomos kambario temperatūroje ir buvo išmatuotas komplekso dalelių dydis. Iš 3.6 pav. pateiktų matavimo rezultatų matyti, kad komplekso dalelių agregacija saugant priklauso nuo pradinio dalelių dydžio, t. y. bendrosios DESU ir ATC koncentracijos.



3.6 pav. DESU/ATC komplekso dalelių dydžio laikant 20 °C temperatūroje priklausomybė nuo bendrosios kompleksą sudarančių medžiagų koncentracijos, kai DESU/ATC = 0,4

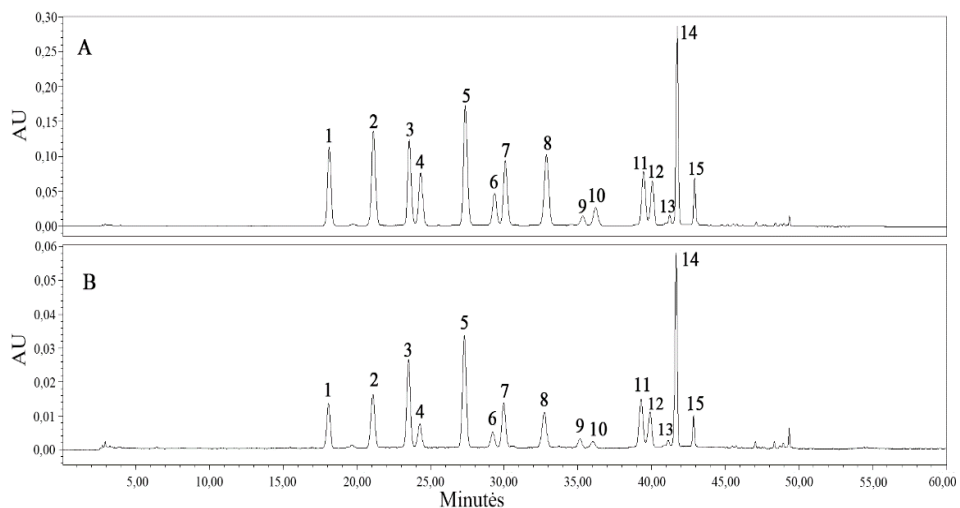
Ypač smulkios (99 ± 3 nm) komplekso dalelės gautos, kai bendroji DESU ir ATC koncentracija buvo 0,08 g/l, ir jų dydis saugant išliko stabilus. Kai bendroji koncentracija buvo 0,16 g/l, DESU/ATC komplekso dalelės po 4 dienų laikymo padidėjo nuo 155 ± 5 iki 165 ± 2 nm.

Stipriai rūgštiniuose ATC tirpaluose dominuoja raudonos spalvos flavilio katijonas AH^+ . Didėjant pH vertei flavilio katijonas dalyvauja dviejose lygiagrečiai vykstančiose reakcijose [200]: deprotonizacijos (3.1 lygtis), kai susidaro chinoidinė bazė A, ir hidratacijos (3.2 lygtis), kai susidaro hemiacetalis B, kuriam tautomerizuojantis susidaro nespalvoti chalkono izomerai Cc (3.3 lygtis) ir Ct (3.4 lygtis). Protono pernaša vyksta greičiau nei hidratacija, tačiau nusistovėjus pusiausvyrai daugeliu atvejų dariniai B, Cc ir Ct yra stabilesni nei A [200]. Vandeninio mėlynių ekstrakto pH vertė yra $3,1 \pm 0,1$, t. y. tirpale egzistuoja tiek AH^+ , tiek A. Kai į vandeninį mėlynių ekstraktą įpilama DESU tirpalo, flavilio katijonas yra prijungiamas prie DESU dėl elektrostatinės sąveikos ir pusiausvyra tarp AH^+ ir A arba B yra suardoma. Pusiausvyra atkuriamą susidarant papildomam kiekiui AH^+ , kuris vėl yra sujungiamas DESU. Todėl galima teigti, kad vandeniniame mėlynių ekstrakto esantys ATC yra sujungiami DESU sulfatogrupių flavilio katijono forma ir taip izoliuojami nuo kitų ekstrakto esančių junginių. Sąveika tarp DESU ir flavilio katijono gali pasibaigti dėl dviejų priežasčių: visos DESU sulfatogrupės yra įtrauktos į elektrostatinę sąveiką su flavilio katijonu arba nusistovi pusiausvyra tarp DESU neprijungto flavilio katijono ir tirpale likusių kitų ATC formų.



3.2.1. Dekstrano sulfato ir antocianinų kompleksų tyrimai efektyviosios skysčių chromatografijos metodu

Prieš tai aprašytuose tyrimuose apie DESU/ATC kompleksų susidarymą buvo sprendžiama iš bendrosios koncentracijos, išreikštos cia-3-gkl ekvivalentais, pokyčio vandeniniame mėlynių ekstrakto. Tačiau mėlynių ekstrakto yra nemažai skirtingų ATC (3.1 poskyris, 3.1 lent.), ir jų sąveikai su DESU įvertinti buvo taikomas efektyviosios skysčių chromatografijos metodas. 3.7 pav. pateiktos chromatogramos su rastų skirtingų ATC smailėmis pradiniam mėlynių ekstrakto (A) ir tirpale, likusiame po komplekso ($DESU/ATC = 0,4$, bendroji koncentracija 0,63 g/l) nuosėdų atskyrimo centrifuguojant (B).



3.7 pav. ATC iš vandeninio mėlynių ekstrakto (A) ir DESU/ATC tirpalo po centrifugavimo (B) chromatograma. Analitės: 1 – delfinidino-3-*O*-galaktozidas, 2 – delfinidino-3-*O*-gliukozidas, 3 – cianidino-3-*O*-galaktozidas, 4 – delfinidino-3-*O*-arabinozidas, 5 – cianidino-3-*O*-gliukozidas, 6 – petunidino-3-*O*-galaktozidas, 7 – cianidino-3-*O*-arabinozidas, 8 – petunidino-3-*O*-gliukozidas, 9 – peonidino-3-*O*-galaktozidas, 10 – petunidino-3-*O*-arabinozidas, 11 – peonidino-3-*O*-gliukozidas, 12 – malvidino-3-*O*-galaktozidas, 13 – peonidino-3-*O*-arabinozidas, 14 – malvidino-3-*O*-gliukozidas, 15 – malvidino-3-*O*-arabinozidas. Bendroji ATC koncentracija buvo 0,63 g/l, DESU/ATC = 0,4

Lyginant A ir B chromatogramų profilius, matyti, kad smailių plotas sumažėjo dėl skirtingų ATC sąveikos su DESU. Didžiausi smailių pokyčiai buvo šių ATC: cianidino-3-*O*-arabinozido, cianidino-3-*O*-galaktozido, cianidino-3-*O*-gliukozido, delfinidino-3-*O*-galaktozido, delfinidino-3-*O*-gliukozido, delfinidino-3-*O*-arabinozido, malvidino-3-*O*-gliukozido, petunidino-3-*O*-gliukozido ir peonidino-3-*O*-gliukozido. Chromatogramose pastebėti nežymūs sulaikymo trukmės pakitimai, kuriuos galėjo lemti tirpūs ar nanodalelių dydžio DESU/ATC kompleksai, likę tirpale po komplekso susiformavimo. Šie pokyčiai rezultatų tikslumui didelės įtakos neturėjo.

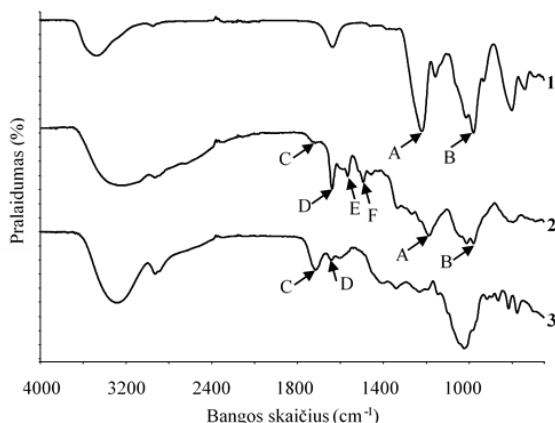
Pagal ATC smailių plotus apskaičiuota 9 skirtingų ATC pradinė koncentracija ir koncentracija po komplekso susidarymo bei ATC, sujungtų į kompleksą su DESU, kiekis. Gauti rezultatai pateikti 3.3 lent. Taip pat pH metodu buvo nustatyta ATC koncentracija pradiniam tirpale ir tirpale po komplekso susidarymo – šie rezultatai pateikti toje pačioje lentelėje. Iš chromatogramų apskaičiuotas bendras į DESU/ATC kompleksą sujungtų ATC kiekis sudarė 81,6 % pradinio kiekio, o skirtingų ATC kiekis kito nuo 73,7 % (malvidino-3-*O*-gliukozido) iki 90,8 % (delfinidino-3-*O*-arabinozido). Suminis ATC kiekis buvo nustatytas ESC ir šiuo atveju jis buvo didesnis už ATC kiekį, nustatytą pH metodu.

3.3 lentelė. Į kompleksą su DESU sujungtų skirtingų ATC kiekis, apskaičiuotas iš chromatogramų (DESU/ATC = 0,4, bendroji koncentracija 0,63 g/l)

ATC (analitės numeris)	Koncentracija (g/l)		Sujungtų ATC kiekis	
	Pradinė	Po komplekso susidarymo	(g/g)	(%)
Cianidino-3- <i>O</i> -arabinozidas (7)	0,059	0,009	0,20	84,7
Cianidino-3- <i>O</i> -galaktozidas (3)	0,080	0,017	0,25	78,0
Cianidino-3- <i>O</i> -gliukozidas (5)	0,093	0,023	0,28	74,8
Delfinidino-3- <i>O</i> -arabinozidas (4)	0,057	0,005	0,21	90,8
Delfinidino-3- <i>O</i> -galaktozidas (1)	0,076	0,009	0,26	87,7
Delfinidino-3- <i>O</i> -gliukozidas (2)	0,084	0,012	0,28	85,3
Malvidino-3- <i>O</i> -gliukozidas (14)	0,104	0,027	0,31	73,7
Petunidino-3- <i>O</i> -gliukozidas (8)	0,069	0,009	0,24	86,5
Peonidino-3- <i>O</i> -gliukozidas (11)	0,045	0,012	0,13	74,2
Bendra (-as)	0,667	0,123	2,160	81,6
Pagal pH metodą	0,630	0,140	1,960	77,8

3.2.2. Dekstrano sulfato ir antocianinų kompleksų FT-IR tyrimai

DESU/ATC komplekso, esant optimaliam masių santykiui, nuosėdos buvo nucentrifuguotos, praplautos distiliuotu vandeniu iki bespalvio tirpalo ir išdžiovintos kambario temperatūroje. Užrašyti gauto komplekso, DESU ir liofilizuoto vandeninio mėlynių ATC ekstrakto FT-IR spektrai (3.8 pav.). DESU FT-IR spektrui (3.8 pav., 1 kreivė) yra būdingos absorbcijos smailės ties 1220 cm^{-1} (smailė A) ir 980 cm^{-1} (smailė B), kurios priskiriamos atitinkamai asimetriniams ir simetriniams S=O grupės virpesiams [135]. Absorbcijos smailė ties 1220 cm^{-1} buvo panaudota tiriant DESU ir chitozano kompleksų susidarymą [201]. ATC FT-IR spektras (3.8 pav., 3 kreivė) yra būdingos absorbcijos smailės ties 1716 cm^{-1} (smailė C) ir 1645 cm^{-1} (smailė D), priskiriamos aromatinių benzopirano žiedų virpesiams [202, 203]. DESU/ATC komplekso FT-IR spektras (3.8 pav., 2 kreivė) gerokai skiriasi nuo pradinių kompleksą sudarančių medžiagų FT-IR spektrų. Šiame spektre sumažėja DESU būdingų absorbcijos smailių intensyvumas ir jos pasislenka trumpesniųjų bangų link. Gerokai sumažėja ATC būdingos smailės ties 1716 cm^{-1} intensyvumas, o smailė 1645 cm^{-1} pasislenka trumpesniųjų bangų pusėn ir padidėja jos intensyvumas. Bangos skaičiaus ir smailių intensyvumo pokyčiai leidžia patvirtinti, kad susidarė sąveika tarp DESU sulfatograpių ir ATC flavilio katijono. Panašūs pokyčiai buvo pastebėti susidarant DESU ir chitozano kompleksams [139, 141, 201]. Be to, DESU/ATC FT-IR spektre atsirado naujos smailės apie 1567 cm^{-1} (smailė E) ir 1494 cm^{-1} (smailė F). Tokios smailės yra randamos cianidino-3-*O*-gliukozido, pelargonidino-3-*O*-gliukozido ir delfinidino-3-*O*-gliukozido chlorido FT-IR spektruose [204, 205] ir yra priskiriamos A ir B žiedų ATC molekulėse deformaciniams virpesiams. Smailių, susijusių su tam tikrais ATC, atsiradimas DESU/ATC komplekso spektre leidžia patvirtinti, kad įvyko sąveika tarp ATC ir DESU, ir parodo, kad kompleksui susiformavus ATC atskiriami nuo kitų junginių, esančių mėlynių ekstrakto. Liofilizuotų mėlynių spektre šios smailės gali būti uždengtos kitų junginių, esančių ekstrakto, smailėmis.



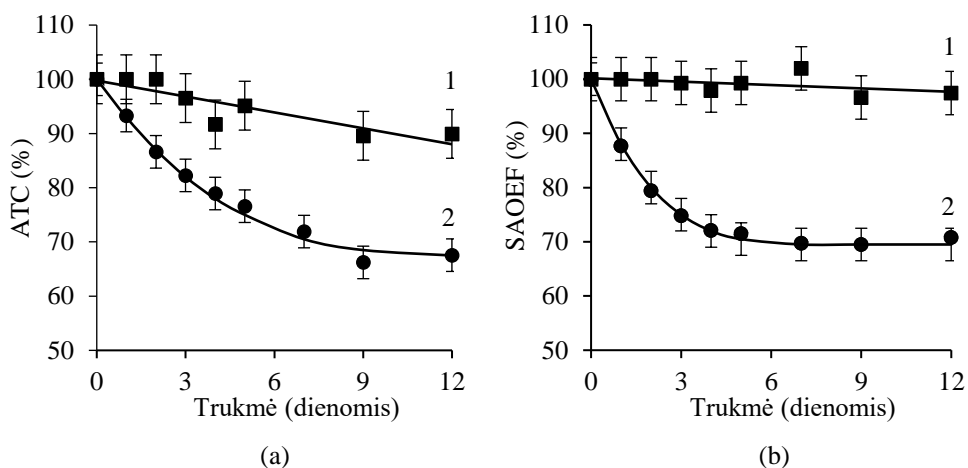
3.8 pav. FT-IR spektrai: 1 – DESU; 2 – komplekso, kai DESU/ATC = 0,4; 3 – liofilizuoto mėlynių ATC ekstrakto

3.2.3. Antocianinų, sujungtų su dekstrano sulfatu į optimalios sudėties kompleksą, stabilumo tyrimai

Remiantis mokslinėje literatūroje pateiktais duomenimis [47, 206, 207, 208], galima teigti, kad intra- ir interkopigmentacija trukdo ATC hidratacijai, t. y. padidina flavilio katijono ir chinoidinės bazės stabilumą, susidaro mažiau bespalvių chalkono izomerų – išsaugoma ATC tirpalų spalva. Panašų poveikį ATC stabilumui gali turėti ir jų sujungimas į joninį kompleksą.

Atlikti optimalios sudėties DESU/ATC komplekso (masių santykis 0,4) suspensijos ir pradinio mėlynių ATC ekstrakto stabilumo tyrimai, esant tai pačiai 0,3 g/l ATC koncentracijai. Buvo tiriama ATC koncentracijos ir santykinio antioksidacinio efektyvumo (SAOEF) kitimas laikant bandinius 4 °C temperatūroje. Gauti duomenys pateikti 3.9 pav. Kaip matyti iš paveikslėlio *a* dalyje pateiktų kreivių, į kompleksą su DESU sujungtų ATC stabilumas yra daug didesnis. Po 12 dienų DESU/ATC komplekso tirpale ATC koncentracija sumažėjo tik apie 12 %. O vandeniniame mėlynių ekstrakto ATC koncentracija laikymo metu sumažėjo net 35 %. Kartu buvo išsaugotos į kompleksą sujungtų ATC antioksidacinės savybės (3.9 pav., *b*). 3.9 pav. *a* ir *b* dalyse pateiktų kreivių pobūdžio skirtumas gali būti paaiškintas tuo, kad antioksidacinės savybės lemia ne tik ATC, bet ir kiti fenoliniai junginiai, kurie yra tiek pradiname mėlynių ekstrakto, tiek DESU/ATC kompleksų suspensijoje.

ATC stabilumo padidėjimas ir antioksidacinio efektyvumo išsaugojimas gali būti siejamas su joninio kompleksu iš ATC ir DESU susidarymu. Analogiški rezultatai buvo gauti tiriant ATC ir chondroitino sulfato kompleksų stabilumą [5]. Mokslininkų nuomone, chondroitino sulfato ir ATC kompleksai susiformuoja labai greitai, apsaugo ATC nuo hidratacijos, todėl yra stabilūs ir pasižymi geresnėmis antioksidacinėmis ir priešvėžinėmis savybėmis nei ATC [5, 68].

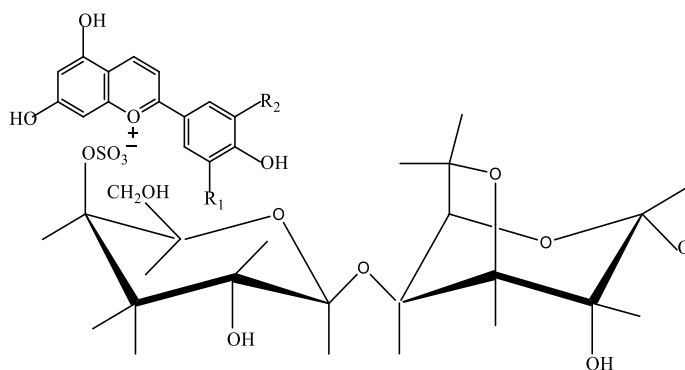


3.9 pav. ATC koncentracijos (a) ir SAOEF (b) priklausomybė nuo laikymo trukmės: 1 – DESU/ATC = 0,4; 2 – vandeninis mėlynių ekstraktas. Laikyta tamsoje 4 °C temperatūroje. ATC koncentracija 0,3 g/l

3.3. Karageninų kompleksų su vandeniniame mėlynių ekstrakte esančiais antocianinais gavimas

3.3.1. Vandeniniuose tirpaluose formuojami karageninų ir antocianinų kompleksai

Karageninai yra sulfatogrupių turintys linijinių makromolekulių polisacharidai, išgaunami iš tam tikrų rūšių jūrų dumblių [209]. Skirtingai nuo DESU, kuris plačiai naudojamas tik farmacijos pramonėje, KARG yra maisto priedai (E407) ir naudojami kaip emulsikliai, stabilizatoriai ir tirštikliai [210]. Turėdami sulfatogrupių, KARG taip pat galėtų sudaryti joninius kompleksus su ATC flavilio kationu pagal 3.10 pav. pateiktą schemą.

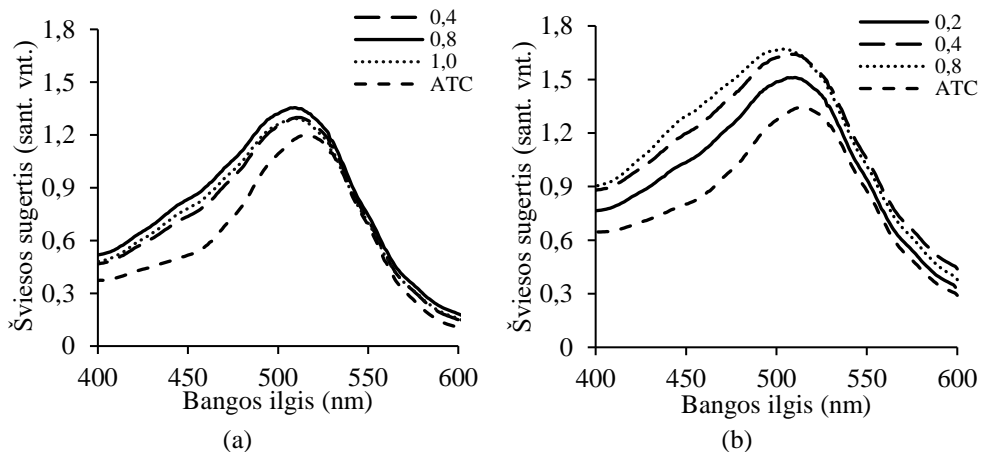


3.10 pav. Joninė sąveika tarp κ -KARG sulfatogrupių ir ATC flavilio kationo

Kompleksams su ATC sudaryti buvo pasirinkti vieną sulfatogrupę elementariojoje grandyje turintis κ -karageninas (κ -KARG) bei dvi sulfatogrupes turintis ι -karageninas (ι -KARG). Koks kompleksas – tirpus, opalescuojanti

nanodalelių suspensija ar nuosėdos – susidarys, priklauso nuo kompleksą sudarančių medžiagų masių santykio ir bendrosios jų koncentracijos. Kadangi mėlynių ekstrakte esantis ATC kiekis išreiškiamas *cis*-3-glk ekvivalentais, kompleksų sudėtis įvertinta KARG ir ATC masių santykiu (KARG/ATC).

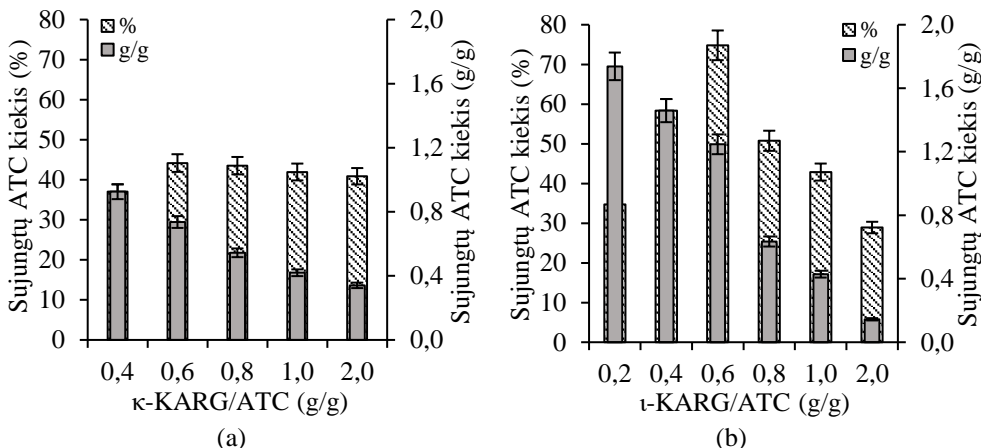
Kompleksų iš ATC ir κ -KARG bei ι -KARG susidarymą leidžia patvirtinti 3.11 pav. pateiktos šviesos sugerties kompleksų tirpalais kreivės, esant nedidelei bendrajai kompleksą sudarančių medžiagų koncentracijai (0,06 g/l), t. y. koncentracijai, kuriai esant susidaro tirpūs arba nanodalelių dydžio kompleksai. Kaip ir DESU/ATC kompleksų atveju (3.2 poskyris, 3.2 pav.), formuojantis κ -KARG/ATC ir ι -KARG/ATC kompleksams yra matomas hipsochrominis šviesos sugerties maksimumo poslinkis trumpesniųjų bangų link, t. y. tirpalas įgauna raudonesnį, palyginti su ATC tirpalu, atspalvį, taip pat padidėja maksimalioji šviesos sugerties vertė, o pokyčių dydis priklauso nuo KARG ir ATC masių santykio. Gauti šviesos sugerties maksimumo kitimo duomenys leidžia patvirtinti, kad susidarė κ -KARG/ATC ir ι -KARG/ATC kompleksai.



3.11 pav. Šviesos sugerties ATC ir skirtingos sudėties κ -KARG/ATC (a) bei ι -KARG/ATC (b) kompleksų tirpalais spektrai. ATC koncentracija 0,06 g/l

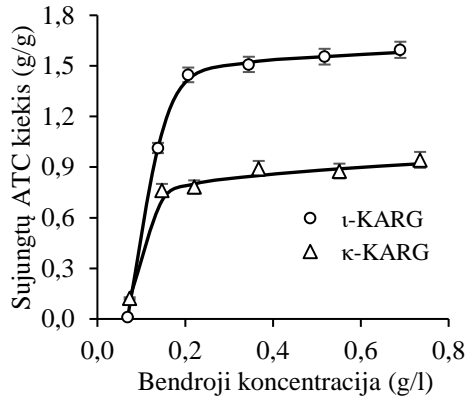
Didėjant bendrajai ATC ir KARG koncentracijai, kompleksų tirpalai pradeda drumstis, t. y. susidaro netirpūs kompleksai. Vandeniškuose tirpaluose buvo sudaryti κ -KARG/ATC ir ι -KARG/ATC kompleksai, esant skirtingam jų masių santykiui, tačiau pastoviai 0,7 g/l bendrajai KARG ir ATC koncentracijai. Netirpiai komplekso frakcijai pašalinti tirpalai buvo centrifuguojami ir likusiame tirpale buvo nustatyta ATC koncentracija, apskaičiuotas su KARG sujungtų ATC kiekis. Pastarasis išreikštas tiek ATC gramais, tenkančiais gramui κ -KARG ar ι -KARG, tiek procentais nuo pradinės ATC koncentracijos. Gauti rezultatai pateikti 3.12 pav. Iš jo matyti, kad į kompleksą sujungtų ATC kiekis priklauso tiek nuo kompleksą sudarančių medžiagų masių santykio, tiek nuo naudoto KARG. Kaip buvo galima tikėtis, dvi sulfatogrupės turintis ι -KARG sujungia daugiau ATC nei vieną sulfatogrupę turintis κ -KARG. Komplexė didėjant κ -KARG masės daliai, sujungtų ATC kiekis, išreikštas procentais nuo pradinio kiekio, keičiasi nedaug ir tik tada, kai masių santykis κ -KARG/ATC = 2

gerokai sumažėja. Komplekse didėjant ι -KARG masės daliai, sujungtų ATC kiekis, išreikštas procentais, turi aiškią optimalią vertę, kai masių santykis yra 0,6. O ATC kiekis gramais gramui KARG, didėjant KARG ir ATC masių santykiui, nuolat mažėja tiek komplekse su κ -KARG, tiek komplekse su ι -KARG. Įvertinus šiuos abu rodiklius, galima daryti išvadą, kad daugiausia ATC į kompleksą yra sujungiama, kai tiek κ -KARG ir ATC, tiek ι -KARG ir ATC masių santykis yra 0,4.



3.12 pav. Į kompleksą sujungtų ATC kiekio priklausomybė nuo KARG ir ATC masių santykio. Bendroji pradinė ATC ir KARG koncentracija 0,7 g/l

Esant optimaliam masių santykiui (KARG/ATC = 0,4), buvo ištirta bendrosios KARG ir ATC koncentracijos įtaka į kompleksą sujungtų ATC kiekiui. Likutinė ATC koncentracija nustatyta po centrifugavimo. Gauti rezultatai pateikti 3.13 pav. Iš jo matyti, kad, κ -KARG ar ι -KARG atveju bendrajai kompleksą sudarančių medžiagų koncentracijai didėjant atitinkamai iki 0,15 ar 0,2 g/l, į kompleksą sujungtų ATC kiekis pradžioje sparčiai didėja. Tolesnis bendrosios koncentracijos didinimas tik nežymiai keičia į kompleksą sujungtų ATC kiekį. Viena iš tokių rezultatų priežasčių gali būti ta, kad, esant mažesnei bendrajai kompleksą sudarančių medžiagų koncentracijai, gautas kompleksas yra labai mažų dalelių ir nėra nusėdinamas centrifuguojant. Tai leido patvirtinti kompleksų suspensijos dalelių dydžio matavimas prieš centrifugavimą ir po jo. Kai bendroji KARG ir ATC koncentracija buvo 0,07 g/l κ -KARG/ATC kompleksų atveju, dalelių dydis prieš centrifugavimą buvo 250 ± 15 nm, po centrifugavimo – 200 ± 15 nm. ι -KARG/ATC kompleksų dalelės buvo atitinkamai 850 ± 25 nm ir 725 ± 25 nm. Likusios fugate tokios dalelės padidina likutinę ATC koncentraciją ir taip sumažina į kompleksą sujungtų ATC kiekį. Kai bendroji kompleksą sudarančių medžiagų koncentracija yra didesnė už 0,15 g/l (κ -KARG/ATC atveju) ar 0,2 g/l (ι -KARG/ATC atveju), susidaro didesnės netirpios kompleksų dalelės ir visas kompleksas yra nusėdinamas centrifuguojant. Maksimalus tokiomis sąlygomis į kompleksą sujungtų ATC kiekis yra 0,95 g/g κ -KARG/ATC atveju ir 1,6 g/g ι -KARG/ATC atveju.

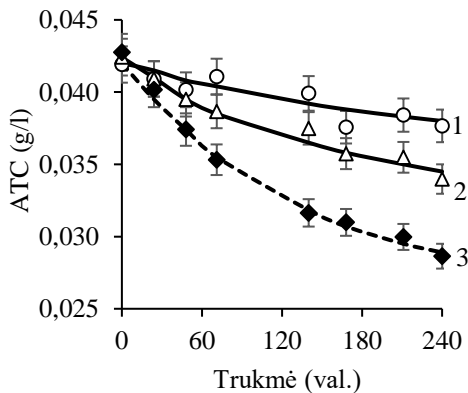


3.13 pav. Į kompleksą sujungtų ATC kiekio priklausomybė nuo bendrosios KARG ir ATC koncentracijos. KARG/ATC = 0,4

3.3.1.1. Karageninų ir antocianinų kompleksų stabilumo ir antioksidacinių savybių tyrimai

Galima tikėtis, kad, kaip ir DESU/ATC kompleksų atveju (3.2.3 skyrelis), ATC imobilizavimas kompleksuose su KARG apsaugos ATC flavilio katijoną nuo hidratacijos ir padidins vandeninių KARG/ATC suspensijų stabilumą saugant.

κ-KARG/ATC ir ι-KARG/ATC kompleksų suspensijos (masių santykis 0,4, bendroji reagentų koncentracija 0,0625 g/l, ATC koncentracija 0,0445 g/l) buvo laikomos tamsoje 4 °C temperatūroje. Kartu buvo laikomas vandeninis mėlynių ekstraktas, turintis 0,0445 g/l ATC. Kaip matyti iš 3.14 pav. pateiktų duomenų, į kompleksą su KARG sujungtų ATC stabilumas gerokai išaugo.



3.14 pav. ATC koncentracijos priklausomybė nuo laikymo tamsoje 4 °C temperatūroje trukmės: 1 – ι-KARG/ATC = 0,4; 2 – κ-KARG/ATC = 0,4; 3 – ATC. Bendroji kompleksų sudarančių reagentų koncentracija 0,0625 g/l, ATC koncentracija 0,0445 g/l

Po 240 val. laikymo ATC koncentracija ι-KARG/ATC suspensijoje sumažėjo 10 %, κ-KARG/ATC suspensijoje – 20 %, o mėlynių ekstrakto tirpale – 33 %. Reikia atkreipti dėmesį, kad į kompleksą su dvi sulfatogrupes turinčiu ι-KARG sujungtų

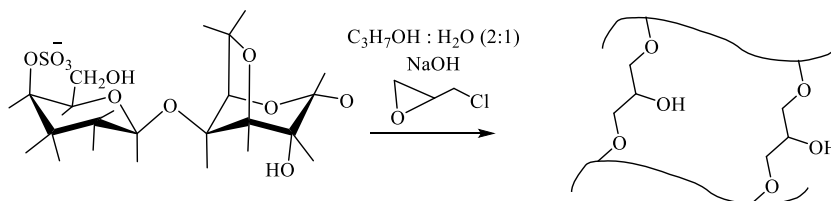
ATC stabilumas yra didesnis nei sujungtų į kompleksą su viena sulfatogrupę turinčiu κ -KARG. Didesnis ATC stabilumas komplekse su ι -KARG gali būti siejamas su kompaktiškesnėmis kompleksu dalelėmis.

Su ATC koncentracijos kitimu yra susijęs ir antioksidacinis efektyvumas (nustatytas ABTS* metodu). Jis ι -KARG/ATC, κ -KARG/ATC kompleksų atveju po 240 val. sumažėjo atitinkamai apie 20 % ir 25 %, mėlynių ekstrakto atveju – apie 41 %.

3.3.2. Tinklinių karageninų darinių gavimas ir panaudojimas antocianinų adsorbicijai

Remiantis 3.3.1 skyrelyje pateiktais duomenimis, galima teigti, kad, esant didesnei kompleksą sudarančių medžiagų koncentracijai tirpale, galima gauti netirpius KARG/ATC kompleksus. Tačiau toks netirpių kompleksų gavimo būdas nėra efektyvus, nes naudojamas didelis kiekis praskiestų tirpalų, o nuosėdų susidaro nedaug. Kur kas efektyvesnis būdas gauti netirpius kompleksus būtų ATC adsorbicija KARG mikrogranulėmis. Tačiau KARG yra vandenyje tirpūs polisacharidai. Vienas iš būdų sumažinti KARG tirpumą vandenyje yra tarp jų makromolekulių sudaryti skersinius ryšius. Kaip KARG tinklinimo agentai yra naudojami epichlorhidras [211], glutaro aldehidas [212], viniltrioksisilanas [213] ar genipinas [214].

Netirpiems vandenyje mikrogranulių KARG dariniams gauti buvo pasirinktas tinklinimas epichlorhidrinu (EPCH) šarminėje terpėje (3.15 pav.).

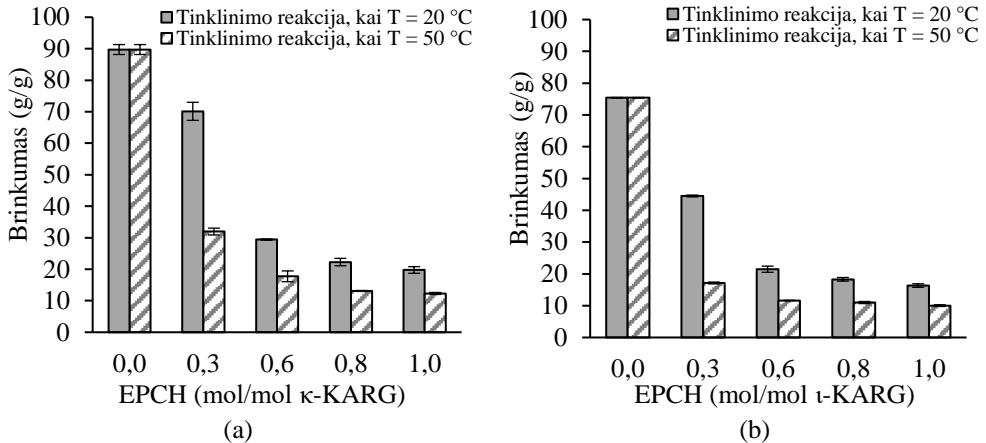


3.15 pav. Skersinių ryšių susidarymo tarp κ -KARG makromolekulių schema

Siekiant išvengti pradinio KARG tirpumo, tinklinimo reakcija vykdyta izopropilo alkoholio ir vandens mišinyje santykiu 2:1 (pagal tūrį). Tinklinant EPCH sunku įvertinti gautų skersinių ryšių skaičių, nes nėra paprasto kiekybinio metodo prijungto EPCH kiekiui nustatyti. Todėl šiame darbe, kaip ir kituose [215, 216], skersinių ryšių skaičius išreikštas pagal sunaudoto EPCH kiekį moliui KARG (mol/mol).

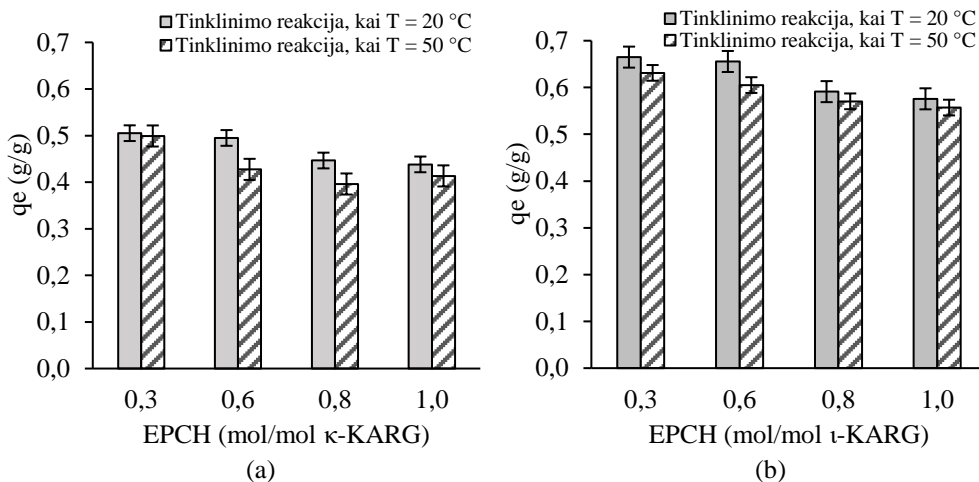
Įvairaus tinkliškumo κ -KARG ir ι -KARG dariniams gauti EPCH kiekis reakcijos mišinyje buvo 0,3, 0,6, 0,8 ir 1 mol/mol KARG, reakcija vyko 20 °C ar 50 °C temperatūroje. Gauti tinkliniai dariniai pavadinti κ -KARG-T ir ι -KARG-T. Susidarant skersiniams ryšiams yra suvaržoma polimero galimybė brinkti, todėl apie susidariusių skersinių ryšių skaičių netiesiogiai galima spręsti iš brinkimo vandenyje pokyčių. Kaip matyti iš 3.16 pav. pateiktų duomenų, κ -KARG-T ir ι -KARG-T brinkimas vandenyje mažėja didėjant tiek EPCH kiekiui reakcijos mišinyje, tiek tinklinimo reakcijos temperatūrai. Didėjant skersiniams ryšiams sudaryti sunaudoto EPCH kiekiui, κ -KARG-T brinkimas sumažėjo nuo 70,1 iki 19,8 g/g tinklinant 20 °C temperatūroje ir nuo 32 iki 12,3 g/g 50 °C temperatūroje, o ι -KARG-T – nuo 44,5 iki

16,3 g/g ir nuo 17,2 iki 10 g/g atitinkamai 20 °C ir 50 °C temperatūroje. T. y. galima teigti, kad aukštesnėje temperatūroje, esant tam pačiam EPCH kiekiui, susidaro daugiau skersinių ryšių. Visais atvejais tinkliniai ι -KARG-T dariniai vandenyje brinko mažiau nei tinkliniai κ -KARG-T dariniai.

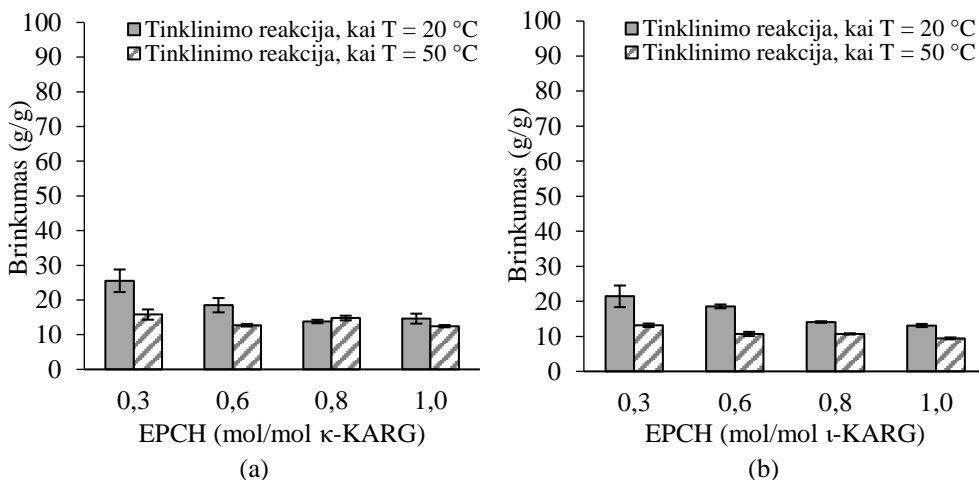


3.16 pav. κ -KARG-T (a) ir ι -KARG-T (b) mikrogranulių brinkumo vandenyje priklausomybė nuo tinklinimui sunaudoto EPCH kiekio ir reakcijos temperatūros

Esant skirtingam EPCH kiekiui skirtingoje temperatūroje gautos κ -KARG-T ir ι -KARG-T mikrogranulės buvo panaudotos vandeniniame mėlynių ekstrakte esantiems ATC adsorbuoti. Kaip matyti iš 3.17 pav. pateiktų duomenų, sudarytų skersinių ryšių skaičius neturi didelės įtakos tinkliniais KARG dariniais adsorbuotų ATC kiekiui ir šis yra kiek mažesnis tik adsorbuojant aukštesnėje temperatūroje gautais KARG-T. Iš vandeninio mėlynių ekstrakto ATC adsorbuojami dėl elektrosstatinės sąveikos tarp flavilio katijono ir KARG sulfatogrūpių. Adsorbuojantis ATC molekulėms yra blokuojamos jonogeninės polimero grupės, todėl KARG brinkumas turi dar sumažėti. Tai leidžia patvirtinti 3.18 pav. pateikti κ -KARG-T ir ι -KARG-T brinkumo ATC tirpale duomenys, arba, kitaip tariant, κ -KARG-T/ATC ir ι -KARG-T/ATC mikrogranulių brinkumas ATC tirpale po adsorbicijos. κ -KARG-T/ATC ir ι -KARG-T/ATC mikrogranulėmis sulaikytas mėlynių ekstrakto tirpalo kiekis sumažėjo daugiau kaip du kartus, palyginti su sulaikytu vandens kiekiu (3.16 pav.), be to, beveik nepriklausė nei nuo skersinių ryšių skaičiaus, nei nuo KARG sulfatogrūpių skaičiaus.



3.17 pav. Adsorbuotų ATC kiekio priklausomybė nuo adsorbėjai naudoto κ -KARG-T (a) ir τ -KARG-T (b) tinkliškumo. Pradinė ATC koncentracija 0,24 g/l



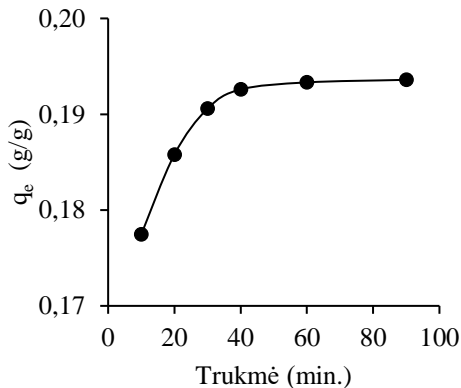
3.18 pav. κ -KARG-T/ATC (a) ir τ -KARG-T/ATC (b) mikrogranulių brinkumo ATC tirpale po adsorbcijos priklausomybė nuo tinklinimui sunaudoto EPCH kiekio ir reakcijos temperatūros

Įvertinus KARG tinklinimo reakcijos sąlygas, ATC adsorbciją gautais tinkliniais KARG dariniais ir gautų KARG-T/ATC mikrogranulių brinkumą, galima teigti, kad tinkamų savybių κ -KARG-T ir τ -KARG-T mikrogranulėms gauti pakankamas EPCH kiekis yra 0,3 mol/mol KARG vykdant reakciją 20 °C temperatūroje. Taip tinkinti KARG dariniai naudoti tiriant pusiausvirąją ATC adsorbciją.

3.3.3. Antocianinų pusiausvrosios adsorbcijos tinkliniais karagenino dariniais tyrimai

3.2 ir 3.3 poskyriuose DESU ar KARG kompleksų su vandeniniame mėlynių uogų ekstrakto esančiais ATC susidarymas yra aiškinamas elektrostatische sąveika tarp priešingų ženklų krūvio grupių, t. y. ATC flavilio katijono ir polimerų sulfatogrupių. O Pietų Korėjos mokslininkai savo darbe [5] kompleksų iš ATC ir chondroitino sulfato susidarymą aiškina ne tik elektrostatische sąveika, bet ir hidrofobine sąveika bei ATC molekulių stekingu. Papildomos informacijos apie sąveikos jėgas tarp anijoninių polisacharidų ir ATC galima gauti iš pusiausvrosios adsorbcijos duomenų ir jiems aprašyti taikomų matematinių adsorbcijos modelių.

Kadangi vienu metu gali vykti tiek flavilio katijono adsorbcija, tiek jo susidarymas iš chinoidinės (3.2 poskyris, p. 52) bazės, buvo nustatytas laikas, per kurį nusistovi pusiausvyra tarp ATC, adsorbuotų κ -KARG-T, ir ATC, likusių tirpale, kiekio. Kaip matyti iš 3.19 pav. pateiktos kinetinės kreivės, pusiausvyra visiškai nusistovi po 60 min. nuo adsorbcijos pradžios. Būtent tiek truko visi kituose darbo etapuose atlikti pusiausvrosios ATC adsorbcijos tinkliniais KARG dariniais bandymai. Tęsiant adsorbciją ilgiau, gali būti prarandamos vertingosios ATC savybės, ypač aukštesnėje temperatūroje.



3.19 pav. κ -KARG-T adsorbuotų ATC kiekio priklausomybė nuo adsorbcijos trukmės 30 °C temperatūroje. Pradinė ATC koncentracija 0,23 g/l

Flavilio katijono kiekis vandeniniame mėlynių ATC tirpale priklauso nuo terpės pH vertės. Norimai vertei pasiekti yra naudojami buferiniai elektrolitų tirpalai. Tačiau yra žinoma [217], kad tirpale esantys elektrolitai keičia polimerų kompleksų su kitais junginiais susidarymą. Buvo paruošti 0,3 g/l koncentracijos mėlynių ATC tirpalai, praskiedžiant pradinį 0,6 g/l ATC tirpalą tuo pačiu kiekiu distiliuoto vandens, 0,1 M HCl tirpalu, buferiniais tirpalais, naudojamais ATC koncentracijai nustatyti (pH = 1, sudarytas iš HCl ir KCl tirpalų; pH = 4,5, sudarytas iš HCl ir CH₃COONa tirpalų), bei fosfatiniu buferiniu tirpalu, kurio pH vertė 7. Iš šių tirpalų pusiausvyros sąlygomis ATC buvo adsorbuoti κ -KARG-T. Adsorbuotų ATC kiekis ir tirpalų pH vertė po adsorbcijos pateikti 3.4 lent.

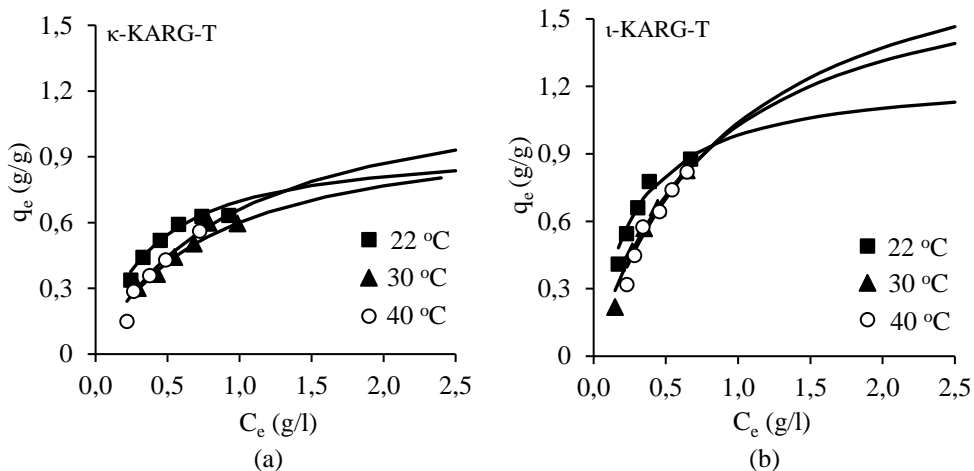
3.4 lentelė. Pusiausvyros sąlygomis κ -KARG-T adsorbuotų ATC kiekio ir tirpalo pH vertės po adsorbcijos priklausomybė nuo terpės sudėties, kai pradinė ATC koncentracija buvo 0,3 g/l, o κ -KARG-T – 0,25 g/l

ATC praskiesti naudotas tirpalas	Tirpalo pH po adsorbcijos	Adsorbuotų ATC kiekis, g/g
Distiliuotas vanduo (pH = 5)	3,2	0,128
0,1 M HCl (pH = 1)	1,8	0,117
0,2 M buferinis tirpalas (pH = 1)	1,7	0,100
0,64 M buferinis tirpalas (pH = 4,5)	4,4	0,115
0,01 M fosfatinis buferinis tirpalas (pH = 7)	3,5	0,045

Kaip matyti iš lentelėje pateiktų duomenų, daugiausia ATC buvo adsorbuota iš tirpalo, praskiesto distiliuotu vandeniu. Iš praskiestųjų kitais tirpalais adsorbuota mažiau ATC. Be to, adsorbuotų ATC kiekis priklausė ne tiek nuo tirpalo pH vertės, kiek nuo skiesti naudoto tirpalo sudėties. Esant panašiai tirpalo po adsorbcijos pH vertei, atitinkamai 1,8 arba 1,7 (3.4 lent.), daugiau ATC buvo adsorbuota iš tirpalo, kuriame buvo tik HCl, nei iš tirpalo, turinčio ne tik HCl, bet ir KCl (buferinis tirpalas, kurio pH = 1). Atskiedus buferiniu tirpalu, sudarytu iš HCl ir CH₃COONa (tirpalo pH vertė po adsorbcijos buvo 4,4), ATC adsorbuota panašiai, kaip ir iš tirpalo, atskiesto 0,1 M HCl, atitinkamai 0,115 ir 0,117 g/g. O iš tirpalo, atskiesto fosfatininiu buferiniu tirpalu, ATC adsorbcija beveik nevyko, nors po adsorbcijos tirpalo pH vertė nedaug skyrėsi nuo pH vertės tirpalo, atskiesto distiliuotu vandeniu. Apibendrinant pateiktus duomenis, galima teigti, kad ATC adsorbcijai didesnę įtaką turi tirpale esantys elektrolitai nei tirpalo pH vertė. Todėl pusiausvirosios ATC adsorbcijos KARG-T bandymuose vandeninis mėlynių ekstraktas buvo skiedžiamas distiliuotu vandeniu.

Pusiausvirosi ATC adsorbcija κ -KARG-T ar ι -KARG-T mikrogranulėmis buvo tiriama 22 °C, 30 °C ir 40 °C temperatūroje. Gautoms adsorbcijos izotermoms aprašyti pritaikyti Lengmiūro, Freundlichio, Dubinino ir Radushkevicho bei Temkino adsorbcijos modeliai. Gautos adsorbcijos izotermos pateiktos 3.20 pav.

Kadangi ATC koncentracija paruoštoje vandeninėje mėlynių ištraukoje nėra didelė (0,6–0,7 g/l), eksperimentais buvo galima gauti tik pradinius adsorbcijos izotermų taškus. Didesnė paveiksluose pavaizduotų adsorbcijos izotermų dalis buvo gauta ekstrapolijuojant ir taikant Lengmiūro adsorbcijos modelio konstantas.



3.20 pav. ATC adsorbcijos κ -KARG-T (a) ir ι -KARG-T (b) mikrogranulėmis izotermos skirtingoje temperatūroje. Taškai atitinka eksperimentinius duomenis, kreivės nubraižytos naudojant Lengmiūro modelio rodiklius

Remiantis Lengmiūro adsorbcijos modeliu [186], adsorbato molekulės vientisu sluoksniu padengia aktyviuosius adsorbento centrus. Adsorbato molekulei užėmus aktyvų centrą, šis nebedalyvauja adsorbcijoje ir tarp gretimų aktyviuosius centrus užėmusių adsorbato molekulių nėra sąveikos. Be to, adsorbento struktūra yra homogeniška ir visi aktyvieji centrai yra identiški ir energijos požiūriu vienodi. Teoriškai adsorbento sorbcinė geba yra visiškai išnaudota, kai jame nelieka laisvų aktyviųjų centrų.

Apskaičiuotos Lengmiūro sorbcinės gebos Q_L bei pusiausvyros konstantos K_L vertės kartu su tiesės lygties pasiklivimo lygio R^2 vertėmis ($R^2 > 0,98-0,99$) pateiktos 3.5 lent. Didėjant adsorbcijos temperatūrai, didėja Lengmiūro sorbcinės gebos Q_L vertės adsorbuojant ATC tiek κ -KARG-T, tiek ι -KARG-T. Tačiau mažėja pusiausvyros konstantos K_L vertės, t. y. mažėja skirtumas tarp ATC adsorbcijos ir desorbcijos greičio. 40 °C temperatūroje, nepriklausomai nuo KARG-T, ATC adsorbcijos ir desorbcijos greitis beveik susilygina, nes K_L vertė tampa artima 1. Turėdamas dvi sulfatogrupes ι -KARG-T adsorbuoja daugiau ATC nei vieną sulfatogrupę turintis κ -KARG-T. Be to, skirtumas tarp Q_L verčių didėja kylant adsorbcijos temperatūrai. Polimero jonogeninių grupių efektyvumą (EF , mol/ekv.) sujungiant priešingų ženklų krūvio jonus galima apskaičiuoti išreiškus Q_L vertę mol/g ir žinant adsorbento grame esančių jonogeninių grupių kiekį. Iš literatūros [107] žinoma, kad ι -KARG ir κ -KARG turi atitinkamai 33 % ir 20 % sulfatogrūpių arba 1 g ι -KARG ir κ -KARG yra atitinkamai 0,003795 ekv./g ir 0,002457 ekv./g sulfatogrūpių Na druskos pavidalu. 3.5 lent. pateiktos EF vertės rodo, kad tiek κ -KARG-T, tiek ι -KARG-T sulfatogrūpių efektyvumas yra panašus, be to, 40 °C temperatūroje EF vertės yra didesnės už 1 mol/ekv., t. y. viena KARG-T sulfatogrupė sujungia daugiau kaip vieną ATC molekulę. Tokie rezultatai gali būti susiję su tuo, kad vandeniniame mėlynių ekstrakte yra įvairių ATC, besiskiriančių savo molekuline mase, o kaip molis

priimta cia-3-glk molinė masė. Todėl gauti rezultatai gali būti vertinami kaip tendencija, o ne kaip absoliutūs dydžiai.

3.5 lentelė. Vandeniniame mėlynių ekstrakte esančių ATC adsorbcijos κ -KARG-T ir ι -KARG-T izotermų Lengmiūro adsorbcijos modelio rodikliai

T (°C)	Q_L (g/g)	K_L (1/g)	EF (mol/ekv.)	R^2
κ-KARG-T				
22	0,96	2,63	0,87	0,9934
30	1,06	1,31	0,96	0,9934
40	1,28	1,07	1,16	0,9823
ι-KARG-T				
22	1,25	3,64	0,74	0,9807
30	1,82	1,29	1,07	0,9998
40	2,02	1,06	1,18	0,9797

Apibendrinant galima daryti išvadą, kad 40 °C temperatūroje iš vandeninio mėlynių ekstrakto pusiausvyros sąlygomis κ -KARG-T gali adsorbuoti 1,28 g/g ($2,85 \cdot 10^{-3}$ mol/g) ATC, o ι -KARG-T – 2,02 g/g ($4,50 \cdot 10^{-3}$ mol/g) ATC.

Lengmiūro modelio rodiklių vertės gali būti apskaičiuotos tiek adsorbato gramais, tiek moliais. Tačiau Freundlichio, Dubinino ir Radushkevicho bei Temkino modelių rodiklių vertėms apskaičiuoti adsorbato kiekis turi būti išreikštas moliais. Kadangi adsorbcijos tyrimuose ATC koncentracija buvo nustatoma pH metodu ir išreiškiama cia-3-glk ekvivalentais, apskaičiuojant Freundlichio, Dubinino ir Radushkevicho bei Temkino adsorbcijos modelių rodiklius, taip pat termodinaminius ATC adsorbcijos KARG-T rodiklius, pavyzdžiui, ATC molį, priimta cia-3-glk molekulinė masė. Taip apskaičiuotos adsorbcijos modelių rodiklių vertės yra sąlyginės, tačiau gali suteikti tam tikros informacijos apie ATC adsorbcijos κ -KARG-T ir ι -KARG-T sąlygas, galimą mechanizmą ir varomąsias proceso jėgas.

Iš ATC adsorbcijos κ -KARG-T ir ι -KARG-T izotermų apskaičiuotos Freundlichio konstantos n_F , Dubinino ir Radushkevicho adsorbcijos energijos E_{DR} ir Temkino adsorbcijos energijos pokyčio ΔE_T vertės, kartu jų tiesės lygčių pasiklivimo lygio R^2 vertės pateiktos 3.6 lent. Palyginus 3.5 ir 3.6 lent. pateiktas R^2 vertes, galima teigti, kad visais taikytais adsorbcijos modeliais aprašoma ATC adsorbcija tinkliniais KARG dariniais su panašiu ir pakankamu pasiklivimo lygiu ($R^2 > 0,97$).

Remiantis Freundlichio adsorbcijos modeliu [187], adsorbato kiekis adsorbente didėja tol, kol didėja adsorbato koncentracija tirpale (daugiasluoksnė adsorbcija). Šiuo modeliu aprašoma adsorbcija ant heterogeninių paviršių, turinčių energijos požiūriu vienodus centrus, ir galima sąveika tarp adsorbuotų adsorbato molekulių. Freundlichio konstantos n_F vertė naudojama adsorbcijos sąlygoms įvertinti. Jeigu n_F vertė yra tarp 2 ir 10, sąlygos adsorbcijai vykti yra palankios [218]. Kai n_F vertės yra tarp 1 ir 2, adsorbcija vyksta sunkiai, o jeigu $n_F < 1$, sąlygos adsorbcijai yra nepalankios. 3.6 lent. pateikti duomenys rodo, kad tik 22 °C temperatūroje sąlygos ATC adsorbcijai abiem KARG-T yra palankios ($n_F > 2$). Padidinus adsorbcijos temperatūrą iki 30 °C ar 40 °C, n_F vertės tampa mažesnės už 2, taigi aukštesnėje temperatūroje ATC adsorbcija KARG-T vyksta sunkiau.

Daugiau informacijos apie adsorbcijos prigimtį ir mechanizmą suteikia Dubinino ir Radushkevicho adsorbcijos modelis [188], kuris paremtas Polanyi adsorbcijos potencialo teorija ir Dubinino prielaida, kad adsorbentas užpildo adsorbento mikroporų tūrį, o ne sluoksniš po sluoksni padengia adsorbento porų sienelės.

Iš apskaičiuotų Dubinino ir Radushkevicho adsorbcijos energijos (E_{DR}) verčių galima spręsti apie adsorbcijos prigimtį [188]: jeigu E_{DR} vertė yra tarp 8 ir 16 kJ/mol, adsorbcija vyksta dėl jonų mainų; kai E_{DR} vertė yra mažesnė kaip 8 kJ/mol, adsorbciją nulemia fizikinės sąveikos jėgos. Kaip matyti iš 3.6 lent. pateiktų duomenų, didėjant adsorbcijos temperatūrai, E_{DR} vertės mažėja nuo 9,57 kJ/mol 22 °C temperatūroje iki 8,39 kJ/mol 40 °C temperatūroje, adsorbuojant ATC κ -KARG-T, ir atitinkamai nuo 8,92 iki 7,93 kJ/mol, adsorbuojant ATC ι -KARG-T. Gautos E_{DR} vertės yra artimos 8 kJ/mol, skiriantiems adsorbciją, vykstančią dėl jonų mainų, nuo adsorbcijos fizikinėmis jėgomis. Galima manyti, kad aukštesnėje temperatūroje ATC yra adsorbuojami KARG-T ne tik dėl elektrostatinės sąveikos tarp ATC flavilio katijono ir KARG sulfatogrupių, bet ir fizikinėmis jėgomis, manytina, vykstant ATC kopigmentacijai. Tai galėtų būti dar vienas paaiškinimas, kodėl iš Lengmiūro sorbcinės gebos apskaičiuotos EF vertės aukštesnėje temperatūroje yra didesnės už 1 mol/ekv. (3.5 lent.).

Remiantis Temkino pasiūlytu adsorbcijos modeliu [189], aktyvieji adsorbento centrai yra nevienodi ir apibūdinami skirtingomis adsorbcijos koeficiento vertėmis. Kadangi adsorbcijos koeficientas ir adsorbcijos energija yra tarpusavyje susiję, todėl skiriasi ir atskirų adsorbento aktyviųjų centrų adsorbcijos energija. Išdėsčius aktyviuosius centrus pagal mažėjančią adsorbcijos koeficiento ar adsorbcijos energijos vertę, mažėjimas bus tiesinis. Remiantis Temkino adsorbcijos modeliu, kuo didesnės dydžių f vertės, tuo labiau adsorbento aktyvieji centrai skiriasi savo adsorbcijos energija.

Nepaisant skirtingo κ -KARG-T ir ι -KARG-T esančių sulfatogrupių kiekio ir išsidėstymo elementariojoje grandyje, apskaičiuotos Temkino adsorbcijos energijos pokyčio tarp dviejų gretimų sulfatogrupių ΔE_T vertės yra panašios (3.6 lent.), t. y. tiek κ -KARG-T, tiek ι -KARG-T sulfatogrupės, kaip aktyvieji centrai, yra panašios savo adsorbcijos energija ir tai lemia panašius adsorbcijos rezultatus.

3.6 lentelė. Vandeniniame mėlynių ekstrakte esančių ATC adsorbcijos κ -KARG-T ir ι -KARG-T izotermų Freundlichio, Dubinino ir Radushkevicho bei Temkino adsorbcijos modelių rodikliai

T (°C)	Freundlichio modelis		Dubinino ir Radushkevicho modelis		Temkino modelis	
	n_F	R^2	E_{DR} (kJ/mol)	R^2	ΔE_T (kJ/mol)	R^2
κ-KARG-T						
22	2,24	0,9781	9,57	0,9824	13,6	0,9852
30	1,73	0,9924	8,59	0,9941	14,4	0,9913
40	1,50	0,9995	8,39	0,9982	10,5	0,9963
ι-KARG-T						
22	2,30	0,9776	8,92	0,9726	12,4	0,9786
30	1,54	0,9977	8,27	0,9992	10,5	0,9994
40	1,33	0,9976	7,93	0,9986	9,0	0,9968

3.3.3.1. Antocianinų adsorbcijos tinkliniais karageninų dariniais termodinamika

Naudojant 3.20 pav. pateiktų adsorbcijos izotermų duomenis pagal metodinėje dalyje pateiktas (2.15) ir (2.16) formules buvo apskaičiuoti termodinaminiai ATC adsorbcijos κ -KARG-T ir ι -KARG-T rodikliai. Apskaičiuoti termodinaminiai ATC adsorbcijos κ -KARG-T ir ι -KARG-T rodikliai yra pateikti 3.7 lent. kartu su tiesės lygčių pasiklivimo lygio R^2 vertėmis.

Gibso laisvosios energijos pokyčio ΔG° vertė suteikia informacijos apie adsorbato giminiškumą adsorbentui ir adsorbcijos varomąsias jėgas. Kuo didesnė neigiama ΔG° vertė, tuo spontaniškesnė adsorbcija, tuo didesnė pasiskirstymo konstantos K_C vertė ir tuo daugiau adsorbato, nusistovėjęs pusiausvyrai, yra sujungta adsorbentu.

3.7 lentelė. Termodinaminiai vandeniniame mėlynių ekstrakte esančių ATC adsorbcijos κ -KARG-T ir ι -KARG-T rodikliai

T (°C)	$\ln K_C$	K_C	R^2	ΔG° (kJ/mol)	ΔH° , (kJ/mol)	ΔS° , (J/mol K)	R^2
κ-KARG-T							
22	0,767	2,15	0,8990	-1,88			
30	0,512	1,67	0,9694	-1,29	-15,2	-45	0,9217
40	0,407	1,50	0,9760	-1,06			
ι-KARG-T							
22	1,097	3,00	0,9025	-2,67			
30	0,965	2,62	0,9976	-2,43	-15,1	-42	0,9570
40	0,700	2,01	0,9787	-1,82			

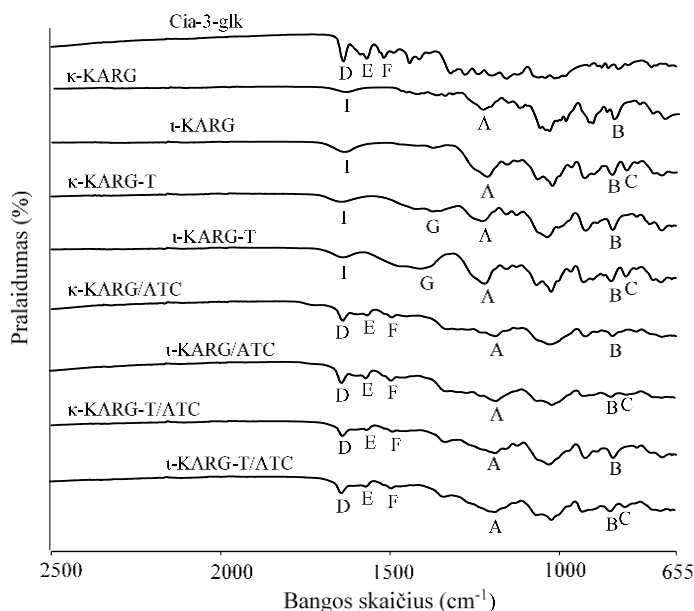
Kaip matyti iš 3.7 lent. pateiktų duomenų, vandeniniame mėlynių ekstrakte esančius ATC adsorbuojant κ -KARG-T ir ι -KARG-T, gautos nedidelės neigiamos ΔG° vertės, t. y. flavilio katijono giminiškumas κ -KARG-T ir ι -KARG-T nėra didelis, taip pat nedidelės pasiskirstymo konstantos K_C vertės. Be to, kaip ir buvo galima tikėtis, ATC giminiškumas ι -KARG-T, turinčiam dvi sulfatogrupes, yra didesnis už giminiškumą vieną sulfatogrupę turinčiam κ -KARG-T – tai parodo didesnės

neigiamos ΔG° vertės. Gautos nedidelės neigiamos ΔG° vertės koreliuoja su Freundlichio bei Dubinino ir Radushkevicho adsorbcijos modelių rodiklių vertėmis, kuriomis remiantis galima teigti, kad ATC adsorbcija tinkliniais KARG dariniais vyksta ne tik joninės sąveikos jėgomis ir kad sąlygos adsorbcijai vykti nėra pakankamai palankios.

Apskaičiuotos entalpijos ΔH° ir entropijos ΔS° pokyčių vertės yra neigiamos ir beveik vienodos savo skaitine verte adsorbuojant ATC tiek κ -KARG-T, tiek ι -KARG-T (3.7 lent.), t. y. ATC adsorbcija abiem tirtais KARG-T yra egzoterminė ir sistemos tvarka dėl adsorbcijos padidėja.

3.3.4. Karageninų ir antocianinų kompleksų FT-IR tyrimai

Buvo užrašyti κ -KARG, ι -KARG, jų tinklinių darinių κ -KARG-T, ι -KARG-T, kompleksų su ATC bei cia-3-glk FT-IR spektrai (3.21 pav.). κ -KARG, ι -KARG ir tinklinių jų darinių FT-IR spektrams yra būdingos absorbcijos smailės ties 1210–1230 cm^{-1} (smailė A) ir 845 cm^{-1} (smailė B), kurios priskiriamos galaktozės-4-sulfato atitinkamai simetriniams O=S=O ir valentiniams C–O–S virpesiams [219, 220, 221]. Smailė ties 805 cm^{-1} (smailė C) yra priskiriama 3,6-anhidrogalaktozės-2-sulfato C–O–S virpesiams ir būdinga tik ι -KARG. Smailės, būdingos κ -KARG ir ι -KARG, matomos ir tinklinių KARG darinių FT-IR spektruose. Plačios smailės (smailė G) atsiradimas κ -KARG-T ir ι -KARG-T FT-IR spektruose atitinkamai ties 1370–1430 cm^{-1} ir 1410–1480 cm^{-1} gali būti susijęs su CH_2 tiltelių susidarymu tinklinant EPCH [222, 223]. Cia-3-glk FT-IR spektruose intensyvios smailės ties 1640 cm^{-1} (smailė D), 1568 cm^{-1} (smailė E) ir 1446 cm^{-1} (smailė F) yra būdingos flavilio junginiams ir susijusios su valentiniais C–C virpesiais benzopirano aromatiniame žiede [204, 203].



3.21 pav. Cia-3-glk, KARG, KARG-T ir jų kompleksų su ATC FT-IR spektrai

Kaip matyti iš 3.21 pav., KARG/ATC kompleksų bei KARG-T su adsorbuotais ATC spektrai skiriasi nuo pradinių KARG, KARG-T ir *cis*-3-glk FT-IR spektrų. Sumažėja κ -KARG ir ι -KARG būdingų smailių intensyvumas, o smailė A pasislenka ilgesniųjų bangų skaičiaus link. κ -KARG-T/ATC ir ι -KARG-T/ATC kompleksų spektruose išnyko smailė G. Tačiau tiek tinklinių, tiek netinklinių κ -KARG ir ι -KARG kompleksų su ATC FT-IR spektruose atsirado *cis*-3-glk spektrui būdingos, tik mažesnio intensyvumo smailės D, E ir F. Be to, smailė F pasislinko trumpesniųjų bangų skaičiaus link. Reikėtų atkreipti dėmesį, kad KARG/ATC kompleksų spektruose išnyko smailė ties 1640 cm^{-1} (smailė I), susijusi su polisacharidais adsorbuotu vandens kiekiu [222, 223]. Galima manyti, kad dėl sąveikos su flavilio katijonu jonogeninės hidrofiliškumą lemiančios KARG sulfatogrupės yra blokuojamos, todėl padidėja KARG/ATC kompleksų hidrofobiškumas.

KARG/ATC ir KARG-T/ATC FT-IR spektruose pastebimi būdingųjų smailių intensyvumo ir bangos skaičiaus pasikeitimai, lyginant su smailėmis pradinių KARG ir *cis*-3-glk spektruose, leidžia patvirtinti, kad susidarė KARG ir vandeniniame mėlynių ekstrakte esančių ATC kompleksai.

3.3.5. Antocianinų desorbcijos iš karageninų ir antocianinų komplekso mikrogranulių tyrimai

Adsorbcijos tyrimai parodė, kad iš vandeninio mėlynių ekstrakto ATC gali būti sėkmingai adsorbuoti κ -KARG-T arba ι -KARG-T mikrogranulėmis. Praktiniu požiūriu ne mažiau svarbus yra ATC, kaip biologiškai aktyvių junginių, atpalaidavimas iš gautų komplekso mikrogranulių. Remiantis 3.3.3 skyrelyje pateiktais duomenimis, galima daryti išvadą, kad ι -KARG-T, elementariojoje grandyje turintis dvi sulfatogrupes, gali adsorbuoti didesnę kiekį ATC, o tai ypač aktualu nepusiausvirošios adsorbcijos sąlygomis. Todėl desorbcijos bandymams buvo paruoštos ι -KARG-T/ATC mikrogranulės, kurių 1 grame buvo 0,091 g adsorbuotų ATC ($0,091\text{ g/g}_{\text{kompl}}$). Kaip desorbcijos terpė buvo naudojami įvairių santykiu pagal tūrį sumaišyti etanolio ir 0,1 M HCl tirpalo (EtOH:HCl) mišiniai (3.8 lent.) bei skirtingos koncentracijos ir įvairios pH vertės fosfatiniai ir acetatiniai buferiniai tirpalai (3.9 lent.). Bandymams buvo naudojama tiek ι -KARG-T/ATC mikrogranulių, kad, esant 100 % ATC desorbcijai, jų koncentracija desorbcijos tirpale būtų $0,069\text{ g/l}$. Ši koncentracija įvardyta kaip maksimali galima ($C_{\text{max}} = 69\text{ mg/l}$).

3.8 lentelė. Per 30 min. iš ι -KARG-T/ATC mikrogranulių desorbuotų ATC kiekio priklausomybė nuo EtOH ir 0,1 M HCl tirpalo mišinio sudėties

Desorbcijos tirpalo sudėtis (pagal tūrį)	ATC koncentracija desorbcijos tirpale (mg/l)	Desorbuotų ATC kiekis (%)*
EtOH	Nevyko	0
HCl	$44 \pm 0,1$	64
EtOH:HCl = 4:1	$27 \pm 0,1$	39
EtOH:HCl = 3:2	$62 \pm 0,1$	91
EtOH:HCl = 2:3	$66 \pm 0,2$	96
EtOH:HCl = 1:4	$53 \pm 0,3$	77

*nuo $C_{\text{max}} = 69\text{ mg/l}$

Kaip matyti iš 3.8 lent. pateiktų duomenų, ATC desorbcija iš ι -KARG-T/ATC mikrogranulių į gryną EtOH nevyksta, o į 0,1 M HCl tirpalą yra desorbuojama 64 % ATC. Į EtOH:HCl mišinį desorbuotų ATC kiekis priklauso nuo jo sudėties – didėja didėjant HCl tirpalo tūrio daliai ir pasiekia maksimalią 96 % vertę, kai mišinio sudėtis yra EtOH:HCl = 2:3.

Į buferinį tirpalą iš ι -KARG-T/ATC mikrogranulių desorbuotų ATC kiekis labai priklauso nuo buferinio tirpalo sudėties (3.9 lent.). Į acetatinius buferinius tirpalus ATC desorbuota daug mažiau nei į fosfatinis buferinius tirpalus. Be to, į acetatinius buferinius tirpalus iš ι -KARG-T/ATC mikrogranulių ATC desorbuota mažiau nei į distiliuotą vandenį.

3.9 lentelė. Per 30 min. iš ι -KARG-T/ATC mikrogranulių desorbuotų ATC kiekio priklausomybė nuo naudoto 0,1 M buferinio tirpalo sudėties ir pH vertės

Buferinis tirpalas	pH vertė	ATC koncentracija desorbcijos tirpale (mg/l)	Desorbuotų ATC kiekis (%)*
Acetatinis	3,7	27±0,1	40
	4,1	37±0,2	54
	5,6	33±0,1	48
Fosfatinis	5,8	66±0,2	96
	6,8	59±0,2	86
Distiliuotas vanduo		41±0,3	59

*nuo $C_{max} = 69$ mg/l

Apibendrinant 3.8 ir 3.9 lent. pateiktus duomenis, reikia pažymėti, kad gana efektyviai ATC iš ι -KARG-T/ATC mikrogranulių yra desorbuojami į 0,1 M HCl tirpalą, kuris yra naudojamas kaip modelinė skrandžio terpė, ir į fosfatinį buferinį tirpalą, kurio pH vertė yra 6,8 ir kuris paprastai yra naudojamas kaip modelinė žarnyno terpė. Daugiausia ATC (96 %) iš komplekso mikrogranulių atpalaiduojama į EtOH:HCl = 2:3. Buvo tiriama ATC desorbcija į šias terpes bei palyginimui į distiliuotą vandenį iš κ -KARG-T/ATC mikrogranulių, turinčių 0,09 g/g_{kompl.} ATC. Bandymams naudota tiek κ -KARG-T/ATC mikrogranulių, kad, esant 100 % ATC desorbcijai, jų koncentracija (C_{max}) desorbcijos tirpale galėtų būti 70 mg/l. Gauti duomenys pateikti 3.10 lent.

3.10 lentelė. Per 30 min. iš κ -KARG-T/ATC mikrogranulių desorbuotų ATC kiekio priklausomybė nuo desorbcijos terpės

Desorbcijos terpė	Iš κ -KARG-T/ATC desorbuotų ATC kiekis	
	(mg/l)	(%)*
Distiliuotas vanduo (pH = 5)	28±0,1	40
0,1 M HCl (pH = 1)	43±0,3	61
EtOH:HCl = 2:3	69±0,1	99
Fosfatinis buferis (pH = 6,8)	63±0,1	90

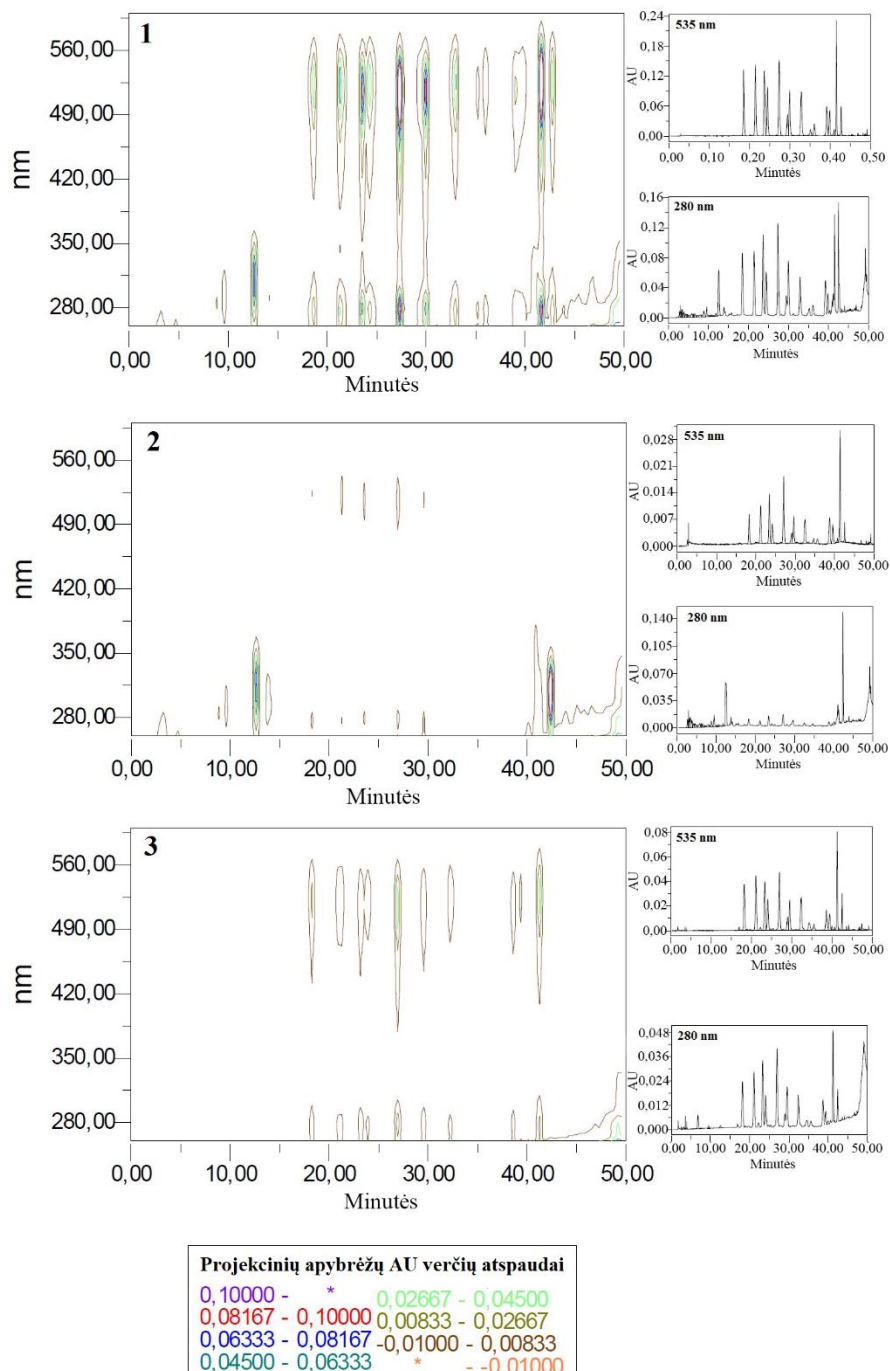
* nuo $C_{max} = 70$ mg/l

Iš gautų rezultatų matyti, kad į distiliuotą vandenį ir 0,1 M HCl tirpalą iš κ -KARG-T/ATC mikrogranulių ATC yra atpalaiduojama mažiau nei iš ι -KARG-T/ATC mikrogranulių, tačiau į EtOH:HCl mišinį bei fosfatinį buferinį tirpalą – kiek daugiau. Šie skirtumai galėtų būti siejami su skirtingu sulfatograpių kiekiu κ -KARG ir ι -KARG, taip pat su skirtingu ATC giminiškumu bei skirtingu κ -KARG-T/ATC ir ι -KARG-T/ATC mikrogranulių brinkumu skirtingose terpėse.

3.3.6. Antocianinų adsorbcijos tinkliniu ι -karageninu ir desorbcijos tyrimai efektyviosios skysčių chromatografijos metodu

ESC metodu vandeniniame mėlynių ekstrakto buvo identifikuota 15 skirtingų ATC (3.1 poskyris). Apie ATC adsorbciją KARG-T (3.3.4 skyrelis) ar desorbciją iš gautų KARG-T/ATC mikrogranulių (3.3.5 skyrelis) buvo sprendžiama iš ATC koncentracijos, nustatytos pH metodu. ATC adsorbcijai ir desorbcijai patvirtinti buvo užrašytos chromatogramos: pradinio mėlynių ekstrakto, ATC tirpalo po adsorbcijos ι -KARG-T mikrogranulėmis ir EtOH:HCl = 2:3 mišinio po ATC desorbcijos iš ι -KARG-T/ATC mikrogranulių, turinčių 0,09 g/g adsorbuotų ATC. ATC koncentracija, nustatyta pH metodu, pradiniam mėlynių ekstrakto, po adsorbcijos ir desorbcijos tirpale buvo atitinkamai 790 mg/l, 74 mg/l ir 220 mg/l. Gautos ESC-UV 280 nm ir 535 nm chromatogramos (dešinėje) ir chromatogramų projekcinės apybrėžos 270–600 nm intervale pateiktos 3.22 pav. Pradiniam vandeniniame mėlynių ekstrakto dominuoja ATC, kurių UV / regimosios šviesos adsorbcijos maksimumai ir projekcinių apybrėžų dėmės yra matomi 490–560 nm intervale. Skirtingų ATC koncentracijos tiriamuose tirpaluose apskaičiuotos iš 535 nm chromatogramų [193, 224] ir pateiktos 3.11 lent. Fenolinių junginių projekcinių apybrėžų dėmės, matomos 270–350 nm intervale, žymi fenolinius junginius. Dominuojantis identifikuotas fenolinis junginys (chlorogeno rūgštis) buvo eliuuojamas apie 13 min. Chlorogeno rūgšties koncentracija apskaičiuota iš 280 nm chromatogramų ir taip pat pateikta 3.11 lent.

3.22 pav. ir 3.11 lent. pateikti duomenys parodo, kad ι -KARG-T iš vandeninio mėlynių ekstrakto adsorbuoja visus identifikuotus ATC. Adsorbuotų skirtingų ATC kiekis yra proporcingas jų koncentracijai pradiniam tirpale ir kinta nuo 87 iki 95 % (3.11 lent.). Lyginant mėlynių ekstrakto ir tirpalo po adsorbcijos 280 nm chromatogramas bei projekcines apybrėžas (3.22 pav., 1 ir 2), matyti, kad beveik visi fenoliniai junginiai po adsorbcijos lieka tirpale. Chlorogeno rūgšties koncentracija tirpale po adsorbcijos, palyginti su jos koncentracija pradiniam tirpale, sumažėja tik 3 % (3.11 lent.). Galima teigti, kad ATC, adsorbuojami ι -KARG-T mikrogranulėmis, yra sukonzentruojami ir išgryninami, o tirpale po adsorbcijos lieka kiti fenoliniai junginiai. Tai leidžia patvirtinti EtOH:HCl mišinio po ATC desorbcijos iš ι -KARG-T/ATC mikrogranulių chromatogramos projekcinės apybrėžos (3.22 pav., 3), kuriose dominuoja tik ATC būdingos dėmės. Iš ι -KARG-T/ATC mikrogranulių desorbuotų skirtingų ATC kiekis yra panašus, proporcingas adsorbuotų skirtingų ATC kiekiui ir sudaro apie 81 % (3.11 lent.).



3.22 pav. ESC-UV 280 nm ir 535 nm chromatogramos (dešinėje) ir chromatogramų projekcinės apibrėžos 270–600 nm intervale (kairėje): 1 – vandeninio mėlynių ekstrakto; 2 – vandeninio mėlynių ekstrakto po ATC adsorbcijos ι -KARG-T; 3 – EtOH:HCl = 2:3 mišinio po ATC desorbcijos iš ι -KARG-T/ATC mikrogranulių

3.11 lentelė. Skirtingų ATC ir chlorogeno rūgšties kiekis vandeniniame mėlynių ekstrakte, vandeniniame mėlynių ekstrakto po ATC adsorbcijos ι -KARG-T ir EtOH:HCl mišinyje po ATC desorbcijos iš ι -KARG-T/ATC mikrogranulių

ATC	Pradiniame mėlynių tirpale (mg/l)	Po adsorbcijos (mg/l)	Adsorbavo		Desorbcijos tirpale, kai $C_{\max} = 366$ mg/l	
			(mg/l)	(%)*	(mg/l)	(%)**
Cianidino-3- <i>O</i> -arabinozidas	71	5	66	93	20	86
Cianidino-3- <i>O</i> -galaktozidas	92	9	83	90	29	84
Cianidino-3- <i>O</i> -gliukozidas	114	13	101	89	36	84
Delfinidino-3- <i>O</i> -arabinozidas	76	4	72	95	21	86
Delfinidino-3- <i>O</i> -galaktozidas	91	5	86	94	30	84
Delfinidino-3- <i>O</i> -gliukozidas	108,5	7	101,5	93	36	83
Malvidino-3- <i>O</i> -arabinozidas	22	2	20	91	12	73
Malvidino-3- <i>O</i> -galaktozidas	34,5	4	30,5	89	12	83
Malvidino-3- <i>O</i> -gliukozidas	101,5	13	88,5	87	38	80
Peonidino-3- <i>O</i> -arabinozidas	7	1	6	89	2	87
Peonidino-3- <i>O</i> -galaktozidas	10	1	9	90	7	65
Peonidino-3- <i>O</i> -gliukozidas	48,5	6	42,5	87	15	83
Petunidino-3- <i>O</i> -arabinozidas	21	1	20	95	5	89
Petunidino-3- <i>O</i> -galaktozidas	34,5	2	32,5	94	9	87
Petunidino-3- <i>O</i> -gliukozidas	78,5	6	72,5	93	25	84
Iš viso:	910	79	830	91	297	81
Chlorogeno rūgštis	633	613	20	3	19	–

* nuo pradinės

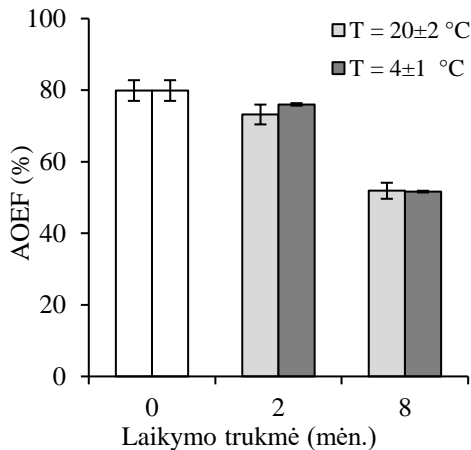
** nuo adsorbuotos

3.3.7. Tinklinio κ -karagenino ir antocianinų kompleksų mikrogranulių panaudojimo galimybės

Ypač daug ATC yra randama Lietuvoje augančių mėlynių uogose [197]. Atsižvelgiant į ATC biologinį poveikį (uždegimo slopinamąsias, antioksidacines savybes) ir mėlynių preparatų vartojimo indikacijas [225, 226, 227], jie gali būti naudojami virškinamojo trakto gleivinės pažeidimams ir uždegimams, hemoroidams gydyti, ypač rektalinių preparatų forma. Tačiau išgaunant ATC iš uogų, į ekstraktą patenka ir kiti uogose esantys junginiai (fenoliniai junginiai, sacharidai ir kt.), kurie gali turėti dirginamąjį poveikį žarnynui. Kaip parodė atlikti ESC tyrimai (3.3.6 skyrelis), vykstant adsorbcijai ant KARG-T mikrogranulių, ATC yra atskiriami nuo kitų mėlynių uogų ištraukoje esančių junginių ir vėliau gali būti desorbuojami į reikiamą terpę. Todėl KARG-T/ATC kompleksų mikrogranulės pasižymi pridėtinę farmacinę vertę. KARG turinčių rektalinių ir vaginalinių preparatų tyrimai parodė, kad KARG, ypač vieną sulfatogrupę turintis κ -KARG, nesukelia vietinio dirginamojo poveikio vartojant *per rectum* ar *per vaginam* [228, 229].

Vandeniniame mėlynių ekstrakto esantys ATC buvo adsorbuoti κ -KARG-T, gautos κ -KARG-T/ATC komplekso mikrogranulės praplautos distiliuotu vandeniu, liofilizuotos ir buvo laikomos tamsoje 20 ± 2 °C bei 4 ± 1 °C temperatūroje. Stabilumas saugant įvertintas pagal antioksidacinio efektyvumo (AOEF), nustatyto ABTS* metodu, pasikeitimą. Gauti duomenys pateikti 3.23 pav. Iš jų matyti, kad laikymo temperatūra neturi įtakos bandinių antioksidacinių savybių išsaugojimui: po 2

mėnesių laikymo κ -KARG-T/ATC komplekso AOEF vertė sumažėjo $7\pm 2,0\%$, o po 8 mėnesių – $34,5\pm 0,5\%$. Apibendrinant galima teigti, kad be didesnių stabilumo nuostolių κ -KARG-T/ATC komplekso mikrogranulės gali būti laikomos iki 2 mėnesių.



3.23 pav. κ -KARG-T/ATC mikrogranulių (turinčių $0,24 \text{ g/g}_{\text{kompl. ATC}}$) antioksidacinio efektyvumo (AOEF) priklausomybė nuo laikymo sąlygų ir trukmės

Liofilizuotos κ -KARG-T/ATC kompleksų mikrogranulės, turinčios $0,17 \text{ g/g}_{\text{kompl. ATC}}$, buvo atiduotos LSMU partneriams. Šie, vykdant KTU ir LSMU mokslininkų projektą MTEPI-L-16001 „Inovatyvios sudėties rektalinio preparato prototipo su antocianinų/karageninų kompleksu technologijos sukūrimas ir vertinimas“, parinko farmaciniu požiūriu tinkamiausią rektalinių preparatų su κ -KARG-T/ATC mikrogranulėmis gamybos technologiją, presavimo būdu pagamino rektalines kakavos sviesto žvakutes su κ -KARG/ATC kompleksu mikrogranulėmis (3.24 pav.) ir įvertino kietosios farmacinės formos įtaką aktyviųjų junginių atpalaidavimui *in vitro*. Nustatyta, kad žvakutės su κ -KARG-T/ATC kompleksu pasižymėjo pailgintu ATC atpalaidavimu modelinėje terpėje. Ši savybė gali būti pritaikyta pailginto, su biologiniu prieinamumu susijusio poveikio preparatų gamybai.



Kakavos sviestas



κ -KARG-T/ATC mikrogranulės



κ -KARG-T/ATC turinti rektalinė žvakutė

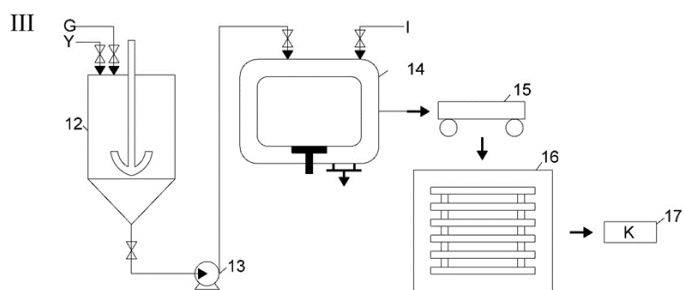
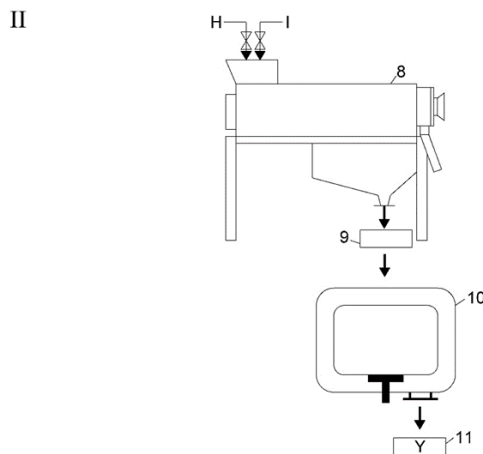
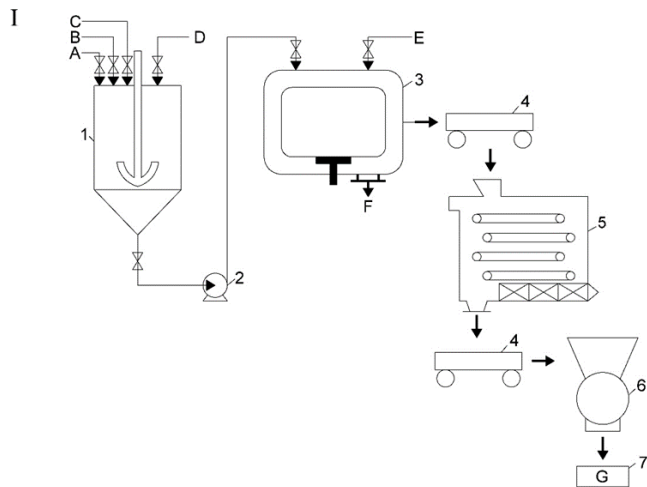
3.24 pav. Pagrindiniai komponentai žvakučių gamybai ir jų prototipas

Gavus teigiamus κ -KARG-T/ATC komplekso mikrogranulių panaudojimo rektalinių preparatų gamyboje rezultatus, pasiūlyta tokių mikrogranulių gamybos technologinė schema (3.25 pav.). κ -KARG-T/ATC komplekso mikrogranulių gamybos procesą sudarytų trys stadijos. Pirmojoje būtų pagaminamos κ -KARG-T mikrogranulės, antrojoje – paruošiamas vandeninis mėlynių ekstraktas. Trečiojoje stadijoje ATC iš vandeninio mėlynių ekstrakto būtų adsorbuojami pagamintomis κ -KARG-T mikrogranulėmis.

κ -KARG tinklinimo EPCH reakcija vykdoma reaktoriuje (1). Tam paeiliiu supilamas reikiamas kiekis izopropilo alkoholio ir vandens mišinio (A), paruošto santykiu 2:1 pagal tūrį, natrio šarmo tirpalo (B), epichlorhidrino (C) ir gerai sumaišoma. Tada suberiami κ -KARG milteliai (D). Reakcija vyksta 6 val. kambario temperatūroje (~20 °C) nuolat maišant. Pasibaigus reakcijai mišinys išcentrinu siurbliu (2) tiekiamas į filtruojamąją centrifugą (3). Gautos κ -KARG-T mikrogranulės plaunamos druskos rūgštimi parūgštintu izopropilo alkoholio ir vandens mišiniu (2:1) (E), kol filtrato (F) pH vertė tampa lygi 7–8. Toliau κ -KARG-T mikrogranulės vežimėliu (4) tiekiamos į juostinę džiovyklą (5), po to į malūną (6) smulkinti. Gautos κ -KARG-T mikrogranulės (G) gali būti tiekiamos į adsorbcijos reaktorių (12) arba pakuojamos ir sandėliuojamos (7).

Vandeninis mėlynių uogų ekstraktas ruošiamas ekstraktoriuje (8), suberiant mėlynių uogas (H) (šviežiai surinktas arba šaldytas) ir pripilant vandens (I) (vandens ir uogų masių santykis 1:3). Uogų išspaudos pašalinamos, o gautas ekstraktas supilamas į talpą (9) ir iš jos rankiniu būdu paduodamas į filtruojamąją centrifugą (10), vėliau gautas ATC vandeninis mėlynių ekstraktas (Y) gali būti tiekiamas į adsorbcijos reaktorių (12) arba sandėliuojamas (11) –18 °C temperatūroje.

Trečiojoje stadijoje adsorbcijos reaktoriuje (12) ATC yra adsorbuojami κ -KARG-T mikrogranulėmis, kurių kiekis (įvertinus drėgmę) priklauso nuo ATC koncentracijos gautame ekstrakto bei norimo adsorbuoti ATC kiekio. Eksperimentais nustatyta, kad iš vandeninio ekstrakto įprastomis (ne pusiausvyros) sąlygomis yra adsorbuojama apie 80–90 % ATC. ATC adsorbcija κ -KARG-T mikrogranulėmis vyksta 30 min. kambario temperatūroje nuolat maišant. Po adsorbcijos nustatoma likutinė ATC koncentracija ir apskaičiuojamas κ -KARG-T/ATC mikrogranulėse imobilizuotų ATC kiekis. Toliau suspensija su κ -KARG-T/ATC mikrogranulėmis išcentrinu siurbliu (13) tiekama į filtruojamąją centrifugą (14). Joje mikrogranulės plaunamos vandeniu (I) ir džiovinamos liofilizatoriuje (16). Gautos sausos κ -KARG-T/ATC granulės (Y) supakuojamos ir sandėliuojamos (17). Visas minėtas operacijas galima vykdyti pramonėje naudojamuose įrenginiuose.



3.25 pav. κ-KARG-T/ATC mikrogranulių gamybos technologinė schema: 1, 12 – reaktoriai; 2, 13 – siurblys; 3, 10, 14 – filtruojamoji centrifuga; 4, 15 – vežimėlis; 5 – juostinė džiovykla; 6 – malūnas; 7, 11, 17 – produkto pakavimas ir sandėliavimas; 8 – ekstraktorius; 9 – ekstrakto talpa; 16 – liofilizatorius

3.4. Biologiškai aktyvių junginių turinčių plėvelių bei dangų sukūrimas ir tyrimai

3.4.1. Karageninų ir antocianinų kompleksų turinčios tirpios plėvelės

Vandenyje tirpios plėvelės, gautos iš polisacharidų, pavyzdžiui, celiuliozės, chitozano, krakmolo, alginatų, karageninų ar jų darinių, yra biologiškai skaidžios, netoksiškos, pasižymi geromis plėvelių formavimo galimybėmis. Tokių plėvelių funkcionalumui padidinti jas formuojant įterpiami biologiškai aktyvūs junginiai, kurie suteikia antioksidacinių, antimikrobinių ir kitų savybių. Todėl kita KARG/ATC kompleksų panaudojimo sritis galėtų būti papildomų funkcinių savybių suteikimas vandenyje tirpioms plėvelėms. Yra žinoma [230], kad natūralios dažomosios medžiagos gali apsaugoti hidroksipropilmetilceliuliozės (HPMC) plėveles nuo ardomojo šviesos poveikio. Būdami raudonos spalvos ATC sugeria žalios ir mėlynos zonos spindulius ir taip apsaugo kitas medžiagas nuo ardomojo šių spindulių poveikio. Tačiau, veikiant šviesai, vyksta pačių ATC destrukcija [4].

Buvo suformuotos optimalios sudėties (κ -KARG/ATC = 0,4 ir ι -KARG/ATC = 0,4) nanodalelių dydžio kompleksų suspensijos (3.3.1 skyrelis). Gautos KARG/ATC kompleksų suspensijos įmaišytos į paruoštą HPMC tirpalą ir išlietos plėvelės. Taip pat buvo išlieta HPMC plėvelė, turinti tik ATC, kurių kiekis toks pat kaip komplekse, bei HPMC plėvelė be priedų.

Iš 3.3.1 skyrelyje pateiktų duomenų žinoma, kad KARG/ATC kompleksų tirpalų spalva skiriasi nuo ATC tirpalų spalvos ir yra raudonesnė. Buvo palyginta pradinių plėvelių liejimo tirpalų ir tirpalų, gautų suformuotas plėveles ištirpinus vandenyje, spalva. Nustatyta, kad κ -KARG/ATC ir ι -KARG/ATC kompleksų atveju tiek vienu, tiek kitų tirpalų spalva buvo tokia pati ir skyrėsi nuo tik ATC turinčių tirpalų spalvos, t. y. buvo raudonesnė. Todėl galima daryti prielaidą, kad KARG/ATC kompleksai nesu yra plėvelių formavimo metu. Iširtos ATC ir jų kompleksų su KARG turinčių HPMC plėvelių mechaninės savybės pateiktos 3.12 lent.

3.12 lentelė. HPMC plėvelėje imobilizuotų ATC bei KARG/ATC kompleksų įtaka plėvelės mechaninėms savybėms

Plėvelės priedas	Plėvelės storis (μm)	Plėvelės drėgnis* (%)	Stipris tempiant (MPa)	Santykinė ištįsa trūkio metu (%)	Tampros modulis (N/m^2)
Be priedų	79 \pm 7	23	44 \pm 4	32 \pm 4	950 \pm 90
ATC	120 \pm 5	10	31 \pm 3	42 \pm 6	390 \pm 10
κ -KARG/ATC = 0,4	124 \pm 12	28	24 \pm 4	41 \pm 11	300 \pm 30
ι -KARG/ATC = 0,4	114 \pm 11	10	32 \pm 2	42 \pm 6	410 \pm 40

* mechaninių savybių tyrimo sąlygomis

Visų pirma, kaip matyti iš lentelėje pateiktų duomenų, ATC ar jų kompleksų su KARG turinčios HPMC plėvelės buvo storesnės ir skyrėsi absorbuotos drėgmės kiekiu. Daugiausia drėgmės tyrimo sąlygomis turėjo κ -KARG/ATC kompleksų turinti HPMC plėvelė. ATC ar ι -KARG/ATC kompleksų turinčios HPMC plėvelės turėjo mažiau adsorbuotos drėgmės nei HPMC plėvelė be priedų. Tokį skirtingą κ -KARG/ATC ir ι -KARG/ATC turinčių HPMC plėvelių drėgnį galima paaiškinti tuo,

kad κ -KARG adsorbuoja daugiau drėgmės nei ι -KARG [130]. 3.12 lent. pateikti HPMC plėvelių mechaninių savybių duomenys rodo, kad tiek ATC, tiek jų kompleksai su KARG gerokai sumažina plėvelės stiprumą. Be to, ATC ar KARG/ATC kompleksų turinčių HPMC plėvelių mechaninės savybės gali būti siejamos su plėvelėje esančiu drėgmės kiekiu. Mažiausiu stipriu tempiant bei mažiausiu tampros moduliui pasižymėjo κ -KARG/ATC kompleksų turinti HPMC plėvelė. O ATC ar ι -KARG/ATC kompleksų turinčių HPMC plėvelių mechaninės savybės buvo panašios ar geresnės nei turinčių κ -KARG/ATC kompleksų.

Buvo įvertintas HPMC plėvelėse imobilizuotų ATC stabilumas ir jų antioksidacinis efektyvumas (AOEF) po 30 val. švitinimo lankine ksenono lempa. Švitinami bandiniai buvo sudaryti iš dviejų HPMC plėvelių. Viršutinė HPMC plėvelė (apsauganti) turėjo ATC ar jų kompleksų su KARG, o apatinė HPMC plėvelė (apsaugoma) turėjo tik ATC. Prieš švitinimą ir po jo plėvelės buvo ištirpintos vandenyje ir DPPH metodu nustatyta liekamoji ATC koncentracija bei AOEF. Iš viršutinėse plėvelėse likusių ATC kiekio ir AOEF galima spręsti apie ATC imobilizacijos kompleksuose su KARG įtaką jų stabilumui švitinant, o iš jų kiekio apatinėse plėvelėse – apie apsaugines viršutinių plėvelių savybes. Tyrimai (3.13 lent.) parodė, kad dėl šviesos poveikio ATC destrukcija viršutinėje plėvelėje vyko intensyviai ir mažai priklausė nuo to, ar ATC sujungtas į kompleksą su KARG. Tačiau visais atvejais ATC turinčios viršutinės plėvelės apsaugojo apatinėje plėvelėje esančius ATC nuo ardomojo regimosios šviesos poveikio.

3.13 lentelė. HPMC plėvelėje imobilizuotų ATC ir KARG/ATC kompleksų įtaka ATC stabilumui po 30 val. švitinimo lankine ksenono lempa

Plėvelės priedas	Viršutinėje plėvelėje (apsaugančioje) liko nuo pradinio kiekio		Apatinėje ATC turinčioje (apsaugomoje) plėvelėje liko nuo pradinio kiekio	
	ATC (%)	AOEF (%)	ATC (%)	AOEF (%)
Be priedų	–	–	57±3	60
ATC	61±3	0	70±4	63
κ -KARG/ATC = 0,4	66±5	17	78±4	66
ι -KARG/ATC = 0,4	62±6	18	70±6	64

3.4.2. Eterinių aliejų turinčių veikliųjų dangų sukūrimas

3.4.2.1. Eterinių aliejų antioksidacinių ir antibakterinių savybių įvertinimas

Siekiant sumažinti sintetinių medžiagų naudojimą maisto pramonėje, šiuo metu didelis dėmesys skiriamas natūraliems maisto priedams, neturintiems neigiamo poveikio žmogaus sveikatai ir pasižymintiems antibakterinėmis ir antioksidacinėmis savybėmis. Eteriniai aliejai, išgaunami iš vaistažolių ir prieskonių, pasižymi šiomis savybėmis ir galėtų būti naudojami kaip aktyvūs priedai. Be to, dauguma EA visuotinai pripažinti kaip saugūs. Tačiau jų naudojimas maiste yra ribojamas dėl stipraus kvapo. Ši problema gali būti išspręsta EA imobilizuojant į maisto pakuotes [231]. Žinoma, kad EA veikliosios savybės priklauso nuo jų sandaros, kilmės, išgavimo sąlygų, grynumo [86]. Todėl, prieš imobilizuojant EA į dangas, skirtas

maisto pakuotėms, buvo svarbu įvertinti įvairių EA antioksidacines ir antibakterines savybes.

EA ir jų komponentų antioksidacinės savybės buvo iširtos DPPH metodu ir išreikštos dviem būdais: DPPH laisvųjų radikalų sujungimu (%) ir troloksa ekvivalentais (μmol). Antioksidacinių savybių tyrimams pasirinkti tam tikri skirtingos sudėties EA (gvazdikėlių, bazilikų, imbierių, rozmarinų, kmynų) ir jų komponentai (eugenolis, linalolis, estragolas, eukaliptolas, α-pinenas). EA ir jų komponentų antioksidacinės savybės esant tam tikrai koncentracijai pateiktos 3.14 lent.

3.14 lentelė. EA ir jų komponentų antioksidacinės savybės

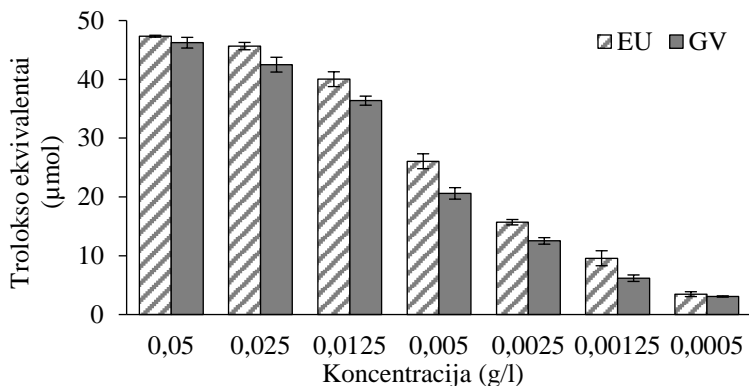
EA ar jų komponentas	C (g/l)	TE (μmol)	DPPH laisvųjų radikalų sujungimas (%)
Gvazdikėlių EA	0,005	20,61±0,95	41,63±2,98
Eugenolis	0,005	26,07±1,27	51,23±2,51
Imbierių EA	5	27,94±1,35	54,34±2,51
Bazilikų EA	5	19,07±3,79	36,90±7,46
Linalolis	5	13,99±0,77	28,34±1,58
Kmynų EA	5	6,94±2,02	11,63±3,83
Rozmarinų EA	5	4,75±1,53	7,49±2,90
Estragolas	5	na	na
α-Pinenas	5	na	na
Eukaliptolas	5	na	na

na – neaktyvus

Kaip matyti iš gautų rezultatų, geriausiomis antioksidacinėmis savybėmis pasižymėjo gvazdikėlių eterinis aliejus (GV) ir pagrindinis jo komponentas eugenolis (EU), *TE* vertės buvo atitinkamai 20,61 μmol ir 26,07 μmol, o DPPH laisvųjų radikalų sujungimas – apie 42 % ir 51 %. Reikėtų pabrėžti, kad tyrimui naudota GV ir EU koncentracija buvo 1000 kartų mažesnė nei kitų tirtų EA ar biologiškai aktyvių junginių. Iširtus EA ir jų komponentus pagal jų antioksidacinių savybių mažėjimą galima išdėstyti šia tvarka: eugenolis > gvazdikėlių EA > imbierių EA > bazilikų EA > linalolis > kmynų EA > rozmarinų EA. O estragolas, eukaliptolas, α-pinenas esant pasirinktai koncentracijai buvo neaktyvūs.

Literatūros duomenimis [232, 233], GV yra vienas iš stipriausių natūralių antioksidantų. Jo aktyvumas yra panašus į plačiai naudojamų sintetinių antioksidantų, pavyzdžiui, butilhidroksitolueno (BHT) ar butilhidroksianizolio (BHA). Pramoninį GV išanalizavus dujų chromatografijos metodu, jame identifikuoti 3 pagrindiniai junginiai [86]. Daugiausia rasta p-eugenolio (67,6 %), acetoeugenolio (16,8 %) ir trans-kariofileno (10,8 %). Manoma [86], kad antioksidacines GV savybes lemia pagrindinis jo komponentas – eugenolis.

Buvo iširta GV ir EU antioksidacinių savybių priklausomybė nuo koncentracijos. Gauti duomenys pateikti 3.26 pav. Kaip ir reikėjo tikėtis, šiek tiek geresnėmis antioksidacinėmis savybėmis pasižymėjo EU (lyginant su GV). Koncentracijos intervale nuo 0,05 iki 0,0125 g/l gautos gana didelės *TE* vertės, atitinkančios 73–94 % sujungtų DPPH laisvųjų radikalų. Apibendrinant pateiktus rezultatus, galima daryti išvadą, kad GV ir EU gali būti naudojami antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčių maisto pakuočių gamyboje.



3.26 pav. GV ir EU antioksidacinių savybių priklausomybė nuo koncentracijos

EA pasižymi ne tik antioksidaciniu, bet ir antimikrobiniu poveikiu plataus spektro gramteigiamoms ir gramneigiamoms bakterijoms, grybams, mielėms ir virusams. Žinant, kad antibakterinis veiksmingumas priklauso tiek nuo junginių hidrofobiškumo, tiek nuo bakterijų sandaros [234], prieš imobilizuojant EA į dangas, difuzijos į agarą metodu buvo įvertintas EA ir jų komponentų poveikis skirtingų tipų bakterijoms. Kaip gramneigiama bakterija pasirinkta *E. coli*, o kaip gramteigiama – *L. monocytogenes*; tai yra pagrindinės per maistą plintančios patogeninės bakterijos [235]. Inaktyvavimui pasirinkti čiobrelių EA, gvazdikėlių EA, linalolis ir eugenolis. Gauti rezultatai pateikti 3.15 ir 3.16 lent.

Kaip matyti iš 3.15 lent. pateiktų duomenų, čiobrelių eterinis aliejus (ČI) buvo efektyviausias prieš *E. coli*. Naudojant pradinę ČI koncentraciją (1000 µg/µl) bakterijų augimo slopinimo zona buvo 40±1 mm. O pradinės linalolio, GV, EU koncentracijos pasižymėjo mažesniu antibakteriniu veiksmingumu, slopinimo zonos skersmuo buvo nuo 17 iki 21 mm. Naudojant mažiausią bandinio koncentraciją (25 µg/µl), aktyvūs išliko tik ČI ir EU. Kaip matyti iš 3.16 lent. pateiktų duomenų, grynas ČI efektyviai slopino ir *L. monocytogenes*, slopinimo zonos skersmuo buvo 88±1 mm. Pagal antibakterinio poveikio *L. monocytogenes* silpnėjimą tirti EA ir jų komponentai gali būti išdėstyti šia tvarka: čiobrelių EA > eugenolis > gvazdikėlių EA > linalolis.

3.15 lentelė. EA ir jų komponentų antibakterinis poveikis *E. coli* po 24 val. inkubacijos 37 °C temperatūroje taikant difuzijos į agarą metodą

EA ar jo komponentas	Koncentracija (µg/µl)						
	1000	500	300	250	200	150	25
	Slopinimo zona (mm)						
Čiobrelių EA	40,0±1,0	32,3±2,5	27,0±2,0	21,7±1,5	19,7±0,6	19,0±1,7	12,3±1,2
Linalolis	21,3±1,2	17,7±0,6	15,7±0,6	16,3±0,6	16,0±0,0	15,3±0,6	0
Gvazdikėlių EA	16,7±0,6	16,0±1,0	14,3±0,6	13,0±1,0	12,7±0,6	12,0±0,0	0
Eugenolis	20,0±0,0	16,3±0,6	15,0±0,0	14,3±0,6	14,0±0,0	12,7±0,6	10,8±0,3
PR	29,7±0,6	29,7±0,6	29,7±0,6	29,7±0,6	29,7±0,6	29,7±0,6	29,7±0,6
DMSO	0	0	0	0	0	0	0

3.16 lentelė. EA ir jų komponentų antibakterinis poveikis *L. monocytogenes* po 24 val. inkubacijos 37 °C temperatūroje taikant difuzijos į agarą metodą

EA ar jo komponentas	Koncentracija (µg/µl)						
	1000	500	300	250	200	150	25
	Slopinimo zona (mm)						
Čiobrelių EA	88,0±1,0	42,7±2,5	32,7±0,6	32,3±0,6	21,7±2,9	18,7±1,5	11,3±0,6
Linalolis	17,7±1,5	13,7±0,6	11,7±0,6	11,0±0,6	11,0±0,0	11,0±0,0	0
Gvazdikėlių EA	19,3±0,6	16,7±1,2	15,3±1,2	15,3±0,6	0	0	0
Eugenolis	20,0±0,0	19,7±0,6	16,0±1,0	17,0±2,0	15,3±0,6	12,7±1,5	10,5
PR	29,7±0,6	29,7±0,6	29,7±0,6	29,7±0,6	29,7±0,6	29,7±0,6	29,7±0,6
DMSO	0	0	0	0	0	0	0

3.4.2.2. Antibakterinių dangų sukūrimas ir tyrimai

EA ir jų komponentų antibakterinių savybių tyrimai difuzijos į agarą metodu parodė, kad vienas efektyviausių yra ČI. ČI buvo imobilizuotas dangoje, sudarytoje iš kontaktui su maistu tinkamo akrilinio plėvėdario (AK) ir ČI emulsijos, kaip emulsikli naudojant hidrofobiškai modifikuotą vaškinių kukurūzų krakmolą (K). Gauta AK/K/ČI danga buvo užnešta ant orientuotojo polipropileno plėvelės. EA sudėtyje yra lakiųjų junginių, todėl jų antibakterinis poveikis gali būti dvejopas. Jie gali veikti tiek tiesiogiai kontaktuodami su mikroorganizmais, tiek per garų fazę. Siekiant įvertinti tokių dangų antibakterinį aktyvumą, esant tiesioginiam kontaktui su bakterijomis, taikytas difuzijos į agarą metodas. ČI, imobilizuoto AK/K dangoje (AK/K/ČI) ir užnešto ant filtravimo popieriaus (ČI), antibakterinio poveikio *E. coli* ir *L. monocytogenes* bakterijoms, nustatyto difuzijos į agarą metodu, rezultatai pateikti 3.17 lent.

3.17 lentelė. ČI, imobilizuoto AK/K/ČI dangoje ir užnešto ant filtravimo popieriaus, antibakterinis poveikis *E. coli* ir *L. monocytogenes*, nustatytas difuzijos į agarą metodu

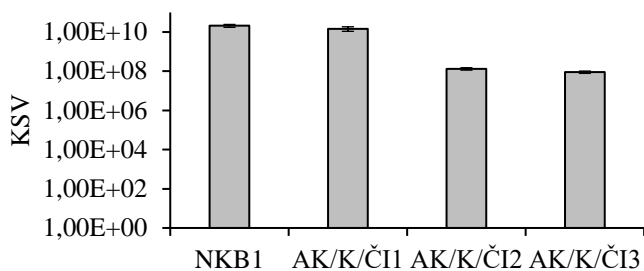
Bandinys	ČI kiekis (g/m ²)	Slopinimo zona (mm)	
		<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>
AK/K/ČI	5,85±0,30	0	0
AK/K/ČI	10,56±0,17	0	0
AK/K/ČI	21,59±1,12	10,67±0,29	10,83±0,29
ČI	5,85	12,17±0,29	12,50±0,50
ČI	10,56	14,00±0,00	14,17±0,29
ČI	21,59	18,67±0,58	19,00±0,00

Kaip matyti iš lentelėje pateiktų rezultatų, tokį pat ČI kiekį turinti AK/K/ČI danga ir filtravimo popierius skirtingai slopino tiriamų bakterijų augimą. AK/K/ČI danga, turinti nuo 5,85 iki 10,56 g/m² ČI, buvo neaktyvi. O tiek pat ČI turintis filtravimo popierius slopino bakterijų augimą. Antibakteriniu poveikiu pasižymėjo tik AK/K/ČI danga, turinti 21,59±1,12 g/m² ČI, slopinimo zonos skersmuo buvo atitinkamai 10,67 mm ir 10,83 mm. Tačiau toks pats kiekis ČI ant filtravimo popieriaus daug geriau slopino bakterijų augimą, slopinimo zonos skersmuo buvo 18,67 mm prieš *E. coli* ir 19 mm prieš *L. monocytogenes*. ČI, imobilizuoto dangoje, ir ČI, užnešto ant filtravimo popieriaus, poveikio skirtumai susiję su tuo, kad dangoje imobilizuotas ČI atpalaiduojamas palaipsniui. Todėl geresniam antimikrobiniam poveikiui reikia kur kas didesnės jo koncentracijos.

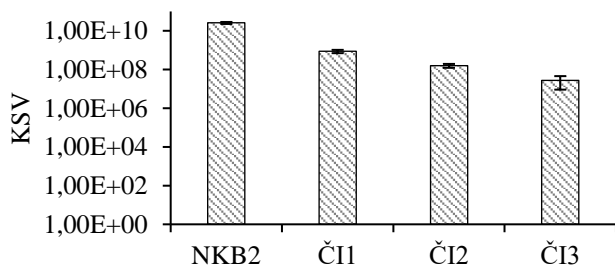
Literatūroje yra aprašyta daugybė EA antibakterinių savybių tyrimų, atliktų esant tiesioginiam jų kontaktui su bakterijomis. Tačiau tik keliuose įvertintos antibakterinės EA savybės per garų fazę. Ciuricho taikomųjų mokslų universiteto tyrėjai [195] sukūrė garų difuzijos metodą, skirtą lakiųjų junginių antibakterinėms savybėms per garų fazę įvertinti. Tačiau lakiųjų junginių turinčios maisto pakavimo medžiagos šiuo metodu iki šiol tirtos nebuvo. Garų difuzijos metodu buvo ištirtas AK/K/ČI dangos (ČI kiekis dangoje pateiktas 3.17 lent.) ir tiek pat ČI turinčio

filtravimo popieriaus antibakterinis poveikis *E. coli* ir *L. monocytogenes*. Gauti rezultatai pateikti atitinkamai 3.27 ir 3.28 pav.

Pradinis *E. coli* bakterijų kiekis ant celiuliozės nitrato filtrų buvo $3,12 \cdot 10^5$ kolonijas sudarančių vienetų skaičius (KSV). Po 24 val. inkubacijos 37 °C temperatūroje jis padidėjo iki $2,09 \cdot 10^{10}$ KSV (kaip neigiamą kontrolinį bandinį (NKB1) naudojant dangą be ČI) ir $2,56 \cdot 10^{10}$ KSV (kaip neigiamą kontrolinį bandinį (NKB2) naudojant filtravimo popierių be ČI). AK/K/ČI1 danga, turinti mažiausiai ČI, buvo neefektyvi prieš *E. coli* (3.27 pav., a). AK/K/ČI3 danga, turinti $21,59 \pm 1,12 \text{ g/m}^2$ ČI, turėjo poveikį *E. coli* bakterijų dauginimuisi ir sumažino bakterijų skaičių apie 1000 kartų, palyginti su neigiamu kontroliniu bandiniu. Kiek geresniu antibakteriniu poveikiu *E. coli* pasižymėjo neimobilizuotas, ant filtravimo popieriaus užlašintas ČI.



(a)



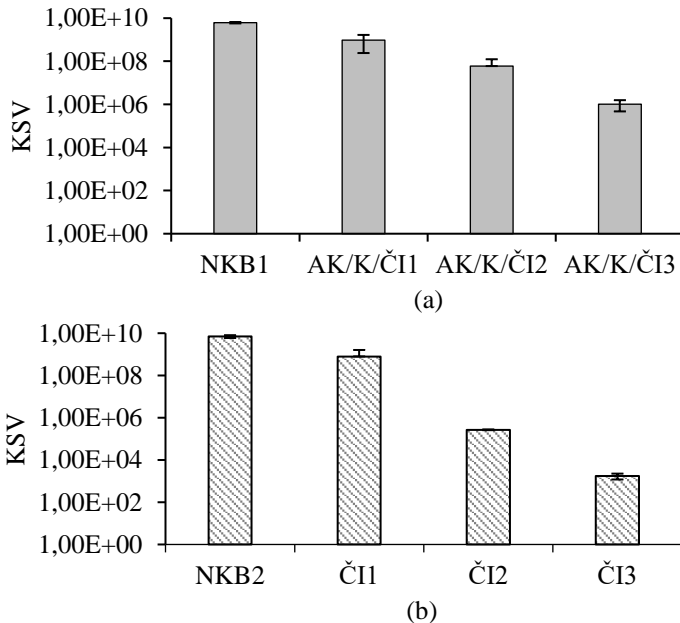
(b)

3.27 pav. *E. coli* bakterijų koncentracijos priklausomybė nuo ČI kiekio AK/K/ČI dangoje (a) ar ant filtravimo popieriaus (b) po 24 val. inkubacijos 37 °C temperatūroje. ČI koncentracija:

AK/K/ČI1, ČI1 – $5,85 \pm 0,3 \text{ g/m}^2$; AK/K/ČI2, ČI2 – $10,56 \pm 0,17 \text{ g/m}^2$; AK/K/ČI3, ČI3 – $21,59 \pm 1,12 \text{ g/m}^2$

Analogiški antimikrobinio poveikio per garų fazę tyrimai buvo atlikti ir su *L. monocytogenes*. Gauti rezultatai pateikti 3.28 pav. Kaip buvo galima tikėtis, ČI antibakterinis poveikis *L. monocytogenes* buvo didesnis nei poveikis *E. coli* bakterijoms, nes gramteigiamos bakterijos yra ne tokios atsparios eterinių aliejų poveikiui [85]. Pradinis *L. monocytogenes* bakterijų kiekis ant celiuliozės nitrato filtro buvo $2,63 \cdot 10^5$ KSV, o po 24 val. inkubacijos 37 °C temperatūroje jis padidėjo iki $6,18 \cdot 10^9$ KSV (kaip neigiamą kontrolinį bandinį (NKB1) naudojant dangą be ČI) ir $7,00 \cdot 10^9$ KSV (kaip neigiamą kontrolinį bandinį (NKB2) naudojant filtravimo popierių be ČI). Antibakterinis ČI, imobilizuoto AK/K/ČI dangoje, poveikis *L. monocytogenes* bakterijų dauginimuisi stiprėjo didėjant ČI koncentracijai (3.28 pav.,

a). Esant didžiausiai ČI koncentracijai dangoje (21,59 g/m²), bakterijų skaičius sumažėjo iki 1,02·10⁶ KSV. Kaip ir *E. coli* bakterijų atveju, didesnę antibakterinį poveikį turėjo ant filtravimo popieriaus užlašintas ČI (3.28 pav., b).



3.28 pav. *L. monocytogenes* bakterijų koncentracijos priklausomybė nuo ČI kiekio AK/K/ČI dangoje (a) ar ant filtravimo popieriaus (b) po 24 val. inkubacijos 37 °C temperatūroje. ČI koncentracija: AK/K/ČI1, ČI1 – 5,85±0,3 g/m²; AK/K/ČI2, ČI2 – 10,56±0,17 g/m²; AK/K/ČI3, ČI3 – 21,59±1,12 g/m²

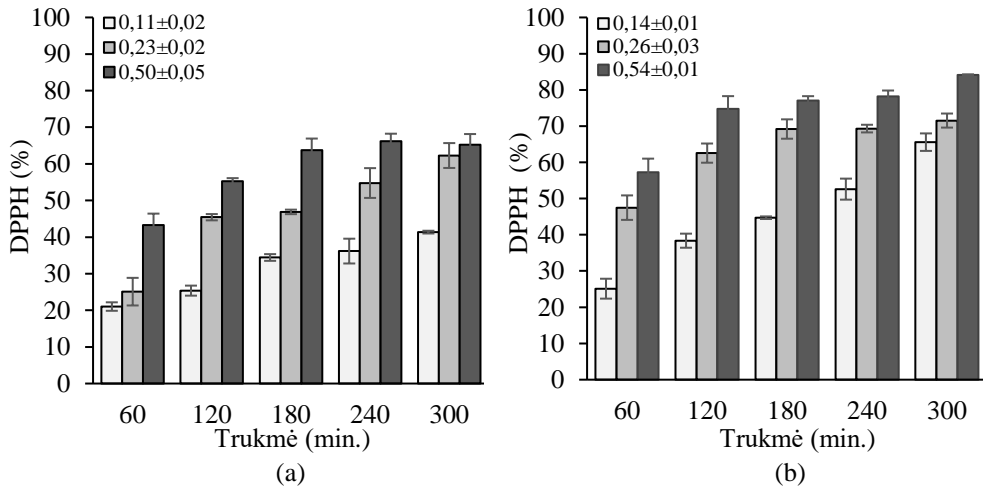
Apibendrinant gautus antibakterinių savybių tyrimų rezultatus, galima daryti išvadą, kad AK/K/ČI dangos, turinčios didesnę kiekį ČI, pasižymi antibakteriniu poveikiu tiek esant tiesioginiam kontaktui su bakterijomis, tiek per garų fazę ir galėtų slopinti *E. coli* ir *L. monocytogenes* bakterijų dauginimąsi.

3.4.2.3. Antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčių dangų sukūrimas ir tyrimai

Antioksidacinių savybių turinčioms dangoms gauti buvo pasirinkti kelių tipų plėvėdariai ir skirtingi EA. Viena dangų liejimo kompozicija buvo sudaryta iš AK ir EA emulsijos, kaip emulsiklį naudojant hidrofobiškai modifikuotą vaškinių kukurūzų krakmolą (K). Antroji dangų liejimo kompozicija buvo sudaryta iš celiuliozės acetato (CA) tirpalo acetone ir EA. Atsižvelgiant į 3.4.2.1 skyrelyje pateiktus antioksidacinių savybių tyrimų rezultatus, kaip efektyvūs antioksidantai imobilizuoti į dangas pasirinkti GV ir pagrindinė jo sudedamoji dalis EU. GV ar EU turinčios CA ar AK/K dangos suformuotos ant OPP. Antioksidacinėms savybėms įvertinti buvo sukurtas naujas GF-DPPH metodas, išsamiai aprašytas metodinėje dalyje. Šis metodas pagrįstas tuo, kad tiriami bandiniai neturi tiesioginio kontakto su DPPH reagentu.

Antioksidacinių savybių tyrimams paruoštos skirtingą kiekį GV ar EU turinčios AK/K ir CA dangos. GV ir EU kiekis dangose buvo išreikštas gramais viename

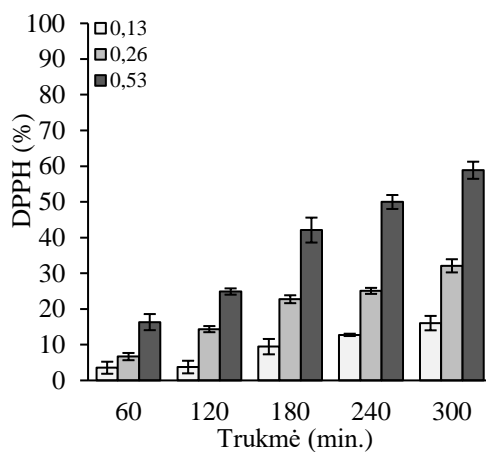
kvadratiniam metre dangos (g/m^2). Gauti AK/K/GV ir AK/K/EU dangų antioksidacinių savybių tyrimo rezultatai pateikti 3.29 pav.



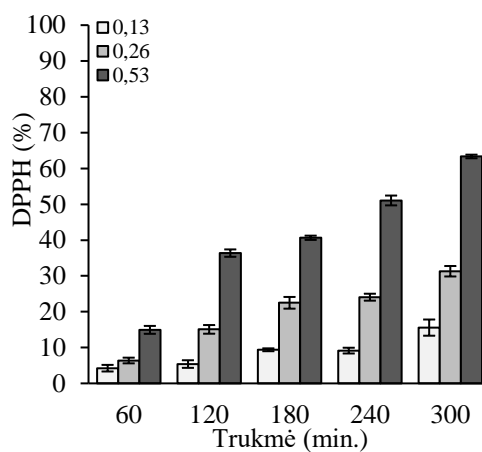
3.29 pav. DPPH laisvųjų radikalų sujungimo (DPPH) skirtingą kiekį (g/m^2) GV (a) arba EU (b) turinčiomis AK/K dangomis priklausomybė nuo trukmės. GF-DPPH metodas

Kaip matyti iš 3.29 pav. pateiktų duomenų, AK/K/GV ir AK/K/EU dangų antioksidacinės savybės priklausė nuo GV ir EU kiekio bei bandymo trukmės. GV kiekiui dangoje didėjant ir bandymo trukmei ilgėjant, DPPH laisvųjų radikalų sujungimas didėjo. Nepriklausomai nuo trukmės, geriausias antioksidacinis efektyvumas (43–65 % DPPH) buvo gautas, kai GV koncentracija dangoje buvo $0,50\pm 0,05 \text{ g}/\text{m}^2$. EU turinčios dangos pasižymėjo didesniu efektyvumu nei dangos su GV. Kaip matyti iš 3.29 pav. b dalyje pateiktų duomenų, DPPH laisvųjų radikalų sujungimas po 300 min., priklausomai nuo imobilizuoto EU kiekio, buvo nuo 65 iki 84 %.

GF-DPPH metodu buvo nustatytos ir neimobilizuotų GV ir EU antioksidacinės savybės. Gauti rezultatai pateikti 3.30 pav. Iš jo matyti, kad, esant panašiam kiekiui, neimobilizuoti GV ir EU rodo daug mažesnę antioksidacinę efektyvumą nei pateikti 3.29 pav. Net naudojant didžiausią GV ir EU koncentraciją ($0,53 \text{ g}/\text{m}^2$) DPPH laisvųjų radikalų sujungta atitinkamai 59 % ir 63 % (po 300 min.). Šie skirtumai gali būti aiškinami tuo, kad, kitaip nei filtravimo popieriuje, dangose GV ir EU yra imobilizuoti ir pasižymi kontroliuojamu atsipalaidavimu, taip pat geresniu antioksidaciniu veiksmingumu ir stabilumu saugant.



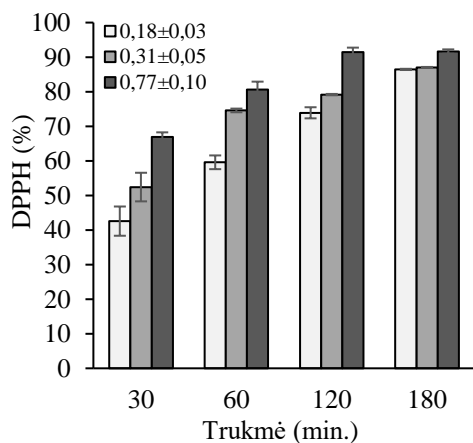
(a)



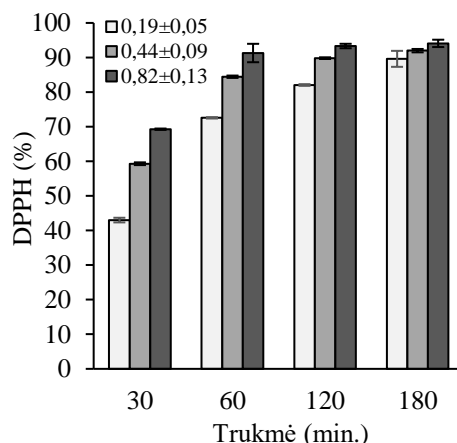
(b)

3.30 pav. DPPH laisvųjų radikalų sujungimo (DPPH) skirtingą kiekį (g/m^2) GV (a) arba EU (b) turinčiu filtravimo popieriumi priklausomybė nuo trukmės. GF-DPPH metodas

Ypač geromis antioksidacinėmis savybėmis pasižymėjo GV ir EU turinčios CA dangos. Kaip matyti iš 3.31 pav. pateiktų duomenų, $0,18\text{--}0,77 \text{ g/m}^2$ GV turinti CA danga per 180 min. sujungė 87–92 % DPPH laisvųjų radikalų. O CA danga, turinti $0,19\text{--}0,82 \text{ g/m}^2$ EU, esant tokiai pačiai bandymo trukmei, sujungė 90–94 % DPPH laisvųjų radikalų (3.31 pav., b).



(a)

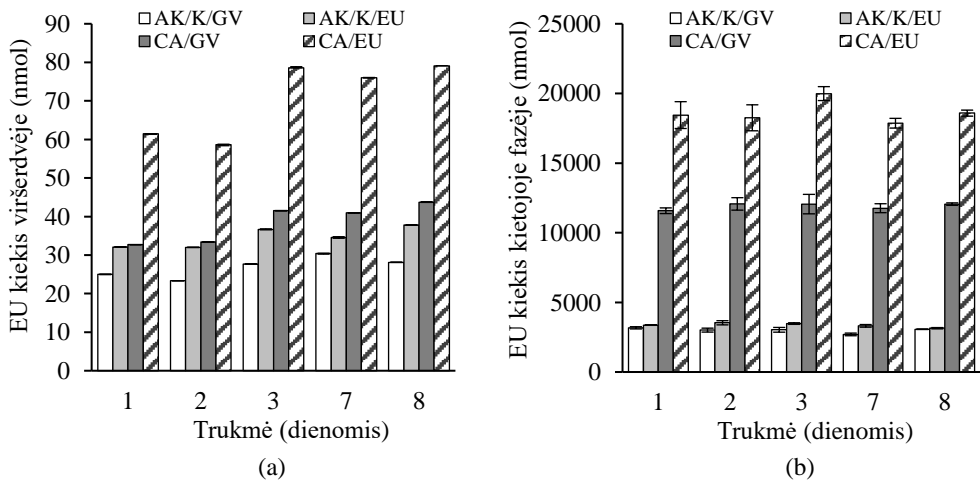


(b)

3.31 pav. DPPH laisvųjų radikalų sujungimo (DPPH) skirtingą kiekį (g/m^2) GV (a) arba EU (b) turinčiomis CA dangomis priklausomybė nuo trukmės. GF-DPPH metodas

Lyginant AK/K (3.29 pav.) ir CA (3.31 pav.) dangų, turinčių GV ir EU, DPPH laisvųjų radikalų sujungimo efektyvumą, galima teigti, kad, esant panašiai GV ar EU koncentracijai, CA danga pasižymi didesniu antioksidaciniu aktyvumu. Šie antioksidacinių savybių skirtumai gali būti susiję su greitesniu aktyviųjų junginių atpalaidavimu iš CA dangos.

Siekiant išsiaiškinti EU atpalaidavimo iš AK/K ir CA dangų skirtumus, buvo atlikti tyrimai dujų chromatografu. Bandiniai buvo įdėti į sandarius indus ir laikyti iki 8 dienų. Tam tikrais laiko intervalais buvo išmatuojamas viršerdvėje esantis ir kietojoje fazėje likęs EU kiekis (nmol), taip pat jis išmatuotas dangose su GV, nes EU yra pagrindinė sudedamoji GV dalis. Kaip matyti iš 3.32 pav. *a* dalyje pateiktų rezultatų, visuose bandiniuose didžioji dalis EU išsiskyrė per 1 dieną ir per 3 dienas pasiekė prisotinimą viršerdvėje.



3.32 pav. Eugenolio kiekis (nmol) viršerdvėje (*a*) ir kietojoje fazėje (*b*) skirtingose dangose, laikant bandinius sandariuose induose iki 8 dienų

EU kiekiui viršerdvėje ir kietojoje fazėje palyginti buvo apskaičiuotas pasiskirstymo koeficientas (K). Vidutinės AK/K/GV ir AK/K/EU dangų K vertės buvo atitinkamai $9,9 \pm 0,1 \cdot 10^{-3}$ ir $10,9 \pm 0,7 \cdot 10^{-3}$, o CA/GV ir CA/EU dangų – $3,5 \pm 0,1 \cdot 10^{-3}$ ir $4,2 \pm 0,2 \cdot 10^{-3}$. Kuo didesnė K vertė, tuo greičiau atpalaiduojamas EU. Iš gautų K verčių matyti, kad EU iš AK/K/EU ir CA/EU atsipalaidavo greičiau nei iš GV turinčių dangų. Be to, iš EU turinčios CA dangos atpalaiduojama apie du kartus daugiau EU nei iš AK/K dangos, tai leidžia paaiškinti didesnę CA/EU dangų antioksidacinę aktyvumą per garų fazę.

3.4.2.4. Antioksidacinės pakuotės prototipo sukūrimas ir tyrimai

Maisto pramonėje svarbią vietą užima pakavimo medžiagos, kurių paskirtis apsaugoti maisto produktus nuo fizinių pažeidimų, biocheminių reakcijų ir mikroorganizmų, sukeliančių gedimo procesus. Pastaruoju metu vis dažniau šviežia mėsa pakuojama naudojant modifikuotą atmosferą. Raudonai šviežios mėsos spalvai išsaugoti pakuotės atmosferoje deguonies koncentracija paprastai yra padidinama iki 60–80 % [236]. Mėsos [236] spalva priklauso nuo pigmento mioglobino, kuris gali būti kelių cheminių formų (deoksimioglobinas, oksimioglobinas ir metmioglobinas). Deguonis padeda išsaugoti oksimioglobina, kuris mėsai ir suteikia ryškiai raudoną spalvą. Įvairiais tyrimais patvirtinta, kad didelis kiekis deguonies yra naudingas

šviežios mėsos spalvos išsaugojimui, bet kartu skatina lipidų oksidaciją. Šią problemą galima išspręsti naudojant antioksidantų turinčias maisto pakuotes [172, 174].

Atsižvelgiant į 3.4.2.3 skyrelyje pateiktus AK/K/EU ir CA/EU dangų antioksidacinių savybių ir EU atpalaidavimo iš jų tyrimų rezultatus, antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčioms pakuotėms gauti kaip antioksidantas pasirinktas EU. Buvo sukurtos trys skirtingą kiekį EU turinčios dangos: AK/K/EU1 danga, turinti $0,32 \pm 0,03 \text{ g/m}^2$ EU, AK/K/EU2 danga, turinti $6,40 \pm 0,14 \text{ g/m}^2$ EU, ir CA/EU danga, turinti $0,65 \pm 0,08 \text{ g/m}^2$ EU. Kaip tiriamasis maisto produktas pasirinkta šviežia jautiena, turinti daug mioglobino.

OPP plėvelė su veikliąja danga buvo priklijuota vidinėje nulupamos PET/PE/EVOH/PE plėvelės pusėje. Šia plėvele buvo supakuoti šviežios jautienos kepsniai, naudojant 80 % O₂ ir 20 % CO₂ turinčią atmosferą. Supakuota mėsa buvo laikoma $2 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūroje 14 dienų, tam tikrais laiko intervalais išmatuojant mėsos spalvą ir nustatant joje oksiduotų lipidų kiekį.

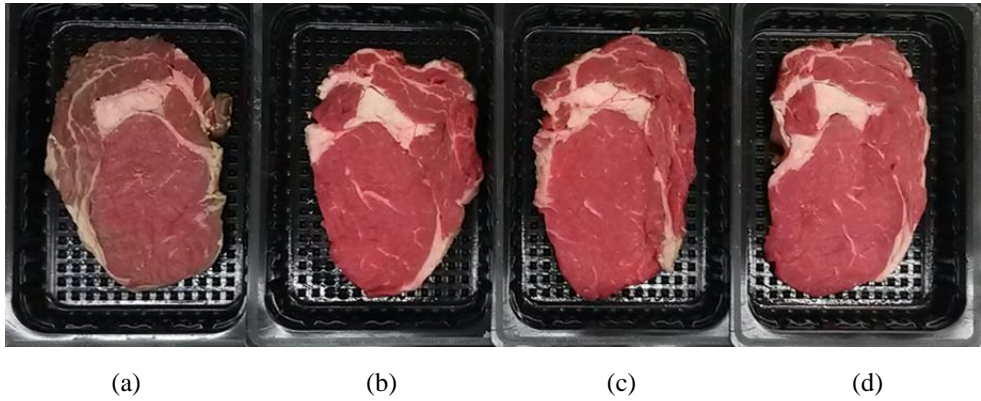
Jautienos spalvos charakteristikų priklausomybė nuo laikymo veiklojoje ir kontrolinėje pakuotėse trukmės pateikta 3.18 lent. Spalvotumo koordinatės *a* ir *b* nusako spalvos vietą CIELAB spalvų grafike, o spalvos tonas H°_{ab} , spalvos grynumas C_{ab} ir šviesumas *L* nusako spalvos pokyčius, atitinkančius vizualinį spalvos suvokimą [237]. Kaip matyti iš 3.18 lent. pateiktų duomenų, ryškūs mėsos spalvos tono pasikeitimai įvyksta jau per pirmąsias 3 laikymo paras ir jie nepriklauso nuo naudotos pakuotės. Tačiau toliau saugant mėsą veikliosiose pakuotėse spalvos tonas beveik nesikeitė, o kontrolinėje pakuotėje laikomos mėsos spalvos tonas toliau keitėsi. Be to, saugojimo metu kur kas labiau pasikeitė ir kontrolinėje pakuotėje laikomos mėsos spalvos grynumas. Jis per 14 dienų sumažėjo nuo 38,36 iki 23,36 NBS. Tuo metu veikliosiose pakuotėse laikomos mėsos spalvos grynumas nuo 38,36 NBS sumažėjo tik iki vidutiniškai 31 NBS. Spalvos grynumo mažėjimas rodo, kad mėsoje mažėjo spalvą suteikiančios medžiagos kiekis. Trečia spalvos charakteristika šviesumas pasikeitė nežymiai, ir pokyčiai nepriklausė nuo naudotos pakuotės. Mėsos spalvos pasikeitimai saugant kontrolinėje ir veikliosiose pakuotėse ypač gerai matomi apskaičiavus bendrąjį spalvos skirtumą ΔE_{ab} (3.18 lent.). Bendrasis spalvos skirtumas laikant bandinius veikliosiose pakuotėse 14 dienų buvo gerokai mažesnis (9,75–10,1 NBS), palyginti su kontroliniu bandiniu (17,56 NBS).

3.18 lentelė. Jautienos spalvos charakteristikų priklausomybė nuo laikymo trukmės veikliosiose ir kontrolinėje pakuotėse 2 ± 1 °C temperatūroje

Spalvos charakteristika	Pakuotė	Trukmė (dienomis)				
		0	3	7	10	14
Šviesumas L (NBS)	Kontrolinė	41,08±0,91	41,24±2,82	42,52±2,20	43,81±1,40	44,33±3,38
	AK/K/EU1	41,08±0,91	40,64±1,68	40,87±1,93	43,39±2,34	44,06±2,12
	AK/K/EU2	41,08±0,91	41,27±1,50	41,08±2,00	43,83±2,28	44,06±1,88
	CA/EU	41,08±0,91	41,52±1,74	41,28±1,20	43,27±1,91	43,86±1,91
Spalvotumo koordinatė a (NBS)	Kontrolinė	35,36±0,54	30,59±1,68	25,15±1,06	23,28±1,92	18,44±3,36
	AK/K/EU1	35,36±0,54	32,17±1,55	29,99±1,30	26,80±1,29	26,53±1,08
	AK/K/EU2	35,36±0,54	29,20±1,86	26,06±1,11	27,40±1,72	26,10±1,51
	CA/EU	35,36±0,54	31,25±1,41	25,94±1,02	26,51±1,95	26,03±1,07
Spalvotumo koordinatė b (NBS)	Kontrolinė	14,87±0,58	18,36±1,35	15,59±1,32	15,51±2,06	14,21±1,19
	AK/K/EU1	14,87±0,58	18,60±1,07	16,89±0,92	17,00±0,86	16,60±0,92
	AK/K/EU2	14,87±0,58	17,63±1,42	15,75±0,92	17,11±1,48	16,26±0,94
	CA/EU	14,87±0,58	18,35±0,97	15,28±0,80	16,59±1,40	16,38±1,02
Spalvos tonas H°_{ab} (laipsniais)	Kontrolinė	22,80±0,75	30,96±1,32	31,76±1,79	33,60±2,74	38,11±4,96
	AK/K/EU1	22,80±0,75	30,02±0,86	29,38±1,02	32,38±0,56	32,03±1,29
	AK/K/EU2	22,80±0,75	31,10±1,10	31,15±1,37	31,96±1,62	31,93±1,03
	CA/EU	22,80±0,75	30,42±0,58	30,49±0,63	32,04±1,82	31,70±1,19
Spalvos grynumas C_{ab} (NBS)	Kontrolinė	38,36±0,62	35,69±1,99	29,60±1,42	28,01±2,41	23,36±2,99
	AK/K/EU1	38,36±0,62	37,17±1,80	34,43±1,47	31,74±1,52	31,30±1,23
	AK/K/EU2	38,36±0,62	34,12±2,25	30,46±1,24	32,31±2,08	30,75±1,69
	CA/EU	38,36±0,62	36,25±1,68	30,10±1,25	31,29±2,20	30,55±1,32
Bendrasis spalvos skirtumas ΔE_{ab} (NBS)	Kontrolinė	–	6,79±1,23	10,65±0,93	12,66±1,85	17,56±3,62
	AK/K/EU1	–	5,50±0,65	6,17±1,05	9,49±0,95	9,75±1,21
	AK/K/EU2	–	7,23±1,04	9,62±0,96	9,17±1,53	10,06±1,48
	CA/EU	–	5,90±0,64	9,56±0,93	9,66±1,46	10,10±1,00

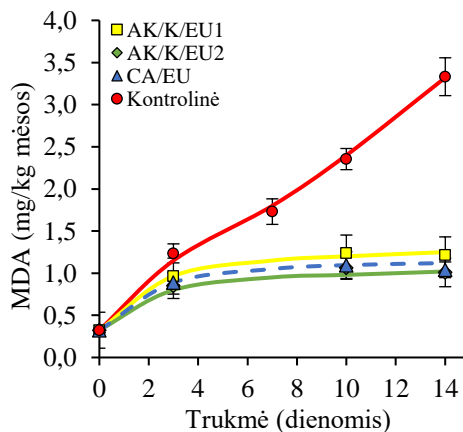
EU kiekis dangose: EU1 – 0,32±0,03 g/m²; EU2 – 6,40±0,14 g/m²; EU – 0,65±0,08 g/m²

Apibendrinant spalvos matavimo rezultatus, galima teigti, kad EU turinčiose veikliosiose pakuotėse jautienos mėsos spalva pasikeitė mažiau nei kontrolinėje. Tai leidžia patvirtinti ir 3.33 pav. pateiktos jautienos bandinių, 14 dienų laikytų veikliosiose ir kontrolinėje pakuotėse, nuotraukos.



3.33 pav. Jautienos bandinių, 14 dienų laikytų kontrolinėje (a) ir AK/K/EU1 ($0,32 \pm 0,03$ g/m²) (b), AK/K/EU2 ($6,40 \pm 0,14$ g/m²) (c), CA/EU ($0,65 \pm 0,08$ g/m²) (d) pakuotėse, nuotraukos

Saugomuose jautienos bandiniuose taip pat buvo nustatytas oksiduotų lipidų kiekis. Žinoma [238], kad riebalai, aliejai ir kiti lipidai reaguoja su deguonimi sudarydami peroksidus, kurių vienas iš skilimo produktų yra malondialdehidas (MDA). Malondialdehido kiekiui nustatyti yra taikomas spalvotos reakcijos su 2-tiobarbitūro rūgštimi (TBARS) metodas. Vykstant reakcijai susidaro rožinės spalvos chromogenas [196]. MDA koncentracija bandinyje yra nustatoma iš kalibracinės tiesės, išmatavus 532 nm monochromatinio spindulio sugertį tiriamuoju tirpalu. Oksiduotų lipidų kiekis yra išreiškiamas MDA kiekiu (mg) kilograme mėsos. Gauti rezultatai pateikti 3.34 pav.



3.34 pav. MDA kiekio jautienos mėsoje, nustatyto TBARS metodu, priklausomybė nuo laikymo 2 ± 1 °C temperatūroje trukmės ir naudotos pakuotės

Šviežios jautienos mėsoje, prieš ją supakuojant, oksiduotų lipidų, išreikštų MDA kiekiu, buvo $0,32 \pm 0,03$ mg/kg mėsos. Mėsoje, saugomoje kontrolinėje pakuotėje, oksiduotų lipidų kiekis nuolat didėjo ir po 14 dienų sudarė $3,33 \pm 0,22$ mg/kg. Literatūros duomenimis [239], nepageidaujamas mėsos kvapas yra jaučiamas, kai oksiduotų lipidų yra 1,5 mg/kg. Toks jų kiekis kontrolinėje pakuotėje laikomoje mėsoje buvo jau po 7 dienų. O veikliosiose pakuotėse saugomoje mėsoje net po 14 dienų oksiduotų lipidų kiekis buvo mažesnis, priklausomai nuo pakuotės, nuo 1,01 iki 1,22 mg/kg, t. y. lipidų oksidacija EU turinčioje pakuotėje vyko lėčiau, beveik nepriklausė nuo EU kiekio veikliojoje dangoje.

Literatūros duomenimis, šviežios jautienos, supakuotos naudojant deguonies prisotintą atmosferą (80 % O₂ ir 20 % CO₂), tinkamumo vartoti trukmė prekybos vietoje yra tik 3–4 dienos [240]. Apibendrinant tyrimo rezultatus, galima teigti, kad pakuotėje esantis EU gali slopinti lipidų oksidaciją jautienoje, apsaugoti ją nuo nepageidajamų spalvos pokyčių ir taip pailginti produkto tinkamumo vartoti trukmę.

IŠVADOS

1. Vykstant elektrostatinei sąveikai tarp polisacharidų – dekstrano sulfato, κ - ar ι -karageninų – sulfatograpių ir vandeniniame mėlynių ekstrakte esančių antocianinų flavilio katijono susidaro joniniai kompleksai. Į kompleksą sujungtų antocianinų kiekis priklauso nuo polisacharido prigimties, kompleksą sudarančių medžiagų masių santykio ir bendrosios jų koncentracijos. Daugiausia antocianinų į kompleksą yra sujungiami, kai polisacharido ir antocianinų masių santykis yra 0,4. Polisacharidų ir antocianinų komplekso dalelių dydis, esant optimaliam medžiagų masių santykiui, priklauso nuo bendrosios polisacharido ir antocianinų koncentracijos tirpale. Efektyviosios skysčių chromatografijos metodu įrodyta, kad kompleksų su polisacharidais susidarymo procese dalyvauja visi vandeniniame mėlynių ekstrakte esantys skirtingi antocianinai.

2. Antocianinų imobilizavimas kompleksuose su dekstrano sulfatu ar karageniniais apsaugo antocianinų flavilio katijoną nuo hidratacijos ir padidina vandeninių komplekso suspensijų stabilumą saugant. Iš gautų kompleksų mikrogranulių antocianinai gali būti atpalaiduojami į įvairias terpes, tarp jų į 0,1 M druskos rūgšties (modelinė skrandžio terpė) ir fosfatinį buferinį tirpalą, kurio pH vertė yra 6,8 (modelinė žarnyno terpė).

3. Karageninų ir antocianinų kompleksų mikrogranulės gali būti gaunamos mėlynių ekstrakto esančius antocianinus adsorbuojant tinkliniais karageninų dariniais. Optimalių savybių tinkliniams karageninų dariniais gauti reakcijos mišinys užtenka 0,3 molio epichlorhidrino moliui karagenino. Pusiausvirošios adsorbcijos sąlygomis gautoms antocianinų adsorbcijos tinkliniais karageninų dariniais izotermoms aprašyti pritaikyti dviejų kintamųjų matematiniai adsorbcijos modeliai. Lengmiūro adsorbcijos modelis leido patvirtinti elektrostatinę sąveiką tarp flavilio katijono ir tinklinių karageninų sulfatograpių. Freundlichio konstantos n_F bei Dubinino ir Radushkevicho adsorbcijos energijos E_{DR} vertės parodė, kad sąlygos antocianinų adsorbcijai tinkliniais karageniniais nepakankami palankios ir aukštesnėje temperatūroje antocianinai adsorbuojami ne tik dėl jonų mainų, bet ir fizikinėmis jėgomis. Nedidelės neigiamos Gibso laisvosios energijos pokyčio ΔG° vertės parodė, kad antocianinų flavilio katijono giminiškumas tinkliniams karageninams nėra didelis.

4. Pagamintos liofilizuotos tinklinio κ -karagenino ir antocianinų mikrogranulės panaudotos rektalinio preparato prototipui sukurti ir pasiūlyta šių mikrogranulių gamybos technologinė schema.

5. Sukurtos čiobrelių eterinio aliejaus ar eugenolio turinčios celiuliozės acetato ar akrilinio plėvédario ir hidrofobiškai modifikuoto krakmolo dangos ant polimerinės plėvelės, pasižyminčios antibakteriniu poveikiu *E. coli* bei *L. monocytogenes* bakterijoms ir stipriu laisvųjų radikalų sujungimu nesant tiesioginio kontakto su tiriamuoju substratu.

6. Sukurtas antioksidacinės pakuotės prototipas: šviežia jautiena supakuota polimerine plėvele, padengta celiuliozės acetato ir eugenolio ar akrilinio plėvédario, hidrofobiškai modifikuoto krakmolo ir eugenolio danga. Mėsa šioje pakuotėje 14 dienų buvo apsaugota nuo lipidų oksidacijos ir nepageidaujamų spalvos pokyčių.

LITERATŪRA

1. TAYLOR, C., M. WALLACE, M. GIUSTI. *Anthocyanins in Health and Disease*. CRS Press, Taylor and Francus Group, Boca Raton London, New York, 2014, p. 2. ISBN 9781439894712
2. SHARIFI-RAD, J., et al. Biological Activities of Essential Oils: From Plant Chemoecology to Traditional Healing Systems. *Molecules*. 2017, 22 (1), 70. Prieiga per doi:10.3390/molecules22010070
3. JOSÉ-LUIS, R. Essential Oils: What They Are and How the Terms Are Used and Defined. In *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. 2016, Elsevier, 3-10. Prieiga per doi: 10.1016/B978-0-12-416641-7.00001-8
4. CAVALCANTI, R. N., D. T. SANTOS, M. A. A. MEIRELES. Non-thermal stabilization mechanism of anthocyanins in model and food system. *Food Research International*. 2011, 44 (2), 499–509. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodres.2010.12.007
5. JEONG, D., and K. NA. Chondroitin sulphate based nanocomplex for enhancing the stability and activity of anthocyanins. *Carbohydrate Polymers*. 2012, 90, 507–515. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2012.05.072
6. LIU, J., X. ZHAN, J. WAN, Y. WANG, C. WANG. Review for carrageenan-based pharmaceutical biomaterials: Favourable physics feature versus adverse biological effects. *Carbohydrate Polymers*. 2015, 121, 27–36. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2014.11.063
7. COSTALAT, M., L. DAVID, T. DELAIR. Reversible controlled assembly of chitosan and dextran sulfate: A new method for nanoparticles elaboration. *Carbohydrate Polymers*. 2014, 102, 717–728. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2013.10.098
8. CHEOW, W. S., and K. HADINOTO. Green preparation of antibiotic nanoparticle complex as potential anti-biofilm therapeutics via self-assembly amphiphile-polyelectrolyte complexation with dextran sulfate. *Colloids and Surface B: Biointerfaces*. 2012, 92, 55–63. Prieiga per doi: 10.1016/j.colsurfb.2011.11.024
9. REGULATION (CE) No. 450/2009 (29/05/2009). Prieiga per internetą: <http://eurlex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32009R0450>
10. BOGA, C., et al. Investigation on the dyeing power of some organic natural compounds for a green approach to hair dyeing. *Dyes Pigments*. 2013, 97 (1), 9–18. Prieiga per doi: 10.1016/j.dyepig.2012.11.020
11. MANSOUR, R., B. EZZILI, M. FAROUK. Dyeing properties of wool fabrics dyed with *Vitis Vinifera* L. (black grenache) leaves extract. *Fibers and Polymers*. 2013, 14 (5), 786–92. Prieiga per doi: 10.1007/s12221-013-0786-z
12. FRIEDMAN, M. Antibacterial, antiviral, and antifungal properties of wines and winery byproducts in relation to their flavonoid content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014, 62 (26), 6025–6042. Prieiga per doi: 10.1021/jf501266s
13. BONARSKA-KUJAWA, D., S. CYBORAN, R. ŻYŁKA, J. OSZMIAŃSKI, H. KLESZCZYŃSKA. Biological activity of blackcurrant extracts (*Ribes nigrum* L.) in relation to erythrocyte membranes. *BioMed Research International*. 2014, 2014, 1–13. Prieiga per doi: 10.1155/2014/783059

14. THOMASSET, S., et al. Pilot study of oral anthocyanins for colorectal cancer chemoprevention. *Cancer Prevention Research*. 2009, 2 (7), 625–633. Prieiga per doi: 10.1158/1940-6207
15. CRONIN, H., and Z. D. DRAELOS. Top 10 botanical ingredients in 2010 anti-aging creams. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2010, 9 (3), 218–225. Prieiga per doi: 10.1111/j.1473-2165.2010.00516.x.
16. GHAFOR, K., and F. Y. AL JUHAIMI. Effects of anthocyanins as nutraceuticals. *Agro Food Industry Hi-Tech*. 2014, 25 (4), 9–13.
17. ANANGA, A., V. GEORGIEV, J. OCHIENG, B. PHILLS, V. TSOLOVA. Production of Anthocyanins in Grape Cell Cultures: A Potential Source of Raw Material for Pharmaceutical, Food, and Cosmetic Industries. In *The Mediterranean Genetic Code - Grapevine and Olive*. InTech Croatia. 2013, 247–278. Prieiga per doi: 10.5772/54592
18. SHANMUGAM, V., S. MANOHARAN, S. ANANDAN, R. MURUGAN. Performance of dye-sensitized solar cells fabricated with extracts from fruits of ivy gourd and flowers of red frangipani as sensitizers. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2013, 104, 35–40. Prieiga per doi: 10.1016/j.saa.2012.11.098
19. CASTAÑEDA-OVANDO, A., M. L. PACHECO-HERNÁNDEZ, M. E. PÁEZ-HERNÁNDEZ, J. A. RODRÍGUEZ, C. A. GALÁN-VIDAL. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*. 2009, 113, 859–871. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2008.09.001
20. ANDERSEN, Ø. M., and JORDHEIM M. The Anthocyanins. In *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. Boca Raton: CRC Press LLC. 2006, 471–553. Prieiga per doi: 10.1002/anie.200685399
21. KONG, J. M., L. S. CHIA, N. K. GOH, T. F. CHIA, R. BROUILLARD. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*. 2003, 64, 923–933. Prieiga per doi: 10.1016/S0031-9422(03)00438-2
22. MAZZA, G., and E. MINIATI. *Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains*. CRC Press, Boca Raton. 1994.
23. RAMAWAT, K. G., and J. M. MÉRILLON. *Natural Products*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2013. Prieiga per doi: 10.1007/978-3-642-22144-6_59
24. NESTBY, R., D. PERCIVAL, I. MARTINUSSEN, N. OPSTAD, J. ROHLOFF. The European blueberry (*Vaccinium myrtillus L.*) and the potential for cultivation: a review. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*. 2010, 5, 5–16.
25. BURDULIS, D., L. IVANAUSKAS, V. DIRSE, S. KAZLAUSKAS, A. RAZUKAS. Study of diversity of anthocyanins composition in bilberry (*Vaccinium myrtillus L.*) fruits. *Medicina*. 2007, 43, 971–977.
26. LATTI, A. K., K. R. RIIHINEN, P. S. KAINULAINEN. Analysis of anthocyanin variation in wild population of bilberry (*Vaccinium myrtillus L.*) in Finland. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2008, 56 (1), 190–196. Prieiga per doi: 10.1021/jf072857m
27. BARNES, J. S., H. P. NGUYEN, S. SHEM, K. A. SCHUG. General method for extraction of blueberry anthocyanins and identification using high performance liquid chromatography-electrospray ionization-ion trap-time offlight-mass spectroscopy.

- Journal of Chromatography A*. 2009, 1216 (23), 4728–4735. Prieiga per doi: 10.1016/j.chroma.2009.04.032
28. CHIRIBOGA, C. D., F. J. FRANCIS. Ion exchange purified anthocyanin pigments as a colorant for cranberry juice cocktail. *Journal of Food Science*. 1973, 38, 464. Prieiga per doi: 10.1111/j.1365-2621.1973.tb01455.x
 29. SCHWARZ, M., S. HILLEBRAND, S. HABBEN, A. DEGENHARDT, P. WINTERHALTER. Application of high-speed countercurrent chromatography to the large-scale isolation of anthocyanins. *Biochemical Engineering Journal*. 2003, 14 (3), 179–189. Prieiga per doi: 10.1016/S1369-703X(02)00219-X
 30. FERREIRO-GONZALEZ, M., et al. A new solid phase extraction for the determination of anthocyanins in grapes. *Molecules*. 2014, 19, 21398–21410. Prieiga per doi: 10.3390/molecules191221398
 31. CHANDRASEKHAR, J., M. C. MADHUSUDHAN, K. S. M. S. RAGHAVARAO. Extraction of anthocyanins from red cabbage and purification using adsorption. *Food and Bioproducts Processing*. 2012, 90 (4), 615–623. Prieiga per doi: 10.1016/j.fbp.2012.07.004
 32. KANG, Y. J., S. W. JUNG, S. J. LEE. An optimal extraction solvent and purification adsorbent to produce anthocyanins from black rice (*Oryza sativa* cv. Heugjinjubyeo). *Food Science and Biotechnology*. 2014, 23, 97–106. Prieiga per doi: 10.1007/s10068-014-0013-8
 33. LIU, X., G. XIAO, W. CHEN, Y. XU, J. WU. Quantification and purification of Mulberry anthocyanins with macroporous resins. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2004, 5, 326–331. Prieiga per doi: 10.1155/S1110724304403052
 34. HE, J., and M. M. GIUSTI. High-purity isolation of anthocyanins mixtures from fruits and vegetables – a novel solid-phase extraction method using mixed mode cation-exchange chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2011, 1218 (44), 7914–7922. Prieiga per doi: 10.1016/j.chroma.2011.09.005
 35. FLESCUT, J., F. KRATZER, G. RECHKEMMER, S. E. KULLING. Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins *in vitro*. *European Journal of Nutrition*. 2006, 45, 7–18. Prieiga per doi: 10.1007/s00394-005-0557-8
 36. GIUSTI, M. M., and R. E. WROLSTAD. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biological Engineering Journal*. 2003, 14 (3), 217–225. Prieiga per doi: 10.1016/S1369-703X(02)00221-8
 37. JIMENEZ, N., et al. Kinetics of anthocyanin degradation and browning in reconstitute blackberry juice treated at high temperatures (100–180 °C). *Journal of Science of Food and Agriculture*. 2010, 58 (4), 2314–2322. Prieiga per doi: 10.1021/jf902381e
 38. KADER, F. B. ROVEL, M. GIRARDIN, M. METCHE. Mechanism of browning in fresh Highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). Partial purification and characterisation of blueberry polyphenol oxidase. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1997, 73, 513–516. Prieiga per doi: 0.1002/(SICI)1097-0010(199704)73:4<513::AID-JSFA763>3.0.CO;2-T
 39. PACHECO-PALENCIA, L. A., P. HAWKEN, S. T. TALCOTT. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. *Food Research International*. 2007, 40, 620–628. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodres.2006.11.006

40. RUBINSKIENE, M., P. VISKELIS, I. JASUTIENE, C. BOBINAS. Impact of various factors on the composition and stability of black currant anthocyanins. *Food Research International*. 2005, 38, 867–871. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodres.2005.02.027
41. THAKUR, B. R., and S. S. ARYA. Studies on stability of blue grape anthocyanins. *International Journal of Food Science and Technology*. 1989, 24, 321–326. Prieiga per doi: 10.1111/j.1365-2621.1989.tb00650.x
42. ASEN, S., R. N. STEWART, K. H. NORRIS. Co-pigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color. *Phytochemistry*. 1972, 11(3), 1139–1144. Prieiga per doi: 10.1016/S0031-9422(00)88467-8
43. HOSHINO, T., U. MATSUMOTO, T. GOTO. Evidence of the self-association of anthocyanins. I. Circular dichroism of cyanin anhydrobase. *Tetrahedron Letters*. 1980, 21 (18), 1751–1754. Prieiga per doi: 10.1016/S0040-4039(00)77827-0
44. GONZALEZ-MANZANO, S., et al. Colour implications of self-association process of wine anthocyanins. *European Food Research and Technology*. 2008, 226 (3), 483–490. Prieiga per doi: 10.1007/s00217-007-0560-9
45. WILLSTÄTTER, R., and E. H. ZOLLINGER. XI. Über die Farbstoffe der Weintraube und der Heidelbeere, II. *Liebigs Annalen der Chemie*. 1916, 412, 195–216.
46. BROUILLARD, R. The in vivo expression of anthocyanins color in plants. *Phytochemistry*. 1983, 22 (6), 1311–1323. Prieiga per doi: 10.1016/S0031-9422(00)84008-X
47. DANGLES, O., N. SAITO, R. BROUILLARD. Anthocyanins intramolecular copigment effect. *Phytochemistry*. 1993, 34 (1), 119–124. Prieiga per doi: 10.1016/S0031-9422(00)90792-1
48. MARKOVICH, D., J. M. PETRANOVIC, J. M. BARANAC. A spectroscopical study of the copigmentation of malvin with caffeic and ferulic acids. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2000, 48 (11), 5530–5536. Prieiga per doi: 10.1021/jf000038v
49. KEAN, G. E., and M. REILLY. Red radish and rosemary compositions with enhanced color stability and use of same in foods, beverages, cosmetics and pharmaceuticals. (US Patent No. 2011001564, 2012).
50. CHUNG, C., T., ROJANASASITHARA, W. MUTLILANGI, D. J. MCCLEMENTS. Stabilization of natural colors and nutraceuticals: inhibition of anthocyanin degradation in model beverages using polyphenols. *Food Chemistry*. 2016, 212, 596–603. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2016.06.025
51. GRAS, C. C., H. BOGNER, R. CARLE, R. M. SCHWEIGGERT. Effect of genuine non-anthocyanin phenolics and chlorogenic acid on color and stability of black carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) anthocyanins. *Food Research International*. 2016, 85, 291–300. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodres.2016.05.006
52. LIU, Y., B. ZHANG, F. HE, C. Q. DUAN, Y. SHI. The influence of prefermentative addition of gallic acid on the phenolic composition and chromatic characteristics of Cabernet Sauvignon wines. *Journal of Food Science*. 2016, 81 (7), 1669–1678. Prieiga per doi: 10.1111/1750-3841.13340
53. DAVIES, A. J., and G. MAZZA. Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 1993, 41 (5), 716–720. Prieiga per doi: 10.1021/jf00029a007

54. HE, J., A. R. CARVALHO, N. MATEUS, V. DE FREITAS. Spectral features and stability of oligomeric pyranoanthocyanin-flavanol pigments isolated from red wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2010, 58 (16), 9249–9258. Prieiga per doi: 10.1021/jf102085e
55. EIRO, M. J., and M. HEINONEN. Anthocyanin color behavior and stability during storage: effect of intermolecular copigmentation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2002, 50 (25), 7461–7466. Prieiga per doi: 10.1021/jf0258306
56. STARR, M. S., and F. J. FRANCIS. Effect of metallic ions on color and pigment content of cranberry juice cocktail. *Journal of Food Science*. 1973, 38, 1043–1046. Prieiga per doi: 10.1111/j.1365-2621.1973.tb02144.x
57. KUNSAGI-MATE, S., E. STAMPEL, L. KOLLAR, M. S. POUR NIKFARDJAM. The effect of the oxidation state of iron ions on the competitive complexation of malvidin by caffeic or ellagic acid. *Food Research International*. 2008, 41 (7), 693–696. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodres.2008.05.001
58. SCHREIBER, H. D., A. M. SWINK, T. D. GODSEY. The chemical mechanism for Al³⁺ complexing with delphinidin: A model for the bluing of hydrangea sepals. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2010, 104 (7), 732–739. Prieiga per doi: 10.1016/j.jinorgbio.2010.03.006
59. JIS, Z., M. J. DUMONT, V. ORSAT. Encapsulation of phenolic compounds present in plants using protein matrices. *Food Bioscience*. 2016, 15, 87–104. Prieiga per doi: 10.1016/j.fbio.2016.05.007
60. FANG, Z., and B. BHANDARI. Encapsulation of polyphenols - a review. *Trends in Food Science & Technology*. 2010, 21 (10), 510–523. Prieiga per doi: 10.1016/j.tifs.2010.08.003
61. FATHI, M., A. MARTIN, D. J. MCCLEMENTS. Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems. *Trends in Food Science Technology*. 2014, 39 (1), 18–39. Prieiga per doi: 10.1016/j.tifs.2014.06.007.
62. OIDTMANN, J., et al. Preparation and comparative release characteristics of three anthocyanin encapsulation systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012, 60 (3), 844–851. Prieiga per doi: 10.1021/jf2047515.
63. BETZ, M., et al. Antioxidant capacity of bilberry extract microencapsulated in whey protein hydrogels. *Food Research International*. 2012, 47 (1), 51–57. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodres.2012.01.010
64. ARROYO-MAYA, I. J., and D. J. MCCLEMENTS. Biopolymer nanoparticles as potential delivery systems for anthocyanins: fabrication and properties. *Food Research International*. 2015, 69, 1–8. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodres.2014.12.005.
65. ZHANG, T., et al. Encapsulation of anthocyanin molecules within a ferritin nanocage increases their stability and cell uptake efficiency. *Food Research International*. 2014, 62, 183–192. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodres.2014.02.041
66. NORMAN, M., P. BARTCZAK, J. ZDARTA, H. EHRlich, T. JESIONOWSKI. Anthocyanin dye conjugated with *Hippospongia communis* marine demosponge skeleton and its antiradical activity. *Dyes and Pigments*. 2016, 134, 541–552. Prieiga per doi: 10.1016/j.dyepig.2016.08.019.

67. CHOI, I., J. Y. LEE, M. LACROIX, J. HAN. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food Chemistry*. 2017, 218, 122–128. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2016.09.050
68. JEONG, D., B. C. BAE, S. J. PARK, K. NA. Reactive oxygen species responsive drug releasing nanoparticle based on chondroitin sulfate–anthocyanin nanocomplex for efficient tumor therapy. *Journal of Controlled Release*. 2016, 222, 78–85. Prieiga per doi: 10.1016/j.jconrel.2015.12.009
69. HYLDGAARD, M., T. MYGIND, R. L. MEYER. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*. 2012, 3, 12, 1–24. Prieiga per doi: 10.3389/fmicb.2012.00012
70. LI, Y., A. S. FABIANO-TIXIER, F. CHEMAT. *Essential Oils as Reagents in Green Chemistry*. Springer Science+Business Media, 2014. pp. 1–71. ISBN 978-3-319-08449-7.
71. CASSEL, E., and R. M. F. VARGAS. Experiments and modeling of the *Cymbopogon winterianus* essential oil extraction by steam distillation. *Journal of the Mexican Chemical Society*. 2006, 50 (3), 126–129.
72. LIRA, P. D. L., E. TKACIK, J. RINGUELET, J. D. COUSSIO, C. van BAREN, A. L. BANDONI. Essential oil and by-products of distillation of bay leaves (*Laurusnobilis L.*) from Argentina. *Industrial Crops and Products*. 2009, 30 (2), 259–264. Prieiga per doi: 10.1016/j.indcrop.2009.04.005
73. HUSSAIN, A. I., F. ANWAR, S. T. HUSSAIN SHERAZI, R. PRZYBYLSKI. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*. 2008, 108 (3), 986–995. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2007.12.010
74. KHAJEH, M., Y. YAMINI, N. BAHRAMIFAR, F. SEFIDKON, M. REZA PIRMORADEI. Comparison of essential oils compositions of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*. 2005, 91 (4), 639–644. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2004.06.033
75. RIAHI, L., H. CHOGRANI, M. ELFERCHICHI, Y. ZAOUALI, N. ZOGHLAMI, A. MLIKI. Variations in Tunisian wormwood essential oil profiles and phenolic contents between leaves and flowers and their effects on antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*. 2013, 46, 290–296. Prieiga per doi: 10.1016/j.indcrop.2013.01.036.
76. EUROPEAN COMMISSION. Regulation (EC) No 1334/2008. Official Journal of the European Union, 354/34(1334), 2008, 34–50. Prieiga per: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=acelex:32008R1334>.
77. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Code of Federal Regulations Title 21, volume 8. Food and drugs. Chapter I: Food and drug administration, department of health and human services, subchapter B: food for human consumption. Part 182: substances generally recognized as safe (GRAS), subpart a general provisions, subpart 182.20 essential oils, oleoresins, and natural extractives. Office of the Federal Register, Washington. Prieiga per internetą: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=4182.20>.
78. HAN, X., and L. T. PARKER. Anti-inflammatory, tissue remodeling, immunomodulatory, and anticancer activities of oregano (*Origanum vulgare*)

- essential oil in a human skin disease model. *Biochimie Open*. 2017, 4, 73–77. Prieiga per doi: 10.1016/j.biopen.2017.02.005
79. AMORATI, R., M. C. FOTI, L. VALGIMIGLI. Antioxidant Activity of Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2013, 61, 10835–10847. Prieiga per doi: 10.1021/jf403496k
 80. NAZZARO, F., F. FRATIANNI, L. MARTINO, R. COPPOLA, V. FEO. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*. 2013, 6, 1451–1474. Prieiga per doi: 10.3390/ph6121451
 81. FISHER, K., K. PHILLIPS. In vitro inhibition of vancomycin-susceptible and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and *E. faecalis* in the presence of citrus essential oils. *British Journal of Biomedical Science*. 2009, 66 (4), 180–185
 82. BURT, S. Essential oil: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology*. 2004, 94 (3), 223–253. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
 83. GAO, Y., Y. J. JIN, H. D. LI, H. J. CHEN. Volatile organic compounds and their roles in bacteriostasis in five conifer species. *Journal of Integrative Plant Biology*. 2005, 47 (4), 499–507. Prieiga per doi: 10.1111/j.1744-7909.2005.00081.x
 84. PAVELA, R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: A review. *Industrial Crops and Products*. 2015, 76, 174–187. Prieiga per doi: 10.1016/j.indcrop.2015.06.050
 85. BARTON, L. L. *Structural and functional relationships in prokaryotes*. Springer, USA, 2005. ISBN: 978-0-387-27125-5.
 86. TEIXEIRA, B., et al. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops & Products*. 2013, 43, 587–595. Prieiga per doi: 10.1016/j.indcrop.2012.07.069
 87. DOBRE, A. A., V. GAGIU, N. PETRU. Antimicrobial activity of essential oils against food-borne bacteria evaluated by two preliminary methods. *Romanian Biotechnological Letters*. 2011, 16 (6), 119–125.
 88. VIUDA-MARTOS, M., Y. RUIZ-NAVAJAS, J. FERNANDEZ-LOPEZ, J. A. PEREZ-ALVERES. Antifungal activities of thyme, clove and oregano essential oils. *Journal of Food Safety*. 2007, 27, 91–101. Prieiga per doi: 10.1111/j.1745-4565.2007.00063.x
 89. EFSA. Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food (ANS). Scientific Opinion on the reevaluation of butylated hydroxytoluene BHT (E 321) as a food additive. *EFSA Journal*. 2012, 10 (7), 2588–2630.
 90. VALGIMIGLI, L., and D. A. PRATT. Antioxidants in chemistry and biology. In *Encyclopedia of Radicals in Chemistry, Biology and Materials*. Wiley: Chirchester, UK, 2012, 3, 1623–1677. Prieiga per doi: 10.1002/9781119953678.rad055
 91. RICE-EVANS, C., N. MILLER, G. PAGANGA. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*. 1997, 2 (4), 152–159. Prieiga per doi: 10.1016/S1360-1385(97)01018-2
 92. YOGESH, K., D. N. YADAV, T. AHMAD, K. NARSAIAH. Recent Trends in the Use of Natural Antioxidants for Meat and Meat Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2015, 14, 796–812. Prieiga per doi: 10.1111/1541-4337.12156

93. FOTI, M. Antioxidant properties of phenols. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2007, 59, 1673–1685. Prieiga per doi: 10.1211/jpp.59.12.0010
94. FERREIDON, S., and Y. ZHONG. Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*. 2015, 18, 757–781. Prieiga per doi: 10.1016/j.jff.2015.01.047
95. TUREK, C., and F. C. STINTZING. Stability of essential oils: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2013, 12, 40–53. Prieiga per doi: 10.1111/1541-4337.12006
96. LOPEZ-REYES, J. G., D. SPADARO, A. PRELLE, A. GARIBALDI, M. L. GULLINO. Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rots caused by fungi on different stone fruits in vivo. *Journal of Food Protection*. 2013, 76, 631–639. Prieiga per doi: 10.4315/0362-028X.JFP-12-342.
97. CALO, J. R., P. G. CRANDALL, C. A. O'BRYAN, S. C. RICKE. Essential oils as antimicrobials in food systems - A review. *Food Control*. 2015, 54, 111–119. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodcont.2014.12.040
98. MAISANABA, S., et al. New advances in active packaging incorporated with essential oils or their main components for food preservation. *Food Reviews International*. 2017, 33 (5), 447–515. Prieiga per doi: 10.1080/87559129.2016.1175010
99. CAMPO, V. L., D. F. KAWANO, D. B. DA SILVA Jr., I. CARVALHO. Carrageenans: Biological properties, chemical modification and structural analysis – A review. *Carbohydrate Polymers*. 2009, 77 (2), 167–180. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2009.01.020
100. NANAKI, S., E. KARAVAS, L. KALANTZI, D. BIKIARIS. Miscibility study of carrageenan blends and evaluation of their effectiveness as sustained release carriers. *Carbohydrate Polymers*. 2010, 79 (4), 1157–1167. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2009.10.067
101. VAN DE VELDE, F., H. A. PEPPELMAN H, S. ROLLEMA, R. H. TROMP. On the structure of kappa/iota-hybrid carrageenans. *Carbohydrate Research*. 2001, 331 (3), 271–283. Prieiga per doi: 10.1016/S0008-6215(01)00054-4
102. CHEN, L. S. M., J. MCLACHLAN, A. C. NEISH, P. F. SHACKLOCH. The ratio of kapa and lambda carrageenan in nuclear phases of the Rhodophyceae algae, *Chondrus crispus* and *Gigartinastellata*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 1973, 53, 11–16. Prieiga per doi: 10.1017/S0025315400056599
103. HILLIOU, L., et al. Effect of extraction parameters on the chemical structure and gel properties of κ/ι -hybrid carrageenans obtained from *Mastocarpus stellatus*. *Biomolecular Engineering*. 2006, 23 (4), 201–208. Prieiga per doi: 10.1016/j.bioeng.2006.04.003
104. PRAJAPATI, V. D., et al. Carrageenan: A natural seaweed polysaccharide and its application. *Carbohydrate Polymers*. 2014, 105, 97–112. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2014.01.067
105. VAN DER VELDE, F., S. H. KNUSTSEN, A. I. USOV, H. S. ROLLEMA, A. S. CERESO. ¹H and ¹³C high resolution NMR spectroscopy of carrageenans: Application in research and industry. *Trends in Food Science and Technology*. 2002, 13 (3), 73–92. Prieiga per doi: 10.1016/S0924-2244(02)00066-3

106. YUGUCHI, Y., H. URAKAWA, K. KAJIWARA. Structural characteristics of carrageenan gels: Various type of counter ions. *Food Hydrocolloids*. 2003, 17, 481–485.
107. LI, L., R. NI, Y. SHAO, S. MAO. Carrageenan and its application in drug delivery. *Carbohydrate Polymers*. 2014, 103, 1–11. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2013.12.008
108. WIJESEKARA, I., R. PANGESTURI, S. K. KIM. Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. *Carbohydrate Polymers*. 2011, 84 (1), 14–21. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2010.10.062
109. WEINER, M. L. Toxicological properties of carrageenan. *Inflammation research*. 1991, 32, 46–51.
110. BUCHHAMMER, H. M., G. PETZOLD, K. LUNKWITZ. Nanoparticles based on polyelectrolyte complexes: effect of structure and net charge on the sorption capability for solved organic molecules. *Colloid and Polymer Science*. 2000, 278, 841–847. Prieiga per doi: 10.1007/s003960000330
111. DRAGAN, E. S., and S. SCHWARZ. Polyelectrolyte complexes. VI. Polycation structure, polyanion molar mass and polyion concentration effects on complex nanoparticles based on poly(sodium 2-acrylamido-2-methylpropanesulfonate). *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 2004, 42 (10), 2495–2505. Prieiga per doi: 10.1002/pola.20110
112. KABANOV, A. V., and V. A. KABANOV. Supramolecular devices for targeting DNA into cells; fundamentals and properties. *Macromolecular Symposium*. 1995, 98 (1), 601–613. Prieiga per doi: 10.1002/masy.19950980151
113. BUCHHAMMER, H. M., M. MENDE, M. OELMANN. Preparation of monodisperse polyelectrolyte complex nanoparticles in dilute aqueous solution. *Progress in Colloid and Polymer Science*. 2003, 124, 98–102. Prieiga per doi: 10.1007/978-3-540-36474-0_20
114. DRAGAN, S., and M. CRISTEA. Polyelectrolyte complexes. IV. Interpolyelectrolyte complexes between some polycations with N,N-dimethyl-2-hydroxypropylammonium chloride units and poly(sodium styrenesulfonate) in dilute aqueous solution. *Polymer*. 2002, 43, 55–62.
115. DINU, I. A., M. MIHAI, E. S. DRAGAN. Comparative study on the formation and flocculation properties of polyelectrolyte complex dispersions based on synthetic and natural polycations. *Chemical Engineering Journal*. 2010, 160 (1), 115–121. Prieiga per doi: 10.1016/j.cej.2010.03.018
116. LUO, Y., and Q. WANG. Recent development of chitosan-based polyelectrolyte complexes with natural polysaccharides for drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014, 64, 353–367. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.12.017
117. DIMA, C., M. COTÂRLET, P. ALEXE, S. DIMA. Microencapsulation of essential oil of pimento [*Pimenta dioica* (L) Merr.] by chitosan/k-carrageenan complex coacervation method. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2014, 22, 203–211. Prieiga per doi: 10.1016/j.ifset.2013.12.020

118. GRENHA, A., et al. Development of new chitosan/carrageenan nanoparticles for drug delivery applications. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*. 2010, 92 (4), 1265–1272. Prieiga per doi: 10.1002/jbm.a.32466.
119. RODRIGUES S., A. M. COSTA, A. GRENHA. Chitosan/carrageenan nanoparticles: Effect of cross-linking with tripolyphosphate and charge ratios. *Carbohydrate Polymers*. 2012, 89 (1), 282–289. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2012.03.010
120. LI, L., et al. Elucidation of release characteristics of highly soluble drug trimetazidine hydrochloride from chitosan-carrageenan matrix tablets. *Journal of Pharmaceutical Science*. 2013, 102, 2644–2654. Prieiga per doi: 10.1002/jps.23632
121. PINHEIRO, A. C., et al. Interactions between k-carrageenan and chitosan in nanolayered coatings – Structural and transport properties. *Carbohydrate Polymers*. 2012, 87, 1081–1090. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2011.08.040
122. PINHEIRO, A. C., et al. K-carrageenan/chitosan nanolayered coating for controlled release of a model bioactive compound. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2012, 16, 227–232. Prieiga per doi: 10.1016/j.ifset.2012.06.004
123. VARGHESE, J. S., N. CHELLAPPA, N. N. FATHIMA. Gelatin-carrageenan hydrogels: Role of pore size distribution on drug delivery process. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2014, 113, 346–351. Prieiga per doi: 10.1016/j.colsurfb.2013.08.049
124. BONFERONI, M. C., et al. Carrageenan-gelatin mucoadhesive systems for ion-exchange based ophthalmic delivery: In vitro and preliminary in vivo studies. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2004, 57 (3), 465–472. Prieiga per doi: 10.1016/j.ejpb.2003.12.002
125. DUL, M., et al. A Self-assembled carrageenan/protamine polyelectrolyte nanoplex – Investigation of critical parameters governing their formation and characteristics. *Carbohydrate Polymers*. 2015, 123, 339–349. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2015.01.066
126. PAVLI, M., P. BAUMGARTNER, P. KOS, K. KGEJ. Doxazocin-carrageenan interaction: A novel approach for studying drug-polymer interactions and relation to controlled drug release. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011, 421 (1), 110–119. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.09.019
127. LIU, Y., Y. Y. WEI, W. Y. LU. Effect of carrageenan on poloxamer-based in situ gel for vaginal use: Improved in vitro and in vivo sustained-release properties. *European Journal of Pharmaceutical Science*. 2009, 37 (3–4), 306–312. Prieiga per doi: 10.1016/j.ejps.2009.02.022
128. BOATENG, J. S., H. V. PAWAR, J. TETTEH. Polyox and carrageenan based composite film dressing containing antimicrobial and antiinflammatory drug for effective wound healing. *International Journal of Pharmaceutics*. 2013, 441 (1–2), 181–191. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijpharm.2012.11.045
129. GHANAM, D., and P. KLEINEBUDDE. Suitability of kapa-carrageenan pellets for the formulation of multiparticulate tablets with modified release. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011, 409 (1–2), 9–18. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.02.016
130. PAVLI, M., F. VREČER, S. BAUMGARTNER. Matrix tablets based on carrageenans with dual controlled release of doxazosin mesylate. *International*

- Journal of Pharmaceutics*. 2010, 400 (1–2), 15–23. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijpharm.2010.08.021
131. BONFERONI, M. C., S., ROSSI, F. FERRARI, G. P. BETTINETTI, C. CARAMELLA. Characterization of a diltiazem-lambda carrageenan complex. *International Journal of Pharmaceutics*. 2000, 200 (2), 207–216. Prieiga per doi: 10.1016/S0378-5173(00)00389-6
132. BONFERONI, M. C., et al. Polyelectrolyte-drug complexes of lambda carrageenan and basic drugs: relevance of particle size and moisture content on compaction and drug release behavior. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2008, 34 (11), 1188–1195. Prieiga per doi: 10.1080/03639040801974337 .
133. DANIEL-DA-SILVA, A. L., L. FERREIRA, A. M. GIL, T. TRINDADE. Synthesis and swelling behaviour of temperature responsive k-carrageenan nanogels. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2011, 355 (2), 512–517. Prieiga per doi: 10.1016/j.jcis.2010.12.071
134. DAI, W. G., L. C. DONG, Y. Q. SONG. Nanosizing of a drug/carrageenan complex to increase solubility and dissolution rate. *International Journal of Pharmaceutics*. 2007, 201–207. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijpharm.2007.04.032
135. CAKIC, M., G. NIKOLIC, L. ILIC, S. STANKOVIC. Synthesis and FT-IR characterization of some dextran sulfate. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*. 2005, 11 (2), 74–78. Prieiga per doi: 10.2298/CICEQ0502074C
136. KABANOV, V. A., and A. B. ZEZIN. Soluble interpolymers as a new class of synthetic polyelectrolytes. *Pure and Applied Chemistry*. 1984, 56, 343–354. Prieiga per doi: 10.1351/pac198456030343
137. TSUCHIDA, E., and K. ABE. Interactions between macromolecules in solution and intermacromolecular complexes. *Advances in Polymer Science*. 1982, 45, 1–119. ISBN: 978-3-540-39443-3 (Online)
138. DELAIR, T. Colloidal polyelectrolyte complexes of chitosan and dextran sulfate towards versatile noncarriers of bioactive molecules. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2011, 78, 10–18. Prieiga per doi: 10.1016/j.ejpb.2010.12.001
139. ANITHA, A., et al. Preparation, characterization, *in vitro* drug release and biological studies of curcumin loaded dextran sulphate-chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*. 2011, 84 (3), 1158–1164. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2011.01.005
140. SABOKTAKIN, M. R., R. M. TABATABAIE, A. MAHARRAMOV, M. RAMAZANOV. Synthesis and characterization of pH- dependent chitosan and dextran sulfate nanoparticles for effective brain cancer treatment. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2011, 49 (4), 747–751. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijbiomac.2011.07.006
141. SARMENTO, B., et al. Development and comparison of different nanoparticulate polyelectrolyte complexes as insulin carriers. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*. 2006, 12 (2), 131–138. Prieiga per doi: 10.1007/s10989-005-9010-3
142. TIYABOONVHAI, W., I. RODLEANG, A. OUNAROON. Mucoadhesive polyethylenimine-dextran sulfate nanoparticles containing Punica granatum peel

- extract as a novel sustained-release antimicrobial. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2015, 20, 426–432. Prieiga per doi: 10.3109/10837450.2013.879884
143. NIMESH, S., R. KUMAR, R. CHANDRA. Novel polyallamine-dextran sulfate-DNA nanoplexes: Highly efficient non-viral vector for gene delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006, 320 (1–2), 143–149. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijpharm.2006.03.050
 144. JUTSCHER, M., et al. Influence of salt type and ionic strength on self-assembly of dextran sulfate-ciprofloxacin nanoplexes. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015, 486 (1–2), 21–29. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijpharm.2015.03.022.
 145. CHEOW, W. S., T. Y. KIEW, K. HADINOTO. Amorphous nanodrugs prepared by complexation with polysaccharides: carrageenan versus dextran sulfate. *Carbohydrate Polymers*. 2015, 117, 549–558. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2014.10.015
 146. REALINI, C. E., and B. MARCOS. Active and intelligent packaging systems for a modern society. *Meat Science*. 2014, 98 (3), 404–419. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.031>
 147. BASTARRACHEA, L. J., D. E. WONG, M. J. ROMAN, Z. LIN, J. M. GODDARD. Active Packaging Coatings. *Coatings*. 2015, 5 (4), 771–791. Prieiga per doi: 10.3390/coatings504077
 148. BASTARRACHEA, L., S. DHAWAN, S. S. SABLANI. Engineering properties of polymeric-based antimicrobial films for food packaging. *Food Engineering Reviews*. 2011, 3, 79–93.
 149. HAN, J. H., and J. D. FLOROS. Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *Journal of Plastic Film & Sheeting*. 1997, 13 (4), 287–298.
 150. VASILE, C. General survey of the properties of polyolefins. In *Handbook of Polyolefins*, 2nd ed. New York, NY, USA, 2000, 401–416. Prieiga per doi: 10.1201/9780203908716.ch16
 151. ROBERTSON, G. L. *Food Packaging: Principles and Practice*, 2nd ed.; Taylor & Francis/CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2006, p. 550.
 152. YAM, K., P. TAKHISTOV, J. MILTZ. Intelligent packaging: Concepts and applications. *Journal of Food Science*. 2005, 70 (1), 1–10.
 153. HAN, J. H. Antimicrobial food packaging. In *Novel Food Packaging Techniques*. CRC Press: Boca Raton, FL, USA; Woodhead Pub. Ltd.: Cambridge, UK, 2003, 50–65.
 154. BARISH, J. A., and J. M. GODDARD. Topographical and chemical characterization of polymer surfaces modified by physical and chemical processes. *Journal of Applied Polymer Science*. 2011, 120 (5), 2863–2871. Prieiga per doi: 10.1002/app.33310
 155. GODDARD, J. M., and J. H. HOTCHKISS. Polymer surface modification for the attachment of bioactive compounds. *Progress in Polymer Science*. 2007, 32 (7), 698–725. Prieiga per doi: 10.1016/j.progpolymsci.2007.04.002
 156. WAGNER, J. R. *Multilayer Flexible Packaging Technology and Applications for the Food, Personal Care and Over-the-Counter Pharmaceutical Industries*, 1st ed., Elsevier Science, Oxford, NY, USA, 2010, p. 258
 157. BASTARRACHEA, L. J., A. DENIS-ROHR, J. M. GODDARD. Antimicrobial food equipment coatings: Applications and challenges. *Annual Review of Food Science*

- and Technology*. 2015, 6, 97–118. Prieiga per doi: 10.1146/annurev-food-022814-015453
158. ODIAN, G. G. *Principles of Polymerization*. Wiley InterScience: Hoboken, NJ, USA, 2004, p. 812.
 159. LEE, D. S. Antioxidative packaging system. In *Innovation in Food Packaging*, 2nd edition. Elsevier Ltd. 2014, 111–131
 160. SILVA-WEISS, A., et al. Natural Additives in Bioactive Edible Films and Coatings: Functionality and Applications in Foods. *Food Engineering Reviews*. 2013, 5, 200–216. Prieiga per doi: 10.1007/s12393-013-9072-5
 161. GARCES, L. O., and C. N. PUERTA. Antimicrobial packaging based on the use of natural extracts and the process to obtain this packaging. European Patent EP1657181-B1, 2010.
 162. MANSO, S., R. BECERRIL, C. NERIN, R. GOMEZ-LUS. Influence of pH and temperature variations on vapor phase action of an antifungal food packaging against five mold strains. *Food Control*. 2015, 47, 20–26. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodcont.2014.06.014
 163. VALDERRAMA SOLANO, A. C., and C. ROJAS DE GANTE. Two different processes to obtain antimicrobial packaging containing natural oils. *Food and Bioprocess Technology*. 2012, 5, 2522–2528. Prieiga per doi: 10.1007/s11947-011-0626-3.
 164. CONTINI, C., et al. Storage stability of an antioxidant active packaging coated with citrus extract following a plasma jet pretreatment. *Food and Bioprocess Technology*. 2014, 7, 2228–2240. Prieiga per DOI: 10.1007/s11947-013-1210-9.
 165. CONTINI, C., et al. Effect of an active packaging with citrus extract on lipid oxidation and sensory quality of cooked turkey meat. *Meat Science*. 2014, 96, 1171–1176. Prieiga per doi: 10.1016/j.meatsci.2013.11.007
 166. BOLUMAR, T., M. L. ANDERSEN, V. ORLIEN. Antioxidant active packaging for chicken meat processed by high pressure treatment. *Food Chemistry*. 2011, 129 (4), 1406–1412. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2011.05.082
 167. GARCES, O., C. NERIN, J. BELTRAN, P. RONCALES. Antioxidant active varnish. European Patent EP1477159-A1, 2003.
 168. NERIN, C., L. TOVAR, J. SALAFRANCA. Behaviour of a new antioxidant active film versus oxidizable model compounds. *Journal of Food Engineering*. 2008, 84 (2), 313–320. Prieiga per doi: 10.1016/j.jfoodeng.2007.05.027
 169. PEZO, D., J. SALAFRANCA, C. NERÍN. Design of a method for generation of gas-phase hydroxyl radicals, and use of HPLC with fluorescence detection to assess the antioxidant capacity of natural essential oils. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2006, 385, 1241–1246. Prieiga per doi: 10.1007/s00216-006-0395-4
 170. PEZO, D., J. SALAFRANCA, C. NERÍN. Determination of the antioxidant capacity of active food packagings by in situ gas-phase hydroxyl radical generation and high-performance liquid chromatography-fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*. 2008, 1178, 126–133. Prieiga per doi: 10.1016/j.chroma.2007.11.062
 171. CAMO, J., J. ANTONIO BELTRÁN, P. RONCALÉS. Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging. *Meat Science*. 2008, 80 (4), 1086–1091. Prieiga per doi: 10.1016/j.meatsci.2008.04.031

172. CAMO, J., A. LORÉS, D. DJENANE, J. A. BELTRÁN, P. Roncalés. Display life of beef packaged with an antioxidant active film as a function of the concentration of oregano extract. *Meat Science*. 2011, 88 (1), 174–178. Prieiga per doi: 10.1016/j.meatsci.2010.12.019
173. NERIN, C., et al. Stabilization of beef meat by new active packaging containing natural antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, 54 (20), 7840–7846. Prieiga per doi: 10.1021/jf060775c
174. LORENZO, J. M., R. BATLLE, M. GÓMEZ. Extension of the shelf-life of foal meat with two antioxidant active packaging systems. *Food Science and Technology*. 2014, 59, 81–188. Prieiga per doi: 10.1016/j.lwt.2014.04.061
175. CIRILLO, G., U. GIANFRANCO SPIZZIRRI, F. IEMMA. Functional Polymers in Food Science. In *Polymers and Food Packaging: A Short Overview*, 2015, 1–8.
176. YUAN, G., X. CHEN, D. LI. Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems. *Food Research International*. 2016, 89, 117–128. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodres.2016.10.004
177. SHOJAEI-ALIABADI, S., et al. Characterization of κ -carrageenan films incorporated plant essential oils with improved antimicrobial activity. *Carbohydrate Polymers*. 2014, 101, 582–591. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2013.09.070.
178. ALIABADI, S. S., et al. Characterization of antioxidant-antimicrobial κ -carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2013, 52, 116–124. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijbiomac.2012.08.026
179. DANNENBERG, G. S, et al. Essential oil from pink pepper as an antimicrobial component in cellulose acetate film: Potential for application as active packaging for sliced cheese. *LWT - Food Science and Technology*. 2017, 81, 314–318. Prieiga per doi: 10.1016/j.lwt.2017.04.002
180. WORANUCH, S., R. YOKSAN. Eugenol-loaded chitosan nanoparticles: II. Application in bio-based plastics for active packaging. *Carbohydrate Polymers*. 2013, 96, 586–592. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2012.09.099
181. PHOOPURITHAM, P., M. THONGNGAM, R. YOKSAN, P. SUPPAKUL. Antioxidant Properties of Selected Plant Extracts and Application in Packaging as Antioxidant Cellulose-Based Films for Vegetable Oil. *Packaging Technology Science*. 2012, 25, 125–136. Prieiga per doi: 10.1002/pts.963
182. TEIXEIRA, B., et al. Characterization of fish protein films incorporated with essential oils of clove, garlic and origanum: Physical, antioxidant and antibacterial properties. *LWT - Food Science and Technology*. 2014, 59, 533–539.
183. TEIXEIRA, B., et al. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops & Products*. 2013, 43, 587–595. Prieiga per doi: 10.1016/j.indcrop.2012.07.069
184. FULEKI, T., and F. J. FRANCIS. Quantitative methods for anthocyanins. Determination of total anthocyanins and degradation index for cranberries juice. *Journal of Food Science*. 1968, 33, 78–83. Prieiga per doi: 10.1111/j.1365-2621.1968.tb00888.x

185. SINGLETON, V. L., R. ORTHOFER, R. M. LAMUELA-RAVENTOS. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 1999, 299, 152–178.
186. LANGMUIR, I. Adsorption of gases on plane surfaces of glass: mica and platinum. *Journal of the American Chemical Society*. 1918, 40, 212–223. Prieiga per doi: doi:10.1021/ja02242a004
187. FREUNDLICH, H. M. F. Über die adsorption in Lösungen. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*. 1906, 57, 385–470.
188. DUBININ, M. M. Modern theory of voluminal filling of micropores of carbonadsorbent. *Izvestija Akademii Nauk SSSR. Chimija*. 1991, 1, 9–30, in Russian.
189. TEMKIN, M. I. Adsorption equilibrium and the kinetics of processes on non-homogeneous surfaces and in the interaction between adsorbed molecules. *Zhurnal Fizicheskoi Khimii*. 1941, 15, 296–332.
190. KHAN, A. A., and R. P. SINGH. Adsorption thermodynamic of carbofuran on Sn(IV) arsenosilicate in H⁺, Na⁺ and Cd⁺ forms. *Colloids and Surfaces*. 1987, 24, 33–42.
191. MILLER, N. J. et al. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinic Science*. 1993, 84, 407–412.
192. BRAND-WILLIAMS, W., M. CUVELIER, C. BARSET. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*. 1995, 28, 25–30. Prieiga per doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5
193. EUROPEAN PHARMACOPEIA. Fresh bilberry fruit dry extract, refined and standardized. Strasbourg: Council of Europe, European Pharmacopeia Commission, & European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare. Supplement 8 6. Monograph number 02394, 2014.
194. NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. In Twelfth International Supplement, M100-S12. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002, Wayne, Pennsylvania, USA.
195. ANDREA, P. Entwicklung und Etablierung von Methoden zum Testen der Wirksamkeit antimikrobieller Verpackungen. In (Bachelorarbeit), 2014, unveröffentlicht.
196. FOOD TBARS ASSAY KIT (protocol). Oxford Biomedical Research, Inc. Prieiga per internetą: <http://www.funakoshi.co.jp/data/datasheet/OBR/FS50.pdf>
197. BURDULIS, D., L. IVANAUSKAS, V. JAKSTAS, V. JANULIS. Mėlynės (*Vaccinium myrtillus* L.) vaisių vaistinės augalinės žaliavos antocianų tyrimas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu. *Medicina*. 2007, 43 (7), 568–573
198. GOMEZ-ALONSO, S., D. BLANCO-VEGA, M. V. GOMEZ, I. HERMOSIN-GUTIERREZ. Synthesis, isolation, structure elucidation, and color properties of 10-acetyl-pyranoanthocyanins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2012, 60 (49), 12210–12223. Prieiga per doi: 10.1021/jf303854u.
199. WU, H., et al. Determination of anthocyanins and total polyphenols and variety of elderberry juices by UPLC-MS/MS and other methods. *ISHS Acta Horticulturae*. 2015, 1061 (1), 43–51. Prieiga per doi: 10.17660/ActaHortic.2015.1061.3

200. PINA, F. Chemical applications of anthocyanins and related compounds. A source of bioinspiration. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2014, 62 (29), 6885–6897. Prieiga per doi: 10.1021/jf404869m
201. ROSCA, C., O. NOVAC, G. LISA, M. I. POPA. Polyelectrolyte complexes of chitosan with dextran sulphate. Synthesis and characterization. *Cellulose Chemical Technology*. 2011, 45 (3–4), 185–189.
202. DAVID, I., et al. Study of anthocyanins from *Vaccinium Myrtillus* L. frozen fruits. *Journal of Agroal-imentary Processes and Technologies*. 2009, 15 (3), 348–352.
203. ZHANG, J., X. ZHOU, D. WANG, X. ZHOU, S. TAN. Methylation formation to improve red radish anthocyanins solubility in cold water. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 2013, 4 (4), 221–223. Prieiga per doi: 10.7763/IJCEA.2013.V4.299
204. BUCHWEITZ, M., G. GUDI, R. CARLE, D. KAMMERER, H. SCHULZ. Systematic investigations of anthocyanin-metal interactions by Raman spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*. 2012, 43, 2001–2007. Prieiga per doi: 10.1002/jrs.4123
205. WANG, C. H., M. J. CHEN, C. Y. TSENG, K. M. WEI, W. CHEN. Structural characterization of functional composition isolated from *Dioscorea Purpurea* (Cultivator of Ming-Chen) by Raman spectroscopy. *Natural Products Chemistry and Research*. 2013, 1 (3), 1–8. Prieiga per doi: 10.4172/2329-6836.1000110
206. GRIS, E. F., E. A. FERREIRA, L. D. FALCAO, M. T. BORDIGNON-LUIZ. Caffeic acid copigmentation of anthocyanins from Cabernet Sauvignon grape extracts in model systems. *Food Chemistry*. 2007, 100 (3), 1289–1296. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2005.10.014
207. GAUCHE, C., E. SILVA-MALAGOLI, M. T. BORDIGNON-LUIZ. Effect of pH on the copigmentation of anthocyanins from Cabernet Sauvignon grape extracts with organic acids. *Scientia Agricola (Piracocaba, Braz.)*. 2010, 67 (1), 41–46. Prieiga per doi: 10.1590/S0103-90162010000100006
208. ZHANG, C., Y. MA, X. ZHAO, J. MU. Influence of copigmentation on stability of anthocyanins from purple potato peel in both liquid and solid state. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2009, 57, 9503–9508. Prieiga per doi: 10.1021/jf901550u
209. DRAGER, G., A. KRAUSE, L. MOLLER, S. DUMITRIU. Carbohydrates. In *Handbook of Biodegradable Polymers. Synthesis, Characterization and applications*. 2011, 160–162.
210. SHI, X., E. SONG, C. ZHANG. Application of enzymes from Marine microorganisms. In *Marine Biomaterials. Characterization, Isolated and Application*, 2013, 789–790.
211. KEPPELER, S., A. ELLIS, J. C. JACQUIER. Cross-linked carrageenan beads for controlled release delivery systems. *Carbohydrate Polymers*. 2009, 78 (4), 973–977. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2009.07.029
212. DISTANTINA, S., R. ROCHMADI, M. FAHRURROZI, W. WIRATNI. Preparation and characterization of glutaraldehyde-crosslinked kappa carrageenan hydrogel. *Engineering Journal*. 2013, 17 (3), 57–66. Prieiga per doi: 10.4186/ej.2013.17.3.57

213. RASOOL, N., T. YASIN, Y. Y. HENG, A. Akhter. Synthesis and characterization of novel pH-, ionic strength and temperature- sensitive hydrogel for insulin delivery. *Polymer*. 2010, 51 (8), 1687–1693. Prieiga per doi: 10.1016/j.polymer.2010.02.013
214. MEENA, R., K. PRASAD, A. K. SIDDHANTA. Effect of genipin, a natural occurring crosslinker on the properties of kappa-carrageenan. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2007, 41 (1), 94–101. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijbiomac.2007.01.008
215. LIU, H., H. CORKE, L. RAMSDEN. Functional properties and enzymatic digestibility of cationic and cross-linked cations ae, wx and normal maize starch. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 1999, 47, 2523–2528.
216. JYOTHI, A. N., S. N. MOORTHY, K. N. RAJASEKHAREN. Effect of cross-linking with epichlorohydrin on the properties of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starch. *Starch/Stärke*. 2006, 58 (6), 292–299. Prieiga per doi: 10.1002/star.200500468
217. BUCHHAMMER, H. M., G. PETZOLD, K. LUNKWIT. Salt effect on formation and properties of interpolyelectrolyte complexes and their interactions with silica particles. *Langmuir*. 1999, 15, 4306–4310. Prieiga per doi: 10.1021/la980992a
218. HAMDAR, O., and E. NAFFRECHOUX. Modelling of adsorption isotherms of phenol and chlorophenols onto granular activated carbon: Part I. Two-parameter models and equations allowing determination of thermodynamic parameters. *Journal of Hazardous Materials*. 2007, 147, 381–394. Prieiga per doi: 10.1016/j.jhazmat.2007.01.021
219. FREILE-PELEGRIN, Y., D. ROBLEDO, J. A. AZMAR. Carrageenan of euclidean isiforme (Solieriaceae, rhodophyta) from Yucatan: Mexico. I. Effect of extraction condition. *Botanic Marina*. 2006, 49, 65–71. Prieiga per doi: 10.1515/BOT.2006.008
220. LIANG, W., X. MAO, X. PENG, S. TANG. Effects of sulfate group in red seaweed polysaccharides on anticoagulant activity and cytotoxicity. *Carbohydrate Polymers*. 2014, 101, 776–785. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2013.10.010
221. PRADO-FERNANDEZ, J., J. A. RODRIGUEZ-VAZQUEZ, E. TOJO, J. M. ANDRADE. Quantitation of ι -, κ - and λ -carrageenans by mid-infrared spectroscopy and PLS regression. *Analytica Chimica Acta*. 2003, 480 (1), 23–47. Prieiga per doi: 10.1016/S0003-2670(02)01592-1
222. DELVAL, F., et al. Characterization of crosslinked starch materials with spectroscopic techniques. *Journal of Applied Polymer Science*. 2004, 93(6), 2650–2663. Prieiga per doi: 10.1002/app.20851
223. DELVAL, F., et al. The sorption of several types of dye on crosslinked polysaccharides derivatives. *Dyes and Pigments*. 2002, 53 (1), 79–92. Prieiga per doi: 10.1016/S0143-7208(02)00004-9
224. UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. Powdered bilberry extract United States pharmacopeia and the national formulary (USP 32–NF 27). Rockville (MD): The United States Pharmacopeial Convention, 2009.
225. EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Assessment report on *Vaccinium myrtillus* L., fructus (EMA/HMPC/555161/2013). Prieiga per internetą: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_HMPC_assessmentreport/2015/02/WC500181930.pdf

226. EUROPEAN SCIENTIFIC COOPERATIVE ON PHYTOTHERAPY. Bilberry Fruit – ESCOP Herbal Monograph 2014. Prieiga per internetą: <http://escop.com/bilberry-fruit-2014/>
227. BARNES, J., L. A. ANDERSON, J. D. PHILLIPSON. Bilberry. In *Herbal Medicines*. 2007, 79–83.
228. FERNÁNDEZ-ROMERO, J. A., et al. Zinc acetate/carrageenan gels exhibit potent activity *in vivo* against high-dose herpes simplex virus 2 vaginal and rectal challenge. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 2012, 56, 358–68. Prieiga per doi: 10.1128/AAC.05461-11.
229. RODRÍGUEZ, A., et al. *In vitro* and *in vivo* evaluation of two carrageenan-based formulations to prevent HPV acquisition. *Antiviral Research*. 2014, 108, 88–93. Prieiga per doi: 10.1016/j.antiviral.2014.05.018
230. AKHTAR, M. J., et al. Antioxidant capacity and light-aging study of HPMC films functionalized with natural plant extract. *Carbohydrate Polymers*. 2012, 89 (4), 1150–1158. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2012.03.088
231. ATARES, L., and A. CHIRALT. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in Food Science & Technology*. 2016, 48, 51–62. Prieiga per internetą: <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.001>
232. JIROVETZ, L., et al. Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*. 2006, 54, 6303–6307. Prieiga per doi: 10.1021/jf060608c
233. WEI, A., and T. SHIBAMOTO. Antioxidant/lipoxygenase inhibitory activities and chemical compositions of selected essential oils. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*. 2010, 58, 7218–7225. Prieiga per doi: 10.1021/jf101077s
234. CORRALES, M., A. FERNANDEZ, J. H. HAN. Antimicrobial Packaging Systems. In *Innovation in Food Packaging*, 2nd edition. Elsevier Ltd, 2014, pp.133–169.
235. HAN, J. H. Antimicrobial Packaging Systems. In *Plastic films and food packaging*. Elsevier Ltd, 2012, pp. 151–180.
236. COOKSEY, K. Modified Atmosphere Packaging of Meat, Poultry and Fish. In *Innovation in Food Packaging*. Elsevier Ltd., 2014, pp. 475–493.
237. CIE 15 TECHNICAL REPORT. Colorimetry. 3rd Edition, International Commission on Illumination. 2004, p. 82.
238. HAMMOND, E. G., and P. J. WHITE. A Brief History of Lipid Oxidation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2011, 88, 891–897. Prieiga per doi: 10.1007/s11746-011-1761-8
239. MARTÍNEZ, L., D. DJENANE, I. CILLA, J. A. BELTRÁN, P. RONCALÉS. Antioxidant effect of rosemary, borage, green tea, puerh tea and ascorbic acid on fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. Influence of the presence of sodium chloride. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2006, 86 (9), 1298–1307. Prieiga per doi: 10.1002/jsfa.2492
240. BELCHER, J. N. Industrial packaging developments for the global meat market. *Meat Science*. 2006, 74 (1), 143–148. Prieiga per doi: 10.1016/j.meatsci.2006.04.031

MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ DISERTACIJOS TEMA SĄRAŠAS

Straipsniai, susiję su disertacijos tema, paskelbti *Clarivate Analytics Web of Science* duomenų bazės žurnaluose, turinčiuose citavimo indeksą

1. Klimavičiūtė, Rima; **Navikaitė, Vesta**; Jakštas, Valdas; Ivanauskas, Liudas. Complexes of dextran sulfate and anthocyanins from *Vaccinium myrtillus*: formation and stability // Carbohydrate polymers. Oxford: Elsevier. ISSN 0144-8617. 2015, vol. 129, p. 70–78.
2. **Navikaitė, Vesta**; Simanavičiūtė, Deimantė; Klimavičiūtė, Rima; Jakštas, Valdas; Ivanauskas, Liudas. Interaction between κ - and ι -carrageenan and anthocyanins from *Vaccinium myrtillus* // Carbohydrate polymers. Oxford: Elsevier. ISSN 0144-8617. 2016, vol. 148, p. 36–44.

Kituose recenzuojamuose mokslo leidiniuose paskelbti straipsniai

1. **Navikaitė, Vesta**; Klimavičiūtė, Rima. Nanocomplexes of dextran sulfate and anthocyanins from *Vaccinium myrtillus* // Chemistry and chemical technology : proceedings of the international conference, 25 April, 2014 / Kaunas University of Technology. Kaunas: Technologija, 2014. ISSN 2351-5643. 2014, p. 257–259.

Konferencijų pranešimų medžiagoje paskelbtos tezės

1. **Navikaitė, Vesta**; Klimavičiūtė, Rima. Nanocomplexes of anionic polymers and anthocyanins from *Vaccinium myrtillus* // Baltic polymer symposium 2014 : Laulasmaa, Estonia, September 24–26, 2014 : program and abstracts / Tallinn University of Technology. Tallinn: Tallinn University of Technology, 2014. p. 103.
2. **Navikaitė, Vesta**; Yildirim, Selçuk; Wolfram-Schilling, Evelyn; Rüegg, Nadine; Rutkaitė, Ramunė. Development antioxidant coatings using essential oils for food packaging applications // MATBIM 2015 [elektroninis išteklius] : 3rd international meeting on material/bioproduct interaction, 17–19, June, Zaragoza, Spain : book of abstracts. [S.l.] : [s.n.]. 2015. p. 1–2.
3. Klimavičiūtė, Rima; **Navikaitė, Vesta**; Jakštas, Valdas; Ivanauskas, Liudas. Formation and properties of carrageenan-anthocyanins complexes // Polysaccharides and polysaccharide-based advanced materials: from science to industry : 4th EPNOE international polysaccharide conference, 19–22 October, 2015, Warsaw, Poland : book of abstracts Lodz: Institute of Biopolymers and Chemical Fibres, 2015. p. 231.
4. **Navikaitė, Vesta**; Rutkaitė, Ramunė; Yildirim, Selçuk; Rüegg, Nadine; Wolfram, Evelyn. Biopolymers as carriers of eugenol for antioxidant food packaging // BiPoCo 2016 : 3rd international conference “Bio-based polymers and composites”, August 28 – September 1, 2016, Szeged, Hungary : abstract book. [Budapest: BiPoCo, 2016]. p. 393–394.
5. **Navikaitė, Vesta**; Klimavičiūtė, Rima; Jakštas, Valdas; Ivanauskas, Liudas. Immobilization of anthocyanins on cross-linked carrageenan // BiPoCo 2016 : 3rd international conference “Bio-based polymers and composites”, August 28 –

- September 1, 2016, Szeged, Hungary : abstract book. [Budapest: BiPoCo, 2016]. p. 234–235.
6. Jakštas, Valdas; Klimavičiūtė, Rima; **Navikaitė, Vesta**; Ivanauskas, Liudas; Bernatoniėnė, Jurga. Pharmaceutical improvement of pharmaceutical characteristics of anthocyanins using the incorporation into the Iota or Kappa carrageenans // Vital nature sign [elektroninis išteklis] : 10th international scientific conference, May 19–20, 2016, Vilnius, Lithuania : abstract book / editors: Nicola Tiso, Vilma Kaškonienė. [S.l.] : [s.n.]. ISSN 2335-8653. 2016, p. 106.
 7. **Navikaitė, Vesta**; Rutkaitė, Ramunė; Yildirim, Selçuk; Wolfram, Evelyn; Rüegg, Nadine. Polysaccharide and essential oils coatings for active food packaging materials // Baltic polymer symposium 2016 : Klaipėda, September 21–24, 2016 : programme and abstracts / Kaunas University of Technology, Vilnius University, Klaipėda University. Kaunas: Kaunas University of Technology, 2016, ISBN 9786090212356. p. 88.
 8. **Navikaitė-Šnipaitienė, Vesta**; Rutkaitė, Ramunė; Yildirim, Selçuk; Wolfram, Evelyn; Rüegg, Nadine. Antioxidant and antimicrobial food packaging coatings // Chemistry and chemical technology 2017 : proceedings of the international conference, April 28th, 2017, Kaunas. Kaunas: Kauno technologijos universitetas. ISSN 2538-7359. 2017, p. 53.
 9. Rutkaitė, Ramunė; Ivanauskas, Liudas; Jakštas, Valdas; Klimavičiūtė, Rima; **Navikaitė-Šnipaitienė, Vesta**; Simanavičiūtė, Deimantė. Modified polysaccharide derivatives for immobilization of bioactive phenolic compounds // 25th Polychar 2017 World Forum on Advanced Materials, Kuala Lumpur, Malaysia, October 9–13, 2017 [elektroninis išteklis]. [S.l.] : [s.n.]. 2017, p. 1.

KITOS PUBLIKACIJOS

1. Danilovas, Paulius Pavelas; **Navikaitė, Vesta**; Rutkaitė, Ramunė. Preparation and characterization of potentially antimicrobial polymer films containing starch nano- and microparticles // Materials science = Medžiagotyra / Kaunas University of Technology, Academy of Sciences of Lithuania. Kaunas: KTU. ISSN 1392-1320. 2014, vol. 20, no. 3, p. 283–288.
2. Danilovas, Paulius Pavelas; **Navikaitė, Vesta**; Rutkaitė, Ramunė. Gamtinio ir modifikuoto krakmolo jodoforai // Medžiagų inžinerija 2013 : respublikinė konferencija : konferencijos pranešimų santrauka, 2013 m. lapkričio 15 d., Kaunas / Kauno technologijos universitetas, Lietuvos medžiagų tyrinėtojų asociacija. Kaunas: Technologija. ISSN 2345-0886. 2013, p. 52–53.
3. Rutkaitė, Ramunė; Babelytė, Miglė; Danilovas, Paulius Pavelas; **Navikaitė, Vesta**. Diphilic properties of propylene oxide and octenyl succinic anhydride modified starches and their coatings // Chemistry and Chemical Technology 2015 : programme and proceedings of the international conference, Vilnius, Lithuania, January 23, 2015 / Vilnius University, Lithuanian Academy of Sciences, Kaunas University of Technology, Center for Physical Sciences and Technology. [S.l.]: [s.n.]. ISBN 9786094594618. 2015, p. 317–320.

4. **Navikaitė, Vesta**; Jonuškienė, Ilona; Rukuižienė, Žaneta; Rutkaitė, Ramunė. Electrospun cellulose acetate fibers containing essential oils for active food packaging // Chemistry and chemical technology : international conference of Lithuanian Society of Chemistry : Lithuanian Academy of Science, Vilnius, Lithuania, April 28–29, 2016 : book of abstracts / Fizinių ir technologijos mokslų centras, Vilniaus universitetas, Lietuvos mokslų akademija, Kauno technologijos universitetas. [S.l.] : [s.n]. ISBN 9786099551135. 2016, p. 230.
5. Danilovas, Paulius Pavelas; Jonuškienė, Ilona; **Navikaitė, Vesta**; Rukuižienė, Žaneta; Rutkaitė, Ramunė. Antioxidant and antimicrobial electrospun cellulose acetate fibers for active food packaging // MATBIM 2017 [elektroninis išteklius]: 4th international meeting on Material/Bioprodut Interaction, 26th–28th April 2017, Porto, Portugal : book of abstracts. Porto [S.l.] : [s.n.]. 2017, p. 141–143.
6. Danilovas, Paulius Pavelas; Budnikas, Tomas; **Navikaitė, Vesta**; Rutkaitė, Ramunė; Jonuškienė, Ilona. Plasticized cellulose acetate films for active food packaging applications // MATBIM 2017 [elektroninis išteklius]: 4th international meeting on material/bioprodut interaction, 26th-28th April, 2017, Porto, Portugal : book of abstracts. [S.l.] : [s.n.]. 2017, p. 200–202.

PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju mokslinio darbo vadovei doc. dr. Rimai Klimavičiūtei už disertacijos temos idėją ir vertingas mokslines konsultacijas, už pagalbą rengiant disertaciją bei publikacijas ir rūpestį doktorantūros studijų metu. Dėkoju doc. dr. Ramunei Rutkaitei už mokslines konsultacijas, skatinimą tobulėti ir galimybę išvykti į mokslinę stažuotę. Taip pat norėčiau padėkoti doc. dr. Joanai Bendoraitienei, dr. Pauliui P. Danilovui ir kitiems Biopolimerų tyrimų mokslo laboratorijos kolegoms už bendradarbiavimą, pagalbą ir geranoriškumą. Dėkoju Polimerų chemijos ir technologijos katedros kolektyvui už palaikymą, gerą nuotaiką ir konsultacijas.

Dėkoju Lietuvos mokslo tarybai, KTU Doktorantūros fondui ir Šveicarijos stipendijų fondui už finansinę paramą.

Šilčiausius padėkos žodžius skiriu savo artimiesiems bei draugams už supratingumą, nuolatinį palaikymą, kantrybę ir meilę.

Vesta
2017, Kaunas