

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

DEIMANTĖ SIMANAVIČIŪTĖ

FENOLINIŲ RŪGŠČIŲ IR AUGALINIŲ  
EKSTRAKTŲ IMOBILIZAVIMAS  
KATIJONINIUOSE POLISACHARIDUOSE

Daktaro disertacija  
Technologijos mokslai, chemijos inžinerija (05T)

2018, Kaunas

Disertacija rengta 2014-2018 metais Kauno technologijos universiteto Cheminės technologijos fakultete Polimerų chemijos ir technologijos katedroje. Mokslinius tyrimus rėmė Lietuvos mokslo taryba.

**Mokslinis vadovas:**

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

**Mokslinis konsultantas:**

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

Interneto svetainės, kurioje skelbiama disertacija, adresas:

<http://ktu.edu>

Redagavo:

Virginija Stankevičienė (Užsienio kalbų centras, Kauno technologijos universitetas).

© D. Simanavičiūtė 2018

ISBN 978-609-02-1530-2

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

## TURINYS

ĮVADAS .....	7
1. LITERATŪROS APŽVALGA .....	10
1.1. Polifenoliai ir jų savybės .....	10
1.2. Krakmolo cheminis modifikavimas .....	14
1.3. Fenolinių junginių imobilizavimas .....	18
1.3.1. Fizikiniai fenolinių junginių imobilizavimo metodai .....	18
1.3.2. Cheminiai fenolinių junginių imobilizavimo metodai .....	26
1.4. Literatūros apžvalgos apibendrinimas ir darbo tikslo pagrindimas .....	28
2. NAUDOTOS MEDŽIAGOS IR EKSPERIMENTŲ METODIKOS .....	29
2.1. Naudotos medžiagos .....	29
2.2. Eksperimentų metodikos .....	30
2.2.1. Katijoninių krakmolo darinių sintezė .....	30
2.2.2. Katijoninių grupių kiekio nustatymas .....	31
2.2.3. Drėgmės kiekio nustatymas .....	31
2.2.4. Fenolinių rūgščių ar augalinių ekstraktų koncentracijos bandiniuose nustatymas .....	32
2.2.5. Fenolinių rūgščių ar augalinių ekstraktų pusiausvyrosios adsorbcijos katijoniniais polisacharidais tyrimas .....	32
2.2.5.1. Taikyti matematiniai adsorbcijos modeliai ir termodinaminių rodiklių apskaičiavimas .....	32
2.2.6. Fenolinių rūgščių ar augalinių ekstraktų ir katijoninių polisacharidų kompleksų gavimas .....	34
2.2.7. Fenolinių rūgščių ir katijoninių krakmolo darinių kompleksų tyrimas Furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopija .....	34
2.2.8. Termogravimetrinė analizė .....	34
2.2.9. Skenuojamosios elektroninės mikroskopijos (SEM) tyrimas .....	34
2.2.10. Branduolių magnetinio rezonanso (BMR) tyrimas .....	34
2.2.11. Augalinių ekstraktų tyrimas efektyviaja skysčių chromatografija .....	35
2.2.12. Fenolinių rūgščių ar augalinių ekstraktų atpalaidavimo iš sudarytų kompleksų tyrimas .....	35
2.2.13. Fenolinių rūgščių atpalaidavimo iš fenolinių rūgščių ir katijoninių polisacharidų kompleksų kinetiniai tyrimai .....	36
2.2.14. Antioksidacinio efektyvumo įvertinimas .....	36
2.2.15. Aktyvios vaistažolių talpyklos su biologiškai aktyvių junginių turinčia danga prototipo paruošimas ir savybių įvertinimas .....	37
2.4. Rezultatų tikslumo ir patikimumo įvertinimas .....	38
3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS .....	40
3.1. Ketvirtinių amonio grupių ir tretinių amino grupių turinčių tinklinio katijoninio krakmolo darinių sintezė .....	40
3.2. Chlorogeno rūgšties imobilizavimo tretinių amino grupių ir ketvirtinių amonio grupių turinčiais tinklinio katijoninio krakmolo dariniais tyrimais .....	42

3.2.1. Chlorogeno rūgšties pusiausvyrosios adsorbcijos tretinių amino grupių ir ketvirtinių amonio grupių turinčiais tinklinio katijoninio krakmolo dariniams tyrimai.....	43
3.2.2. Chlorogeno rūgšties ir tinklinio katijoninio krakmolo darinių kompleksų FT-IR spektroskopijos tyrimai.....	46
3.2.3. Chlorogeno rūgšties atpalaidavimo iš chlorogeno rūgšties ir tinklinio katijoninio krakmolo darinių kompleksų mikrogranulių tyrimai .....	47
3.2.4. Chlorogeno rūgšties ir tinklinio katijoninio krakmolo darinių kompleksų antioksidacinių savybių įvertinimas .....	50
3.3. Tinklinio katijoninio krakmolo ir hidroksibenzenkarboksirūgšties kompleksų tyrimai.....	51
3.3.1 Vanilino rūgšties pusiausvyrosios adsorbcijos ketvirtinių amonio grupių turinčio tinklinio katijoninio krakmolo mikrogranulėmis tyrimai .....	51
3.3.2. Vanilino rūgšties atpalaidavimo iš tinklinio katijoninio krakmolo ir vanilino rūgšties komplekso mikrogranulių tyrimai .....	54
3.3.2.1 Buferiniuose tirpaluose esančių druskų įtaka vanilino rūgšties atpalaidavimui iš tinklinio katijoninio krakmolo ir vanilino rūgšties komplekso mikrogranulių.....	57
3.3.3. Tinklinio katijoninio krakmolo ir vanilino rūgšties komplekso antioksidacinių savybių įvertinimas .....	59
3.4. Tinklinio katijoninio krakmolo ir hidroksicinamono rūgščių kompleksų tyrimai.....	60
3.4.1. Hidroksicinamono rūgščių pusiausvyrosios adsorbcijos ketvirtinių amonio grupių turinčio tinklinio katijoninio krakmolo mikrogranulėmis tyrimai .....	60
3.4.1.1. Hidroksicinamono rūgščių pusiausvyroji adsorbcija tinklinio katijoninio krakmolo mikrogranulėmis iš tirpalų, turinčių ekvimolinį NaOH kiekį .....	63
3.4.2. Tinklinio katijoninio krakmolo ir hidroksicinamono rūgščių kompleksų FT-IR spektroskopijos tyrimai.....	66
3.4.3. Hidroksicinamono rūgščių atpalaidavimo iš tinklinio katijoninio krakmolo ir hidroksicinamono rūgščių kompleksų mikrogranulių tyrimai .....	66
3.4.4. Tinklinio katijoninio krakmolo ir hidroksicinamono rūgščių kompleksų antioksidacinių savybių įvertinimas .....	69
3.5. Tinklinio katijoninio krakmolo ir augalinių ekstraktų kompleksų tyrimai ....	71
3.5.1. Augalinių ekstraktų sudėties tyrimai efektyviosios skysčių chromatografijos metodu.....	71
3.5.2. Augalinių ekstraktų pusiausvyrosios adsorbcijos tinklinio katijoninio krakmolo mikrogranulėmis tyrimai .....	73
3.5.3. Augalinių ekstraktų atpalaidavimo iš augalinių ekstraktų ir tinklinio katijoninio krakmolo kompleksų mikrogranulių tyrimai.....	77
3.5.4. Augalinių ekstraktų ir tinklinio katijoninio krakmolo kompleksų antioksidacinių savybių įvertinimas .....	78

3.6. Tinklinio katijoninio krakmolo ir fenolinių rūgščių kompleksų bei augalinių ekstraktų kompleksų termogravimetrinė analizė .....	79
3.7. Chitozano ir chlorogeno rūgšties bei augalinių ekstraktų kompleksų tyrimai	82
3.7.1. Chlorogeno rūgšties ir augalinių ekstraktų pusiausvyrosios adsorbcijos chitozano milteliais tyrimai .....	83
3.7.2. Chlorogeno rūgšties ir augalinių ekstraktų atpalaidavimo iš chitozano ir chlorogeno bei augalinių ekstraktų kompleksų tyrimai.....	88
3.7.3. Chitozano ir chlorogeno rūgšties bei augalinių ekstraktų kompleksų antioksidacinių savybių įvertinimas .....	89
3.7.4. Chitozano ir chlorogeno rūgšties bei augalinių ekstraktų kompleksų termogravimetrinė analizė .....	90
3.7.5. Biologiškai aktyvių junginių turinčių dangų vaistažolių talpyklai sukūrimas ir tyrimai.....	91
3.7.5.1. Chitozano ir žaliųjų kavos pupelių ekstrakto komplekso dangų sukūrimas ir tyrimai.....	91
3.7.5.2. Chitozano ir žaliųjų kavos pupelių ekstrakto komplekso bei mėlynių uogų ekstrakto dangų sukūrimas ir tyrimai .....	95
3.7.5.3 Chitozano ir žaliųjų kavos pupelių ekstrakto komplekso miltelių ir filtro popieriaus su biologiškai aktyvių junginių danga gamybos technologinis aprašymas.....	100
IŠVADOS.....	102
LITERATŪRA.....	104
MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ DISERTACIJOS TEMA SĄRAŠAS .....	120
KITOS PUBLIKACIJOS .....	121
PRIEDAI .....	123

## SANTRUMPOS

ABTS <sup>+</sup>	2,2-azino-bis-3-etilbenziazolin-6-sulfono rūgštis
AD	aktyvi danga
AE	artišokų ekstraktas
AGL	$\alpha$ -D-anhidroglukopiranozės likutis
AOEF	antioksidacinis efektyvumas
BMR	branduolių magnetinis rezonansas
ChZ	chitozanas
CLR	chlorogeno rūgštis
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas
EF	katijoninių grupių efektyvumas
EPCH	epichlorhidrinas
EPTMAC	2,3-epoksipropiltrimetilamonio chloridas
ESC	efektyvioji skysčių chromatografija
KVR	kavos rūgštis
PL	pakeitimo laipsnis
RZR	rozmarino rūgštis
SEM	skenuojamoji elektroninė mikroskopija
TKK	ketvirtinių amonio grupių turintis tinklinis katijoninis krakmolą
TTAK	trečiųjų amino grupių turintis tinklinis katijoninis krakmolą
VR	vanilino rūgštis
ŽKPE	žaliųjų kavos pupelių ekstraktas

## ĮVADAS

### Temos aktualumas

Fenolinės hidroksibenzenkarboksirūgštys ir hidroksicinamono rūgštys pasižymi geromis antimikrobinėmis ir antioksidacinėmis savybėmis, antivėžiniu ir uždegimą slopinančiu poveikiu bei teigiamai veikia širdies ir kraujagyslių sistemą. Tačiau šie junginiai yra nestabilūs, jautrūs karščiui, šarmams, oksidacijai ir šviesai, todėl greitai praranda naudingąsias savybes. Biologiškai aktyvioms savybėms išsaugoti fenolinės rūgštys galėtų būti imobilizuotos katijoninių grupių turinčiuose polimeriniuose nešikliuose, pavyzdžiui, tinklinio katijoninio krakmolo darinių mikrogranulėse ar chitozanos milteliuose. Tiek katijoninio krakmolo dariniai, tiek chitozanas tirpale turi teigiamą krūvį ir gali sudaryti joninius kompleksus su mažamolekuliais, neigiamą krūvį turinčiais junginiais.

Fenolinių rūgščių imobilizavimui galima naudoti ne tik grynąsias rūgštis, bet ir augalinius ekstraktus, nes juose gausu įvairių fenolinių junginių. Grybų ekstraktai, kaip fenolinių junginių šaltiniai, pasižymi antimikrobinėmis, antioksidacinėmis ir priešuždegiminėmis savybėmis ir gali būti naudojami kaip kosmetikos priedai [1]. Vyšnių ir juodųjų serbentų lapų ekstraktai naudojami kaip natūralūs antimikrobiniai priedai mėsos produktuose [2]. Murta vaisiaus (lot. *Ugni molinae Turcz*) ekstraktas, įkapsuliuotas tinklintoje metilceliuliozėje, naudojamas aktyvioms maisto pakuotėms gaminti [3].

Šiuo metu didelis dėmesys skiriamas natūraliems maisto priedams ir papildams, kurie pasižymi antioksidacinėmis savybėmis. Augaliniuose ekstraktuose esančios bioaktyviosios medžiagos galėtų būti panaudojamos valgomų plėvelių ir veikliųjų pakuočių gamyboje. Tokios pakuotės veiktų atpalaiduodamos bioaktyviuosius junginius į įvairias terpes, taip jas praturtindamos antioksidacinėmis savybėmis, pasižyminčiomis gamtinėmis medžiagomis.

### Darbo tikslas

Šio darbo tikslas – išsaugoti fenolinių rūgščių ir augalinių ekstraktų komponentų antioksidacinę veiklą adsorbavus juos katijoniniais polisacharidais.

Darbo tikslui pasiekti suformuluoti šie **uždaviniai**:

1. parinkti tinkamus katijoninius polisacharidus fenolinių rūgščių imobilizavimui;
2. ištirti sąveiką tarp katijoninių polisacharidų ir fenolinių rūgščių bei augalinių ekstraktų pusiausvyrosios adsorbcijos sąlygomis, jai aprašyti taikyti adsorbcijos modelius;
3. įvertinti katijoninių polisacharidų ir fenolinių rūgščių bei augalinių ekstraktų kompleksų antioksidacinę savybę ir atpalaidavimą įvairiose terpėse;
4. įvertinti katijoninių polisacharidų ir fenolinių rūgščių bei augalinių ekstraktų kompleksų terminį stabilumą;
5. sukurti veikliosios vaistažolių talpyklos prototipą;

6. pasiūlyti vaistažolių pakavimo medžiagos su bioaktyviąja danga gamybos technologinę schemą.

### **Mokslinis darbo naujumas**

Pirmą kartą nustatyta, kad vanilino, kavos, chlorogeno ir rozmarino rūgštys bei vandeniniuose artišokų ir žaliųjų kavos pupelių ekstraktuose esantys chlorogeno rūgšties izomerai gali sudaryti joninius kompleksus su tinkliniu katijoniniu krakmolu ar chitozanu. Kompleksai susidaro dėl elektrostatinės sąveikos tarp fenolinių rūgščių karboksigrupių ir polisacharidų katijoninių grupių.

Vanilino, kavos, chlorogeno ir rozmarino rūgščių bei augaliniuose ekstraktuose esančių chlorogeno rūgšties izomerų kompleksai su tinkliniu katijoniniu krakmolu ar chitozanu pasižymi pailginto veikimo antioksidaciniu poveikiu, kuris siejamas su fenolinių rūgščių laipsnišku atpalaidavimu iš sudarytų kompleksų mikrogranulių ir dalelių.

Vaistažolių talpykla su chitozano ir žaliųjų kavos pupelių ekstrakto komplekso danga pasižymi antioksidaciniu poveikiu ir praturtina vaistažolių vandeninę ištrauką fenoliniais junginiais, taip pat chlorogeno rūgšties izomerais.

### **Praktinė darbo vertė**

Pagaminti chitozano ir žaliųjų kavos pupelių ekstrakto komplekso milteliai panaudoti antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčios vaistažolių talpyklos prototipui sukurti. Sukurtos vaistažolių talpyklos su bioaktyviąja chitozano ir žaliųjų kavos pupelių ekstrakto danga buvo panaudotos margainių vaisiams bei „Detoxoset“ ir sukatžolės vaistažolėms supakuoti. Vaistažolių, įdėtų į talpyklas su bioaktyviąja danga, vandeninės ištraukos buvo praturtintos antioksidaciniu poveikiu pasižyminčiais chlorogeno rūgšties izomerais, lyginant su vandeninėmis ištraukomis, gautomis vaistažolės įdėjus į įprastas talpyklas. Pasiūlyta vaistažolių pakavimo medžiagos su bioaktyviąja danga gamybos technologinė schema.

### **Ginamasis disertacijos teiginys**

Fenolines rūgštis ir augalinių ekstraktų komponentus adsorbuojant iš vandeninių tirpalų katijoniniais polisacharidais yra padidinamas fenolinių rūgščių ir augalinių ekstraktų terminis stabilumas ir išsaugomas antioksidacinis veiklumas.

### **Darbo rezultatų aprobavimas**

Doktorantūros studijų metu 2 publikacijos disertacijos tema paskelbtos *Clarivate Analytics Web of Science* duomenų bazės žurnaluose, turinčiuose citavimo indeksą, 1 publikacija kitų tarptautinių duomenų bazių leidiniuose, 1 publikacija paskelbta kituose recenzuojamuose leidiniuose ir 8 straipsniai tarptautinių konferencijų pranešimų medžiagoje. Atlikti du gamybiniai bandymai įmonėje UAB „Švenčionių vaistažolės“.

### **Darbo apimtis**

Daktaro disertaciją sudaro įvadas, 3 skyriai, išvados, literatūros sąrašas, publikacijų disertacijos tema sąrašas, padėka ir priedai. Bendra apimtis – 138



puslapiai. Darbe pateikti 48 paveikslai, 26 lentelės, 22 matematinės išraiškos. Literatūros sąrašą sudaro 215 šaltinių.

### **Autorės indėlis**

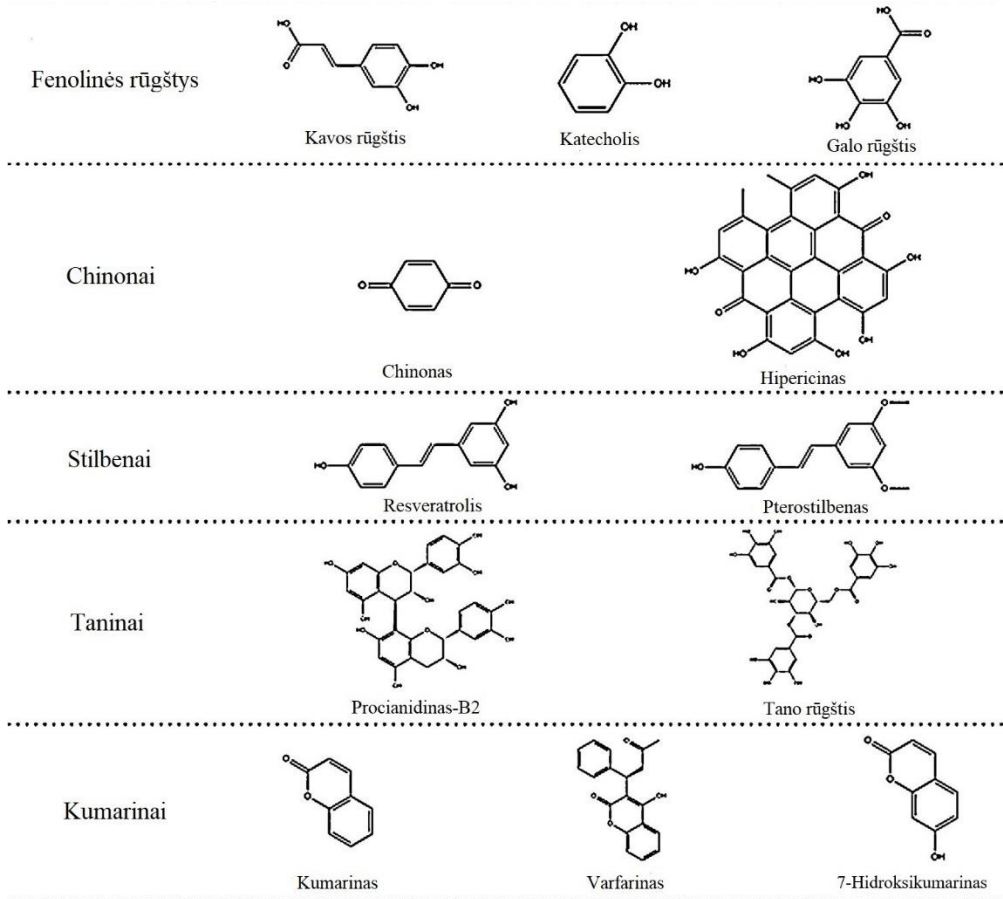
Autorė modifikavo gamtinį krakmolą, vykdė bioaktyviųjų medžiagų adsorbcijos biopolimerais tyrimus ir juos analizavo, ištyrė gautų kompleksų antioksidacines ir termines savybes. Augalinių ekstraktų chromatografiniai tyrimai atlikti Lietuvos sveikatos mokslų universitete vykdant bendrą LMT mokslininkų grupių projektą Nr. MIP-055/2015. Skenuojamosios elektroninės mikroskopijos tyrimai atlikti Kauno technologijos universiteto Medžiagų mokslo institute. Branduolių magnetinio rezonanso tyrimai atlikti Vilniaus universiteto APC „Spectroversum“.

# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. Polifenoliai ir jų savybės

Polifenoliai – svarbi augaluose randamų, biologiškai veiklių junginių grupė. Šie junginiai augaluose yra sintetinami kaip antriniai metabolitai. Gamtoje jie dažniausiai randami sujungti su sacharozė ir organinėmis rūgštimis [4]. Polifenoliai skirstomi į dvi dideles grupes: flavonoidus ir ne flavonoidus.

Neflavonoidai. Ši grupė apima polifenolius, tokius kaip nesudėtingos struktūros fenolinės rūgštys, chinonai, stilbenai, taninai ir kumarinai (žr. 1.1 pav.) [5].

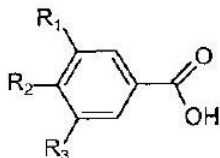


1.1 pav. Dažniausiai pasitaikančių neflavonoidinių junginių struktūrinės formulės [2]

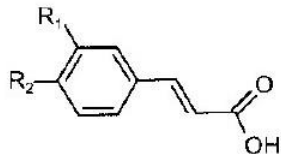
Fenolinės rūgštys skirstomos į hidroksibenzenkarboksirūgštis ir hidroksicinamono rūgštis (žr. 1.2 pav.) [6, 7]. Šie junginiai randami visuose augaluose ir sudaro trečdalį visų fenolinių junginių. Dažniausiai pasitaikančios hidroksibenzenkarboksirūgštys yra 4-hidroksibenzoinė, galo ir elago rūgštys, kurios randamos glikozidų pavidalu. Šie junginiai yra tirpūs vandenyje, jautrūs temperatūrai, šarminėi terpei, oksidacijai ir šviesai [7–9]. Kavos, galo, ferulo, *p*-kumaro rūgštys

priklauso hidroksicinamono rūgščių grupei. Šios rūgštys taip pat retai randamos laisvos formos, gamtoje yra glikozidų pavidalo arba kaip hidroksikarboksirūgščių esteriai. Hidroksicinamono rūgštys taip pat jautrios oksidacijai ir šarminiai terpei bei blogai tirpsta vandenyje [8–11].

Hidroksibenzenkarboksirūgštis



Hidroksicinamono rūgštis



**1.2 pav.** Hidroksibenzenkarboksi- ir hidroksicinamono rūgščių struktūrinės formulės.  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  yra atitinkamai rūgščiai būdingi pakaitai [12]

Mokslinėje literatūroje fenolinės rūgštys apibūdinamos kaip molekulės, pasižyminčios geromis antimikrobinėmis savybėmis. Jų antimikrobinis efektyvumas priklauso nuo cheminės struktūros, t. y. nuo pakaitų skaičiaus ir jų padėties benzeno žiede bei nuo alkilo grandinės ilgio. Nustatyta, kad mikrobicidinis pajėgumas didėja, ilgėjant alkilo grandinei [7, 13, 14].

Fenolinės rūgštys taip pat pasižymi antioksidacinėmis bei laisvuosius radikalus surišančiomis savybėmis. Jų antioksidacinis aktyvumas priklauso nuo hidroksigrupių skaičiaus bei padėties molekulėje. Didėjant hidroksigrupių skaičiui molekulėse, didėja jų antioksidacinis efektyvumas [15]. Monofenolių antioksidacinis efektyvumas padidėja prijungus antrą hidroksigrupę į *orto*- arba *para*- padėtis arba vieną ar du vandenilio atomus benzeno žiede pakeitus metoksipakaitais *orto*- padėtyje hidroksigrupės atžvilgiu [16, 17]. Cinamono rūgšties dariniuose esanti  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$  grupė užtikrina didesnę antioksidacinę poveikį nei benzenkarboksirūgšties dariniuose esanti karboksigrupė. Kavos, sinapo, ferulo ir *p*-kumaro rūgštys yra veiklesnės nei atitinkamos protokatecho, siringo, vanilo ir 4-hidroksibenzoinės rūgštys. To priežastimi gali būti dvigubasis ryšys cinamono rūgšties dariniuose, dalyvaujantis stabilizuojant radikalus [18].

Chinonai – veikieji oksiduoti fenoliniai junginiai, kurių molekulėse yra dvi karbonilgrupės. Jie suteikia rudą spalvą, atsirandančią pažeidus vaisių, o žmogaus organizme veikia kaip tarpininkai melanino sintezėje [5].

Stilbenai – tai antriniai metabolitai, kurie susidaro formuojantis medžio šerdžiai ir gali veikti kaip fitoaleksinai (augalų gaminami antibiotikai). Stilbenai sudaryti iš dviejų benzeno žiedo fragmentų, sujungtų etileniniu tilteliu. Jie augalų yra sintetinami kaip atsakas į pažeidimą ar infekciją [9, 10, 19]. Stilbenai, ypač resveratrolis, yra žinomi kaip antioksidantai ir senėjimą slopinantys junginiai [20].

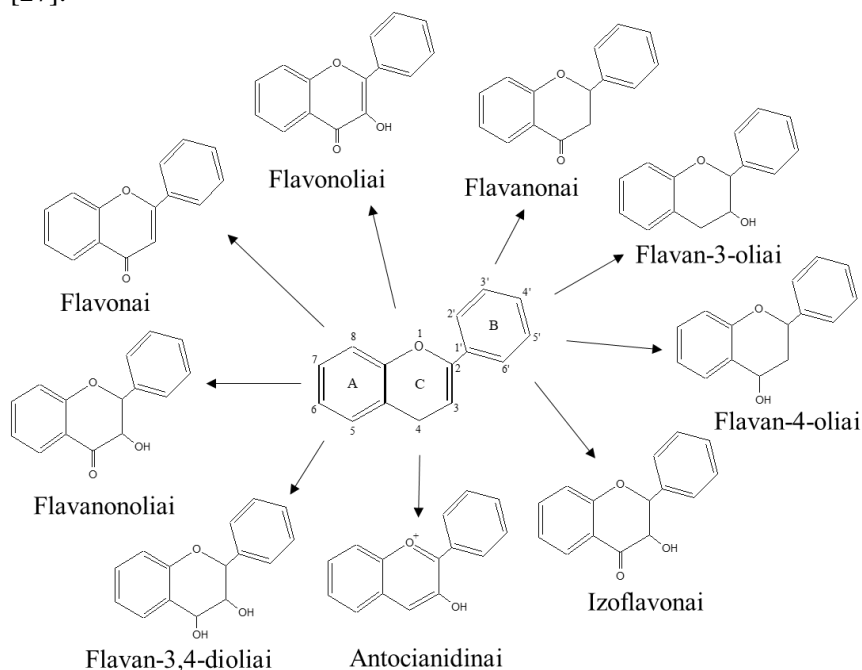
Taninai yra palyginti didelės molekulinės masės biomolekulių grupė, naudojami išdirbti odai ar nusodinti želatiną iš tirpalo. Taninų pagrindą sudaro galo rūgštis, kuri gali būti hidrolizuota D-gliukoze kaip daugybinis esteris arba kondensuoti flavonoidų monomerų dariniai, žinomi kaip proantocianidinai [5]. Taninai geba aktyvinti fagocitus, kurie slopina navikinių darinių susidarymą arba veikia kaip mikrobicidai.

Pastarąsias savybes nulemia šių junginių gebėjimas vandenilniais ryšiais ir / ar hidrofobine sąveika arba kovalentiniais ryšiais prisijungti prie baltymų, kurie inaktyvuoja mikrobu ląstelių sienelėse esančius fermentus ir rišiklius [9, 21].

Kumarinai – polifenoliai, sudaryti iš benzeno arba  $\alpha$ -piridino žiedų. Juose gali būti įvairių pakaitų, nuo kurių priklauso šių junginių biologinis aktyvumas, pvz. antitrombozinis, priešuždegiminis, antialerginis, antivirusinis ar antikancerogeninis poveikis [22, 23]. Varfarinas (4-hidroksi-3-(3-okso-1-fenilbutil)-2H-chromen-2-onas) yra kumarino pagrindu pagaminto vaisto pavyzdys, turintis geras antikoagulianto ir antivirusines savybes [21].

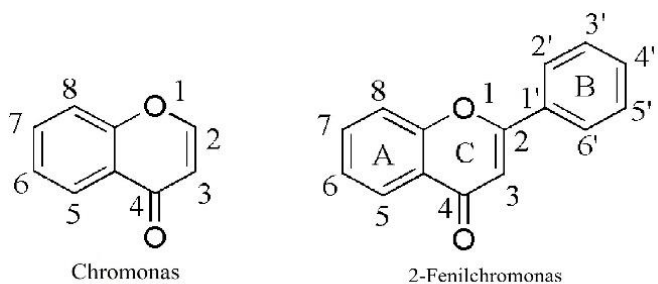
*Flavonoidai* – aromatiniai antriniai metabolitai, iš aromatinių aminorūgščių L-fenilalanino ir L-tirozino natūraliai sintetinami augaluose ir grybuose [24]. Šie junginiai gamtoje randami glikozidų pavidalu. Iki šiol atrasta daugiau nei 9000 skirtingų flavonoidų [25], kurių paros dozė žmogui svyruoja nuo 20 mg iki 500 mg. Biologinis flavonoidų aktyvumas priklauso nuo struktūrinių skirtumų bei prijungto gliukozido [26].

Cheminę flavonoidų struktūrą sudaro 15 anglies atomų skeletas, susidedantis iš dviejų fenilo žiedų (A ir B), sujungtų per heterociklinį 4H-pirano žiedą (C) (žr. 1.3 pav.) [27].



**1.3 pav.** Flavonoidų struktūrinės formulės ir klasifikavimas [27]

Priklausomai nuo žiedo C oksidacijos laipsnio ir žiedo B padėties, flavonoidai klasifikuojami į flavonolius, flavanonus, flavan-3-olius, flavan-4-olius, izoflavonus, antocianidinus, flavan-3,4-diolius, flavanonolius ir flavonus [27, 28] (žr. 1.3 pav.). Šiuose junginiuose vyrauja flavono (2-fenilchromono) struktūra (žr.1.4 pav.) [28].



**1.4 pav.** Chromono ir 2-fenilchromono struktūrinės formulės [28]

Flavonoliai ir flavonai yra labiausiai maisto produktuose paplitę flavonoidai. Pagrindiniai flavonoliai – kvercetas ir kaempferolis, o flavonai dažniausiai randami liuteolino ir apigenino glikozidų pavidalu [12, 28]. Flavanonai ir flavanonoliai turi sočiusius C2-C3 ryšius ir dažnai augaluose egzistuoja kartu su atitinkamais flavonais ir flavonoliais [28]. Izoflavonoidai yra 3-fenilchromono junginiai, turintys hidroksigrupes 7 ir 4 padėtyje, kurios lemia jų struktūros panašumą į estrogeno struktūrą [12]. Antocianidinai yra vandenyje tirpūs augalų ląstelių pigmentai, kurių spalva priklauso nuo terpės pH vertės. Pagrindinis šios klasės junginių trūkumas yra mažas stabilumas. Flavanoliai egzistuoja monomero (katechinai) ir polimero formos (proantocianidinai). Katechinai ir epikatechinai dažniausiai randami vaisiuose, o galokatechinai, epigalokatechinai ir epigalokatechingalatai randami tam tikruose ankštiniuose augaluose, vynuogėse. Proantocianidinai yra katechinų, sujungtų ryšiais tarp C4 ir C8 (arba C6) atomų dimeriai, oligomerai ir polimerai [12].

Kai kurie autoriai išskiria ekstrahuojamus ir neekstrahuojamus polifenolius [29]. Ekstrahuojami polifenoliai yra mažos ar vidutinės molekulinės masės ir gali būti ekstrahuoti naudojant skirtingus tirpiklius, pvz., vandenį, metanolį, vandens-acetono mišinį ir pan. bei apima keletą hidrolizuojamų taninų ir proantocianidinų. Neekstrahuojami polifenoliai, sujungti su ląsteliene ar baltymais yra didelės molekulinės masės ir netirpūs įprastuose tirpikliuose.

Polifenolių veiksmingumas priklauso nuo jų stabilumo, bioaktyvumo ir biologinio prieinamumo [30]. Šias savybes lemia jų cheminė struktūra, t. y. glikozidavimo, acetilavimo laipsnis, konjugacija su kitais fenoliniais junginiais, molekulinis dydis, polimerizacijos laipsnis ir tirpumas [31].

Pastaruju metu polifenoliai kelia didelį susidomėjimą dėl jų antioksidacinio ir antimikrobinio efektyvumo, antivėžinio ir uždegimą slopinančio poveikio bei poveikio širdies ir kraujagyslių sistemai. Antioksidacinis polifenolių efektyvumas pasireiškia keliais skirtingais būdais.

1. *Laisvųjų radikalų sujungimu.* Viena svarbiausių polifenolių savybių yra gebėjimas sujungti ir inaktyvuoti laisvuosius radikalus. Laisvieji radikalai sujungiami polifenoliams atiduodant hidroksigrupės vandenilio atomą, susidarant mažiau aktyviems ir stabilesniems fenoksidikalams. Polifenoliai gali sujungti daugelį žmogaus organizme susidarantių radikalinių (pvz., peroksi- (ROO•), superoksido (•O<sub>2</sub>), hidroksi- (HO•), alkoksi- (RO•) ir azoto oksido (NO•) laisvieji radikalai) ir neradikalinių (pvz., vandenilio peroksido (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), singletinio deguonies (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>),

peroksinitrilo (NOO<sup>-</sup>) bei hipochlorito rūgšties (HOCl) oksidantų, apsaugodami organizmo makromolekules nuo pažeidimų.

2. *Procesų, kurių metu susidaro aktyviojo deguonies ir azoto junginiai, slopinimu.* Polifenoliai geba sujungti metalų jonus. Pereinamųjų metalų, ypač Fe<sup>2+</sup> ir Cu<sup>+</sup>, jonai atlieka svarbų vaidmenį Fentono ir Haber-Veiso reakcijų metu formuojantis ypač aktyviems hidroksiradikalams [32]. Polifenoliai sujungia pereinamųjų metalų jonus ir taip apsaugo ląsteles nuo laisvųjų radikalų sukkelto oksidacinio streso.

3. *Kitų antioksidantų apsaugojimu nuo oksidacinio poveikio ir suardymo* [33]. Nustatyta, kad kai kurie flavonoidai, ypač kvercetas, rutinas, apsaugo askorbo rūgštį nuo oksidacijos [34].

Antimikrobinis polifenolių efektyvumas pasireiškia mikroorganizmų metabolizmo ir nukleorūgščių sintezės slopinimu. Antimikrobinėmis savybėmis pasižymi augalinės kilmės polifenoliai, pvz., arbatžolėse esantys polifenoliai neleidžia augti *Bacteroides spp.*, *Clostridium spp.*, *Escherichia coli* ir *Salmonella typhimurium* bakterijoms [35]. Antimikrobinis efektyvumas priklauso nuo fenolinio junginio cheminės struktūros ir bakterijų rūšies, pvz., kavos rūgštis pasižymi didesniu antimikrobinium efektyvumu nei epikatechinas, katechinas, 3-O-metilgalo rūgštis ar galo rūgštis [4].

Polifenoliai slopina uždegimą, mažindami jį sukeliančių fermentų (ciklooksigenazės ir lipoksigenazės) bei mediatorių (leukotrienų ir prostaglandinų) aktyvumą [34]. Be to, įrodyta, kad polifenoliai apsaugo širdies ir kraujagyslių sistemą nuo išemijos ir oksidacinio streso [35]. Jie taip pat apsaugo kraujagyslių endotelio ląsteles, slopina trombocitų agregaciją bei atpalaiduoja kraujagysles. Poveikis širdies ir kraujagyslių sistemai yra glaudžiai susijęs su šių junginių antioksidaciniu ir uždegimą slopinančiu veiklumu. Taip pat polifenoliai slopina vėžinių ląstelių augimą bei jų transformacijas, navikų augimą, vėžinių ląstelių proliferaciją, angiogenezę, skatina vėžinių ląstelių apoptozę [36].

## 1.2. Krakmolo cheminis modifikavimas

Norint išplėsti krakmolo panaudojimo galimybes ir pagerinti savybes, atliekamas cheminis ir fizikinis modifikavimas. Be to, gali būti vienu metu taikomi keli skirtingi cheminiai metodai arba jie gali būti sujungti su fizikiniais, pvz., cheminis modifikavimas veikiant mechaniškai, radiacija ar mikrobangomis.

Modifikuojant krakmolą pakeičiamos jo technologinės savybės. Modifikuotą krakmolą yra leidžiama naudoti kaip stabilizuojantį, tirštinantį maistą ir išlaikantį tam tikrą jo konsistenciją, maisto priedą. Be to, krakmolas naudojamas tekstilėje, farmacijoje, klijų, bioskaidžių pakavimo ir termoplastinių medžiagų, pasižyminčių pagerintomis mechaninėmis savybėmis, gamyboje.

Chemškai krakmolas yra modifikuojamas naudojant reagentus, galinčius reaguoti su amilopektino ir amilozės hidroksigrupėmis [37]. Cheminio modifikavimo mastą apibūdina pakeitimo laipsnis (PL), parodantis pakeistų hidroksigrupių skaičių viename anhidroglukopiranozės likutyje (AGL). AGL turi tris hidroksigrupes, todėl PL gali kisti nuo 0 iki 3 [38]. Teorinėje literatūroje teigiama [39], kad krakmolo ir

celiuliozės hidroksigrupių aktyvumas yra skirtingas, o pakaitų pasiskirstymas AGL priklauso nuo modifikavimo sąlygų ir pakaito prigimties.

Per pastaruosius kelis dešimtmečius krakmolos buvo modifikuojamas įvairiausiai metodais gaunant norimas funkcines savybes ir pritaikomas daugelyje pramonės sričių.

Krakmolo cheminis modifikavimas atliekamas vykdant reakcijas:

- 1) su sausomis arba pusiau sausomis krakmolo granulėmis;
- 2) krakmolo grūdelių suspensijoje;
- 3) skystoje dispersinėje sistemoje arba tirpale.

Cheminis modifikavimas dažniausiai atliekamas vykdant rūgštinės hidrolizės, oksidacijos, tinklinimo, eterinimo ir esterinimo reakcijas. Be to, per pastaruosius metus atrasta naujų krakmolo cheminio modifikavimo būdų, pavyzdžiui, krakmolo esterinimas hidroksicinamono rūgštimi [40], krakmolo ir alkenilketeno dimero hidrofobinė sąveika [41], krakmolo oksidacija ozonu [42, 43] ir t. t.

Rūgštinė hidrolizė sumažina krakmolo molekulinę masę ir polimerizacijos laipsnį. Paveikus bulvių krakmolą 0,2 M HCl 45 °C temperatūroje, jo polimerizacijos laipsnis sumažėja nuo 1630 iki 990 [45].

Rūgštimi modifikuotas krakmolos ruošiamas 36–40 % krakmolo suspensiją veikiant druskos rūgštimi ir šildant 40–60 °C temperatūroje kelias valandas [45]. Kai pasiekiamas norimas hidrolizės laipsnis, rūgštis neutralizuojama ir modifikuoto krakmolo granulės filtruojamos, plaunamos, džiovinamos. Kartais naudojamos kitos rūgštys, pavyzdžiui, sieros rūgštis, taikant skirtingas reakcijos vykdymo sąlygas.

Vandenyje disperguoto krakmolo  $\alpha$ -1,4-gliukozidiniai ryšiai yra jautresni rūgšties poveikiui nei  $\alpha$ -1,6-gliukozidiniai ryšiai. Tačiau krakmolo granulėje  $\alpha$ -1,4-gliukozidiniai ryšiai daugiausia vyrauja kristalinėse srityse, todėl šiuo atveju  $\alpha$ -1,6-gliukozidiniai ryšiai tampa labiau prieinami rūgštimis. Šie faktai leidžia manyti, kad rūgštinė hidrolizė vyksta dviem etapais [45]:

- hidrolizuojamos amorfinės sritys, kuriose daugiausia vyrauja amilopektino  $\alpha$ -1,6-gliukozidiniai ryšiai;
- lėtai ardomi amilozės ir amilopektino  $\alpha$ -1,4-gliukozidiniai ryšiai.

Ištyrus rūgštimi modifikuoto ryžių krakmolo fizikomechanines savybes [46] nustatyta, kad didesnę įtaką PL ir klampai turi rūgšties koncentracija nei hidrolizės trukmė. Be to, ilgėjant hidrolizės trukmei, didėja kleisterizacijos temperatūra bei mažėja kleisterizacijos proceso entalpija.

Oksidacija. Krakmolo modifikacijos metu naudojami tokie cheminiai reagentai kaip natrio hipochloritas, natrio perjodatas, vandenilio peroksidas, kalio dichromatas, kalio permanganatas, natrio persulfatas ir natrio chloritas. Vykstant reakcijai mažėja krakmolo molekulių molekulinė masė. Polimerinių grandžių skilimas gali vykti oksiduojant hidroksimetilgrupes iki karboksigrupių ir vykstant tolimesnei krakmolo molekulių destrukcijai [45].

Oksidacijos metu padidėjus karbonil- ir karboksigrupių kiekiui krakmolo molekulėje, pasikeičia jo fizikinės ir cheminės savybės. Oksiduotas krakmolas turi apie 1,1 % karboksigrupių, kurios lemia jo panaudojimą įvairiose srityse. Apie 80–85 % oksiduoto krakmolo sunaudojama popieriaus ir tekstilės pramonėje. Be to, jo panaudojimas maisto pramonėje vis labiau didėja dėl mažos tirpalų klampos, didelio stabilumo, grynumo ir rišiklio savybių.

Esterinimas. Krakmolo esteriai gali būti gaunami krakmolui reaguojant su rūgščių anhidridais (acto rūgšties anhidridu) [47–51], chloridais [52, 53], aukštesniaisiais anhidridais [50], gintaro rūgšties anhidridu [50, 54–57] arba peresterinimo reakcijų metu, kurios katalizuojamos rūgščių arba bazių.

Hidrofobinių savybių turintis krakmolo esteris susidaro peresterinimo reakcijos metu krakmolui reaguojant su karboksirūgščių esterių mišiniu, esant baziniam katalizatoriui ( $K_2CO_3$ ) [58]. Be to, jis gali būti gautas fermentais katalizuojamoje reakcijoje su alkenilketeno dimeru [41]. Toks modifikuotas krakmolas naudojamas kaip emulsiklis kosmetikoje, tirštiklis tekstilėje, statybinių medžiagų pramonėje.

Straipsniuose [59–61] aptariama krakmolo acilinimo reakcija vinilesteriu vandeninėje terpėje, esant baziniam katalizatoriui. Reakcijos metu vyksta acetaldehido susidarymas ir nepageidaujama vinilesterio ir susidariusio krakmolo esterio hidrolizė.

S. Chakraborty' s su bendraautoriais [62] atliko selektyvų krakmolo nanodalelių esterinimą, katalizatoriumi naudodamas imobilizuotos ir laisvos formos *Candida antarctica* lipazę B (CAL-B). Krakmolo nanodalelių prieinamumas acilinimui buvo padidintas naudojant bis(2-etilheksil)natrio sulfosukcinatą, kuris stabilizavo mikroemulsijas.

Tinklinimas. Krakmolui reaguojant su di- arba polifunkciniais junginiais, pavyzdžiui, epichlorhidrinu, glutaraldehidu, fosforo oksichloridu, natrio trimetafosfatu ar adipo rūgštimi, gaunamas tinklinis krakmolas (TK). Reakcijos metu tinklinimo agentas reaguoja su keliomis amilozės ar amilopektino hidroksigrupėmis, susidarant nedideliame skaičiui kovalentinių skersinių ryšių tarp krakmolo molekulių [63]. Kartais tinklinimas derinamas su hidroksialkilinimu, oksidacija, fosforiliniu ar esterinimu [45]. Kadangi tinklo tankį įvertinti sunku, jis dažniausiai apibūdinamas tinklinimui naudoto tinkinimo agento kiekiu, išreikštu mol/AGL [64, 65].

Dažniausiai krakmolui modifikuoti naudojamas epichlorhidrinas (EPCH), katalizatoriumi naudojant natrio šarmą [64] arba amonio hidroksidą [64, 66]. Reakcijos metu EPCH pirmiausia reaguoja su amorfinėse krakmolo srityse esančiomis hidroksigrupėmis [67]. Didinant EPCH kiekį, skersiniai ryšiai susidaro tarp kristalinėse srityse esančių krakmolo polisacharidų hidroksigrupių ir krakmole padidėja amorfinių sričių dalis [64, 68, 69]. L. Kuniak'as ir R. Marchessault'as [70] nustatė, kad priklausomai nuo reagentų molinio santykio, temperatūros ir trukmės, 5–25 % EPCH reaguoja su krakmolu sudarydamas tinklinį krakmolą.



Kraskmolo katijonizavimas. Katijoninėms grupėms prijungti dažniausiai naudojami reagentai, turintys amino, imino, amonio, fosfonil-, sulfogrupes. Kraskmolo katijonizavimui galima naudoti reagentus net tik su viena, bet ir keliomis katijoninėmis grupėmis, pavyzdžiui, 1,3-bis(dimetilamino)-2-chloropropaną. Taip pat galima būtų vykdyti reakciją tarp kraskmolo ir kito polimero, turinčio katijoninių grupių. Labiausiai paplitę yra katijoniniai kraskmolo dariniai, turintys tretinių amino ir ketvirtinių amonio grupių. Tokie kraskmolo dariniai, turėdami teigiamo krūvio ženklą grupių, gali sudaryti polikompleksus ar prisijungti anijoninių grupių turinčius junginius.

M. I. Khalil'io ir bendraautorių darbe [71] aprašytas katijoninio kraskmolo darinių, turinčių pirminių, antrinių, tretinių amino grupių gavimas ir iširtos jų flokuliacinės savybės. Pirminių amino grupių turintys katijoninio kraskmolo dariniai (aminopropilkraskmolas bei poliizopropilamino ir kraskmolo skiepytasis kopolimeras) gauti redukuojant, atitinkamai karbamoiletilkraskmolo ir poliakrilamido ir kraskmolo skiepytojo kopolimero amido grupes iki amino grupių, naudojant natrio borohidridą. Antrinių ir tretinių amino grupių turintys 2-hidroksipropilmetilamino ir 2-hidroksipropil-*N,N*-dietilamino kraskmolo dariniai, gauti reaguojant kraskmolui su *N*-metil-3-chloro-2-hidroksipropilaminu ar *N,N*-dietil-3-chlor-2-hidroksipropilaminu šarminėje terpėje. Nustatyta, kad įvairių katijoninių kraskmolo darinių flokuliacijos efektyvumas priklauso nuo amino grupės tipo ir mažėja tokia tvarka: ketvirtinė > tretinė > antrinė > pirminė, t. y. flokuliacijos efektyvumas didėja, didėjant kraskmole esančio azoto kiekiui.

Amidinių grupių turintis skiepytasis poliakrilamido-kraskmolo kopolimeras gautas sumaišant kraskmolą su vandeniniu akrilamido tirpalu azoto atmosferoje, kaip iniciatorių naudojant amonio persulfatą [72]. Be to, kraskmolą sumaišius su akrilamidu, ištirpintu vandens ir izopropanolio mišinyje šarminėje terpėje, gautas karbamoiletilkraskmolas. Iširta, kad poliakrilamido ir kraskmolo kopolimeras pasižymi geresnėmis flokuliacijos savybėmis negu karbamoiletilkraskmolas.

Amino grupė taip pat gali būti prijungiama naudojant biogeninius reagentus, tokius kaip histaminas, tiraminas, kadaverinas, putrescinas [73]. Reakcija atliekama dviem etapais: pirmiausia, kraskmolas tinklinamas epichlorohidrinu 110 °C temperatūroje rūgščioje terpėje, po to, biogeninis aminas prijungiamas prie tinklinio kraskmolo šarminėje terpėje.

Ketvirtinių amonio grupių turintys kraskmolo dariniai gauti reakcijų su gliciloktildimetilamonio chloridu, glicildodecildimetilamonio chloridu ar glicilditradecildimetilamonio chloridu metu [74]. Modifikavimas vykdytas tirpikliuose arba naudojant mikrobangas. Pastaruoju atveju, vandeninis natrio šarmo tirpalas sumaišytas su kraskmolu bei katijonizuojančiu agentu ir įdėtas į mikrobangų krosnelę. Reakcija vykdyta 2 min. Reikia paminėti, kad modifikuojant įprastu būdu reakcijos trukmė yra 8 val. Ištyrus savybes nustatyta, kad katijoniniai kraskmolo dariniai gauti mikrobangų aplinkoje, pasižymi geresnėmis flokuliacinėmis savybėmis.

Krakmolui reaguojant su glicidiltrimetilamonio chloridu gautas ketvirtinių amonio grupių turintis krakmolos. Ištyrus reakcijos sąlygas nustatyta, kad šalutinių reakcijų vyksmui yra svarbus reakcijos mišinyje esantis vandens kiekis. Esant optimaliai reakcijos mišinio sudėčiai, reakcijos išeiga siekia 93 %.

I. Šimkovic'ius savo darbe [75] aprašė tinklinio katijonio krakmolo darinių gavimo metodą. Sumaišant krakmolą, epichlorohidriną, natrio hidroksidą ir cholino chloridą reakcijos mišinys išlaikomas 24 val. kambario temperatūroje. Įdėjus į reakcijos mišinį papildomai  $\text{NH}_4\text{OH}$ , gaunamas modifikuotas krakmolos, turintis ketvirtinių amonio ir tretinių amino grupių.

### **1.3. Fenolinių junginių imobilizavimas**

Pastaraisiais metais labai padidėjo susidomėjimas fenoliniais junginiais ir jų taikymu medicinoje, kosmetikoje, farmacijoje, funkcinio maisto bei maisto papildų gamyboje. Biologiniam veiklumui išsaugoti fenoliniai junginiai gali būti imobilizuoti gamtiniuose arba sintetiniuose polimeruose arba lipiduose, taip sukuriant veikliųjų komponentų pernašos sistemas.

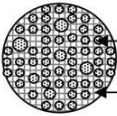
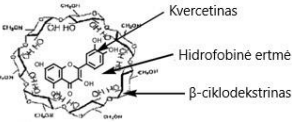

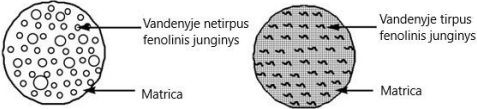
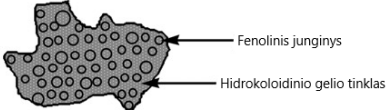
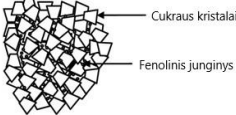
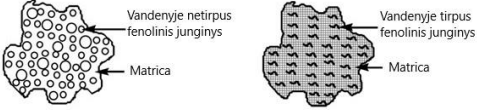
Bioaktyviųjų medžiagų įkapsuliavimo metodai klasifikuojami į:

- fizikinius (įkapsuliavimas, kompleksų, liposomų ir emulsijų sudarymas, purškiamasis džiovinimas, koacervacija, kokristalizacija, ekstruzija, sublimacinis džiovinimas);
- cheminius (tarpfazinė polikondensacija, *in situ* polimerizacija, tarpfazinė polimerizacija, tarpfazinis tinklinimas).

#### **1.3.1 Fizikiniai fenolinių junginių imobilizavimo metodai**

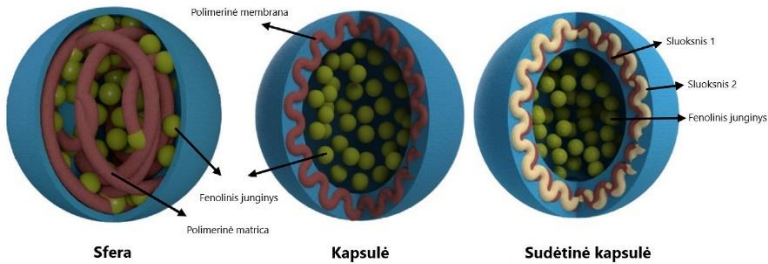
Pagrindiniai fenolinių junginių fizikiniai imobilizavimo metodai yra įkapsuliavimas, kompleksų ir emulsijų sudarymas, purškiamasis džiovinimas, koacervacija, kokristalizacija, ekstruzija, sublimacinis džiovinimas (žr. 1.1 lentelė) [30].

**1.1 lentelė.** Pagrindiniai fizikiniai bioaktyviųjų medžiagų imobilizavimo metodai [30]

Imobilizavimo metodas	Imobilizavimo metodo principinė schema
Įkapsuliavimas	 <p>Vandenyje netirpus fenolinis junginys aliejuje Vanduo</p>
Įtarpos kompleksų sudarymas	 <p>Kvercetas Hidrofobinė ertmė β-ciklodekstrinas</p>
Emulsijų sudarymas	 <p>Aliejus Emulsiklis Vandenyje tirpus fenolinis junginys Vanduo Emulsiklis Aliejuje tirpus fenolinis junginys</p>
Purškiamasis džiovinimas	 <p>Vandenyje netirpus fenolinis junginys Matrica Vandenyje tirpus fenolinis junginys Matrica</p>
Koacervacija	 <p>Fenolinis junginys Hidrokoloidinio gelio tinklas</p>
Kokristalizacija	 <p>Cukraus kristalai Fenolinis junginys</p>
Sublimacinis džiovinimas	 <p>Vandenyje netirpus fenolinis junginys Matrica Vandenyje tirpus fenolinis junginys Matrica</p>

Nanotechnologijos vyrauja maisto ir farmacijos pramonėje [76, 77]. Viena pagrindinių nanotechnologijų taikymo sričių – biologiškai aktyviųjų junginių *įkapsuliavimas*. Jo metu ne tik apsaugoma biologiškai veikli medžiaga, bet taip pat padidinamas jos biologinis prieinamumas dėl paviršiaus tūrio padidėjimo mažėjant dalelių dydžiui [78–84]. Gaunamos dalelės, kurių dydis yra nuo 1 nm iki 1 μm. Atsižvelgiant į paruošimo būdą, gaunamos sferos arba kapsulės. Sferos turi matricos struktūrą, todėl bioaktyvieji junginiai gali būti adsorbuoti sferos paviršiuje ar įkapsuliuoti sferos viduje [85]. Kapsulės yra vezikulinės sistemos, kuriose

bioaktyvieji komponentai įkapsuliuojami į vidinę ertmę, sudarytą iš skystosios šerdies, apsuptos polimerine membrana (žr. 1.5 pav.) [86].



**1.5 pav.** Fenolinių junginių įkapsuliavimas polimeruose [87]

Bioskaidžios polimerinės dalelės gali būti gaminamos iš baltymų (želatinos ir pieno baltymų), polisacharidų (chitozano, natrio alginato, krakmolo) ir sintetinių polimerų (poli(D,L-laktido), poli(pieno rūgšties), poli(D,L-glikolido), poli(laktido-*ko*-glikolido) ir poli(cianoakrilato)) [88–92]. Fenolinių junginių ir polimerų dalelių formavimui taikomi įvairūs metodai, pavyzdžiui, tirpiklio išgarinimas, kuris paremtas aliejaus-vandens emulsijų sudarymu naudojant želatiną ar poli(vinilo alkoholį) kaip emulsiklį. X. Songas ir bendraautoriai [93] naudojo šį metodą kvercetinui įkapsuliuoti siekdami pagerinti jo stabilumą ir tirpumą vandenyje. Pirmiausia, poli(laktido-*ko*-glikolidas) ir kvercetas buvo ištirpinti acetono-dichlormetano mišinyje, į kurį pilamas poli(vinilo alkoholio) tirpalas. Išgarinus tirpiklį, gautos 139 nm dydžio dalelės, kuriose įkapsuliuota 92 % kvercetino. Poli(laktido-*ko*-glikolidas) taip pat naudotas kurkumino įkapsuliavimui išgarinant emulsiklį aukštame slėgyje [94]. Susidariusios dalelės pagerino kurkumino biologinį prieinamumą bei sulaikymo trukmę smegenų žievėje (padidėjo 96 %) ir hipokampą (padidėjo 83 %) [94]. Be to, kurkuminas buvo įkapsuliuotas poli(laktido-*ko*-glikolido) dalelėse, taikant emulsavimo / tirpiklio difuzijos metodą, kurio metu šie komponentai maišant ištirpinami etilacetate. Tada šis organinis mišinys sulašinamas į vandenį su stabilizatoriumi ir gausiai skiedžiama vandeniu, taip pagerinant tirpiklio difuziją. Gautos 264 nm (PI = 0,31) dydžio dalelių nuosėdos su 76,9 % įkapsuliuoto bioaktyvaus junginio [95].

Pastaruoju metu dalelėms gauti iš gamtinių polimerų (pvz., chitozano, natrio alginato, želatinos ir kt.) taikomi skirtingi metodai. Pavyzdžiui, K. Konecni, N. H. Low'as ir M. T. Nickerson'as [96] joninės geliacijos metodu gavo rutino turinčias chitozano daleles. Proceso metu chitozanas kartu su rutinu buvo ištirpintas acto rūgšties ir etanolio tirpale, mišinio pH pakoreguotas iki 4,8, tada įpiltas natrio tripolifosfato tirpalas, o susidariusios dalelės atskirtos centrifuguojant. Vidutinis dalelių dydis – 814 nm, o įkapsuliavimo efektyvumas siekė 57,6 %.

Biopolimero dalelės gali būti formuojamos iš dviejų skirtingų biopolimerų, pvz., baltymų ir polisacharidų molekulių (žr. 1.5 pav.). Dažniausiai baltymų ir polisacharidų kompleksai susidaro dėl nekovalentinės sąveikos, pvz., elektrostatinės sąveikos. Tokios dalelės gali būti gautos iš baltymo-polisacharido komplekso tirpalo

arba sluoksninės adsorbcijos ant biopolimerų būdu, pirmiausia susidarant baltymų dalelėms ir tada, esant tam tikrai pH vertei, pridant polisacharido molekulių. Elektrostatinės adsorbcijos tarp baltymų ir polisacharidų metu būtina visiškai kontroliuoti sistemos sudėtį ir proceso sąlygas, pvz., baltymo ir polisacharido santykį, pH vertę, joninį stiprumą, biopolimero koncentraciją ir kt. [97]. I. J. Arroyo-Maya ir D. J. McClements'as darbe [98], terminio apdoravimo metu antocianinų ekstraktas įkapsuliuotas išrūgų baltymų izoliato ir runkelių pektino dalelėse. Vidutinis dalelių skersmuo buvo palyginti mažas (200 nm) esant pH vertei 4,0, tačiau dėl dalelių flokuliacijos pastebimai didėjo, esant mažesnei ir didesnei pH vertėms. Nustatyta, kad didesnis įkapsuliuojimo efektyvumas pasiektas, kai antocianinai dėti prieš išrūgų baltymų izoliato ir runkelių pektino tirpalo kaitinimą nei po jo. Gauti rezultatai gali būti paaiškinti didesne sąveika tarp baltymo ir fenolinio junginio. Kitame darbe [99] galvijų albumino serumo/t-karagenino dalelės buvo naudojamos kaip apsauginis nešiklis (-)epigalokatechin-3-galalui. Gautos stabilios didelio neigiamo krūvio (-40 mV) ir mažo dydžio dalelės (90 nm). Be to, (-)epigalokatechin-3-galatas sluoksninės adsorbcijos būdu buvo įkapsuliuotas į želatinos daleles, susidedančias iš minkšto gelinio vidaus ir polielektrolitinio apvalkalo, pvz., polistireno sulfonato / polialilamino hidroklorido, dekstrano sulfato / protamino sulfato, karboksimetilceliuliozės / želatinos [100].

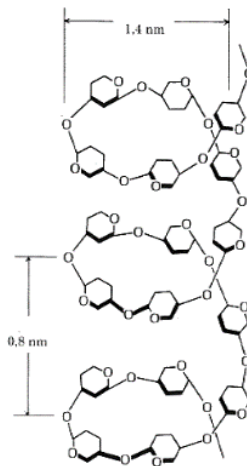
Kompleksų sudarymas. Kompleksai tarp krakmolo ir fenolinių junginių gali susidaryti nekovalentinės sąveikos jėgomis, pvz., vandenilniais ryšiais, hidrofobinėmis ir elektrostatinėmis sąveikos jėgomis [101]. Labiausiai ištirti yra įtarpos kompleksai, kurie susidaro dėl hidrofobinės sąveikos tarp fenolinių junginių ir krakmolo amilozės vienvijės spiralės. Kompleksai yra stabilizuoti vandenilniais ryšiais.

Amilozė gali sąveikauti su mažomis molekulėmis suformuodama vienvijės spiralinės struktūros įtarpos kompleksus (žr.1.1 lentelė). Kompleksų susidarymo varomoji jėga hidrofobinė sąveika spiralės vidinėje erdmėje [102]. Fenoliniai junginiai, įjungti į kompleksą amilozės spiralės erdmės viduje, yra atsparūs plovimui (pvz., plovimui 50 % v/v etanolio tirpalu) [103], o tuo metu nesantys komplekse junginiai gali būti lengvai pašalinami.

Dažniausiai įtarpos kompleksų sudarymui naudojami metodai, kurių metu krakmolas ir fenolinis junginys bendrai nusodinami iš tirpalo, pvz., šarminį tirpalą (pvz. KOH) parūgštinant  $H_3PO_4$  arba HCl tirpalu. Šis metodas naudotas ruošiant krakmolo-genisteino [103, 104] ir krakmolo-ibuprofeno [105] įtarpos kompleksus. Tam tikslui krakmolas ir fenolinis junginys atskirai ištirpinami šarminiame tirpale prieš juos sumaišant. Tada mišinys parūgštinamas iki pH 4,7, kad susidarytų komplekso nuosėdos. Šio metodo trūkumas – šarminė terpės pH gali sukelti kai kurių fenolinių junginių skilimą [106]. Kito, dažnai naudojamo bendro nusodinimo eksperimento metu, fenolinis junginys ištirpinimas metanolio / vandens tirpale ir supilamas į krakmolo kleisterį, kurio pH vertė neutrali. Ši kompozicija laikoma 70–90 °C tam tikrą laiką tarpą, po to vėsinama gaunant krakmolo-fenolinio junginio komplekso nuosėdas [107, 108]. Metodo trūkumas – palyginti aukšta temperatūra gali sukelti fenolinių junginių terminį skilimą ir oksidaciją [109].

Krakmolo ir fenolinių junginių įtarpos kompleksai taip pat gali būti gaunami naudojant fermentus. Linjing Yang darbe [105] amilozės ir ibuprofeno kompleksai suformuoti ibuprofeną ištirpinant šarminiame Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> tirpale ir sumaišant su maltoheptaoze ir bulvių fosforilaze *in situ* 37 °C temperatūroje. Šiuo metodu imobilizuojama mažiau fenolinių junginių negu šarminio tirpalo parūgštinimo metu, tačiau išvengiama galimo terminio ar tirpalo pH nulemta skilimo.

Iki šiol nurodoma, kad amilozės spiralės ertmės dydis yra ribotas. Viena spiralė gali būti sudaryta iš 6, 7 ar 8 anhidroglukopiranozės likučių per vieną sūkį [102] (žr. 1.6 pav.). Labai didelių fenolinių junginių atveju (pvz., chlorogeno rūgšties), pirmiausiai, prie fenolinio junginio priskiepijama alifatinė grandinė, kuri su amiloze suformuoja įtarpos kompleksą [108]. Tačiau alifatinės grandinės skiepijimas gali pakeisti fenolinio junginio biologinį aktyvumą.

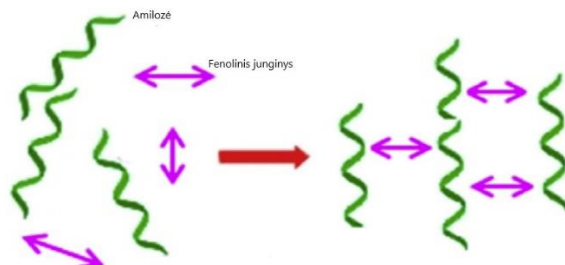


**1.6 pav.** Amilozės spiralė sudaryta iš 6 anhidroglukopiranozės likučių per vieną sūkį

Fenoliniai junginiai su krakmolu gali sudaryti ne tik įtarpos kompleksus. Tokių kompleksų susidarymo priežastys yra: per didelis fenolinių junginių molekulių dydis, nepakankamas hidrofobiškumas, ribotas amilozės spiralės ertmės dydis. Pavyzdžiui, rutinas (kvarcetino-3-*O*-rutinozidas) nesudaro įtarpos kompleksų su kukurūzų krakmolo amiloze naudojant karšto tirpalo aušinimo metodą, kuris sėkmingai buvo panaudotas sudarant krakmolo- $\alpha$ -naftolio įtarpos kompleksus [110]. Ferulo rūgštis taip pat nesuformuoja įtarpos kompleksų su kukurūzų krakmolo amiloze naudojant karšto tirpalo aušinimo ar šarminio tirpalo parūgštinimo metodus.

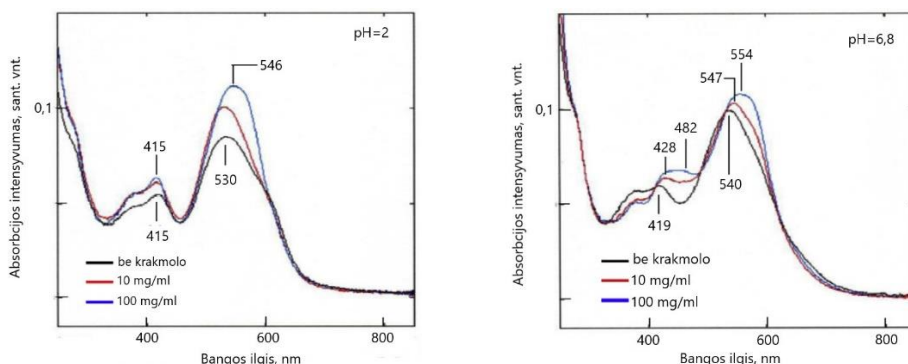
Nepaisant to, sąveika tarp krakmolo ir fenolinių junginių susidarant ne įtarpos kompleksams nustatyta spektrofotometriniais, dinaminės šviesos sklaidos analizės ir <sup>1</sup>H BMR metodais [111, 112]. Krakmolo ir katechino, esančio žaliojoje arbatoje, kompleksai suformuoti kaitinant komponentų mišinį ir po to lėtai aušinant iki kambario temperatūros. Įvairiais metodais ištyrinėjus komplekso susidarymo sąlygas nustatyta, kad susidaro vandeniliniiais ryšiais stabilizuoti kompleksai (žr. 1.7 pav.) [111]. Termogravimetrinės analizės rezultatai parodė, kad sudarytiems kompleksams, kai fenolinių junginių, esančių žaliojoje arbatoje, koncentracija įvairi, būdingos

vienos pakopos skilimo kreivės. Be to, fenolinių junginių koncentracijos didinimas sumažina kompleksų skilimo temperatūrą.



**1.7 pav.** Vandenilniais ryšiais stabilizuotų amilozės-fenolinių junginių, esančių žaliojoje arboje, kompleksų susidarymo schema [111]

Molekulinė sąveika tarp įvairios kilmės krakmolo ir fenolinių junginių: kaempferolio, epikatechindimetilgalato, rutino ir vignacianidino įrodyta stebint maksimumo poslinkį šviesos absorbcijos spektre. Umeo Takahama ir bendraautorių darbuose [113, 114], krakmolo-vignacianidino kompleksų susidarymas skirtingose pH terpėse patvirtintas absorbcijos maksimumo padidėjimu ir jo poslinkiu ilgesnių bangų link (žr. 1.8 pav.).

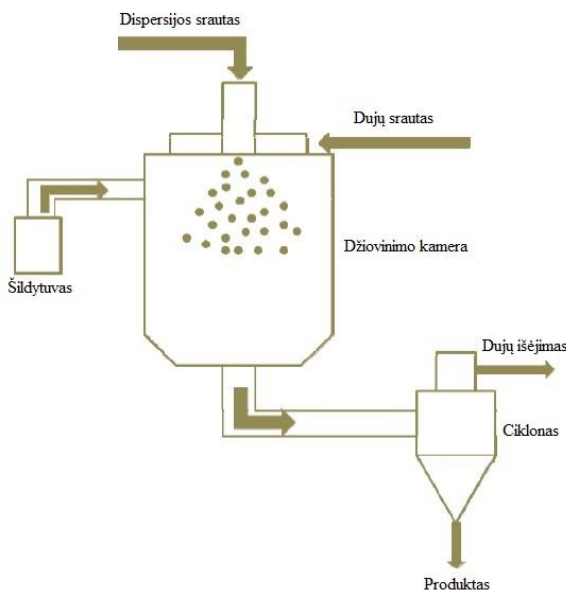


**1.8 pav.** Šviesos absorbcijos spektrai skirtingos pH vertės vignacianidino tirpalais [114]

Emulsijų sudarymas yra paprastai naudojamas įkapsuliuoti bioaktyviasias medžiagas vandeniniuose tirpaluose. Jos gali būti naudojamos skystos būsenos arba išdžiovintos iki miltelių pvz., purškiamuoju arba sublimaciniu džiovinimu. Emulsijos susideda iš bent dviejų nesimaišančių skysčių, iš kurių vienas yra išsklaidytas mažais sferiniais lašeliais kitame skystyje, pvz., aliejus ir vanduo [115, 116]. Dažniausiai lašelių skersmuo svyruoja nuo 0,1 iki 100  $\mu\text{m}$  [116]. Emulsijos klasifikuojamos pagal vandens ir aliejaus sumaišymo eiliškumą. Sistema, kurią sudaro aliejaus lašeliai išsklaidyti vandenyje, vadinama aliejaus vandenyje emulsija, o sistema, kurią sudaro vandens lašeliai išsklaidyti aliejuje, vadinama vandens aliejuje emulsija (žr. 1.1 lentelė). Emulsijų stabilizavimui naudojami emulsikliai. JAV patente [117] fenoliniai junginiai ištirpinami etanolyje, pridendant poliglicerolio oleino rūgšties esterio, po to

tirpalas homogenizuojamas arba emulsuojamas augaliniame aliejuje, kad būtų gautos etanolio-aliejaus arba etanolio-aliejaus-vandens tipo emulsijos. Šios emulsijos gali būti naudojamos farmacijoje ir maisto pramonėje kaip fenolinių junginių pernašos sistemos. Kadangi šie fenoliniai junginiai yra netirpūs arba mažai tirpūs vandenyje ir aliejuje, emulsijos pasižymi didele fenolinių junginių koncentracija. Tyrimais įrodyta, kad fenolinių junginių emulsijos mažina lipidų oksidaciją ir padidina jų stabilumą [118–120].

*Purškiamasis džiovinimas* atliekamas specialiu aparatu (purkštuvine džiovykla), leidžiančiu sudaryti daleles iš veikliojo junginio dispersijos [121, 122]. Įkapsuliavimui daleles dengiančių sienelių medžiaga yra naudojamas modifikuotas krakmolos, maltodekstrinai, gumiarabikas ar kitos medžiagos. Proceso metu bioaktyvioji medžiaga yra homogenizuojama su sienelės sudarančia medžiaga. Tada mišinys tiekiamas į purkštuvinę džiovyklą ir purškiamas per purkštuvo antgalį. Vanduo išgarinamas išpurkštam mišiniui kontaktuojant su karštu oru. Nukritusios ant džiovyklės dugno dalelės yra surenkamos (žr. 1.9 pav.) [123]. Išdžiovintos dalelės yra sferinės formos ir jų vidutinis dydis yra 10–100 μm.



1.9 pav. Purkštuvinės džiovyklos principinė schema [8]

Vienas purškiamojo džiovinimo trūkumų – ribotas sienelės sudarančių medžiagų kiekis, nes šios medžiagos turi turėti tam tikrą tirpumą vandenyje [124]. Maltodekstrinai plačiai naudojami kaip nešikliai ir sienelės sudarančios medžiagos fenoliniams junginiams įkapsuliuoti, pvz., juodųjų morkų etanoliniam ekstraktui, kurio sudėtyje yra didelė antocianinų koncentracija ( $125 \pm 17,22$  mg/100 g) [125]. L. Zhang'o ir bendraautorių darbe [126] pateikiama, kaip vynuogių sėklose esantys procianidinai įkapsuliuoti į maltodekstrinų (60 %) ir gumiarabiko (40 %) mišinį. Džiovinimo metu procianidinų pakitimų nenustatyta, įkapsuliavimo efektyvumas



siekė 85 %. Be to, imobilizavimas naudojant purškiamąjį džiovinimą pagerino šio fenolinio junginio stabilumą.

Chitozanas taip pat naudotas kaip sienelės sudaranti medžiaga alyvuogių lapų ekstraktui (ALE) įkapsuliuoti purškiamojo džiovinimo būdu [127]. Sudarytos lygaus paviršiaus mikrosferos su 27 % įkapsuliuoto ALE. FT-IR spektroskopijos rezultatai parodė, kad dauguma ALE įkapsuliuota į chitozано matricą fizikinės sąveikos jėgomis.

Fenolinių junginių imobilizavimui taip pat plačiai naudojama baltymų-lipidų (natrio kazeinato-sojos lecitino) emulsija, kuri naudota įkapsuliuojant vynuogių sėklų, ir alyvuogių lapų ekstraktus ir obuolių polifenolius [128]. Optinė mikroskopijos ir dalelių dydžio analizė atskleidė, kad visos susidariusios dalelės buvo sferinės formos ir vienodo polidispersiškumo. Be to, nustatyta, kad po purškiamojo džiovinimo proceso yra išsaugomas fenolinių junginių antioksidacinis efektyvumas [128].

Koacervacija – pusiausvyrosios koloidinės sistemos pasidalijimas į dvi skystąsias fazes: tankią koacervato fazę ir praskiestą pusiausvyrą fazę. Metodas pagrįstas vandenyje tirpių katijoninių ir anijoninių polimerų gebėjimu sąveikauti vandenyje susidarant skystai, neutraliai, polimerais praturtintai fazei, vadinamai koacervatu [8]. Proceso metu disperguota medžiaga, kuri gali būti aliejaus lašeliai, yra išsklaidoma dviejų polimerų vandeniniame tirpale. Keičiant tirpalo pH vertę, susidaro polimerais praturtinta sienelių medžiaga, kuri, kaip vientisas sluoksnis, apsupa išsklaidžiusią disperguotą medžiagą. Koacervatai paprastai toliau stabilizuojami termiškai apdorojant, sudarant skersinius ryšius ar naudojant desolvacijos metodą.

L. Deladino ir bendraautorų darbe [129] *Yerba mate* arbatos (lot. *Ilex paraguariensis*) liofilizuotas ekstraktas, kurio sudėtyje yra  $62,11 \pm 1,16$  mg/g galo rūgšties, buvo įkapsuliuotas naudojant du skirtingus procesus: joninį geliacijos metodą su kalcio alginatu ir koacervaciją tarp kalcio alginato ir chitozано. Alginato granulėse imobilizuotų fenolinių junginių antioksidacinis efektyvumas buvo daugiau kaip 85 %, kai chitozanu padengtos alginato granulės pasižymėjo tik 50 % antioksidaciniu efektyvumu, dėl aktyviųjų junginių praradimo įkapsuliovimo į chitozaną metu. Nustatyta, kad chitozано-alginato membrana išsaugo fenolinius junginius, tačiau iš chitozanu padengtų granulių įkapsuliuoti junginiai atpalaiduojami per trumpesnę laiką negu alginato atveju. Šie rezultatai parodė, kad atpalaidavimo procesą sąlygoja sienelės sudarančios medžiagos prigimtis.

Propolis – fenolių mišinys, turintis gerai žinomą terapinį aktyvumą. Tačiau jo naudojimą riboja tirpumas (tik alkoholyje) ir aštrus skonis. Įkapsuliovus propolį koacervacijos metodu pektino ir sojos baltymų mišinyje, gauti lengvai disperguojami antioksidacinių ir antimikrobinių savybių turintys milteliai, pasižymintys kontroliuojamu aktyvios medžiagos atpalaidavimu [130].

Kokristalizacija – įkapsuliovimo procesas, kurio metu taisyklingos formos sacharozės kristalas yra modifikuojamas į netaisyklingą aglomeruotą kristalą, gaunant akytą matricą, į kurią gali būti įterpta veiklioji medžiaga (žr. 1 lentelė). Spontanine prisotinto gliukozės sirupo kristalizacija vykdoma aukštoje temperatūroje ( $> 120$  °C) esant nedideliame drėgmės kiekiui [8]. Jeigu tuo pačiu metu pridedamas antrasis komponentas (veiklioji medžiaga), jis įkapsuliovojamas į aglomeruotų kristalų viduje

esančias ertmes ( $< 30 \mu\text{m}$ ). Šiuo metodu įkapsuliuotos bioaktyviosios medžiagos geriau tirpsta, yra homogeniškos ir stabilios.

*Yerba mate* (lot. *Ilex paraguariensis*) arbatos ekstraktas, kuriame yra kavos rūgšties darinių ir flavonoidų, sėkmingai įkapsuliuotas prisotintame sacharozės tirpale kokkristalizacijos būdu [131]. Gautų kristalų dydis buvo nuo  $2 \mu\text{m}$  iki  $30 \mu\text{m}$ . Kokkristalizacija labai sumažino *Yerba mate* arbatos ekstrakto higroskopiskumą, nepaveikdamas jo didelio tirpumo.

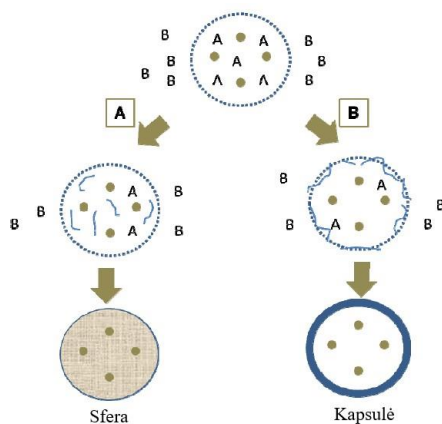
*Sublimacinis džiovinimas* yra vienas iš labiausiai naudojamų procesų apsaugant nestabilias ir jautrias karščiui molekules. Proceso metu mažinant aplinkos slėgį ir pakankamai šildant, medžiagoje sušaldytas vanduo sublimuojasi iš kietos į garų fazę [132]. Sublimacinis džiovinimas yra paprastas būdas įkapsuliuoti vandenyje tirprias esencijas ir natūralius aromatus, taip pat vaistus. Pavyzdžiui, liofilizuoti išspaudų bandiniai, turintys antocianinų ir maltodekstrino DE20, pasižymėjo geru stabilumu saugant daugiau nei du mėnesius  $50^\circ\text{C}$  temperatūroje [133]. P. Laine ir bendraautorių darbe [134] gausiai fenolinių junginių turintis aviečių ekstraktas (lot. *Rubus chamaemorus*) buvo stabilizuotas sublimacinio džiovinimo metu, kaip mikrokapsulių sieneles sudarančias medžiagas naudojant dviejų tipų maltodekstrinus (DE5–8 ir DE18,5). Liofilizuotos dalelės išliko stabilios ilgą laiką, kartu išsaugotas fenolinių junginių antioksidacinis efektyvumas.

### 1.3.2. Cheminiai fenolinių junginių imobilizavimo metodai

*In situ polimerizacija* taikoma nanomedžiagų sintezėje. Procesas susideda iš monomerų, dažniausiai vinil- ir akrilgrupių turinčių junginių (pvz., stireno arba metilmetakrilato) emulsavimo vandenyje, pridėdant atitinkamų paviršinio aktyvumo medžiagų. Polimerizacijos metu susidaro vandenyje netirpus polimeras, iš kurio susiformuoja mikrosferos [8].

N. Bernardy ir bendraautoriai [135] ištyrė reakcijos parametrų įtaką įkapsuliuojant kvercetiną *in situ* polimerizacijos metodu. Nustatyta, kad pridėjus kvercetino į metilmetakrilato tirpalą, polimerizacijos reakcijos greitis sumažėja. O askorbo rūgšties pridėjimas į tirpalą pagerino reakcijos vyksmo sąlygas bei sumažino imobilizuoto kvercetino oksidaciją.

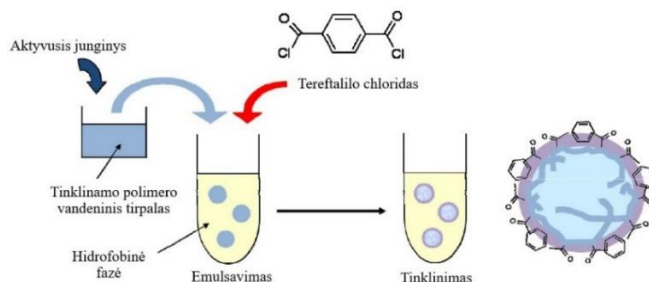
*Tarpfazinė polikondensacija ir tarpfazinis tinkinimas*. Tarpfazinė polikondensacija – cheminė reakcija, kurios metu aplink emulsijos lašelius susiformuoja polimerinė membrana [136]. Reakcija vyksta sąveikaujant nusistovėjusiai ir išsklaidytai fazei, sudarytai iš skirtingų monomerų (žr. 1.10 pav.). Vandenyje tirpaus veikliojo junginio atveju, reakcija vyksta tokia tvarka: distiliuotame vandenyje paruošiamas veikliojo junginio ir vandenyje tirpaus monomero A tirpalas; emulsuojant organinėje išorinėje fazėje sudaroma aliejaus-vandens emulsija, į kurią pridėdama organinėje fazėje tirpaus monomero B; galiausiai, vyksta tarpfazinė polikondensacija tarp dviejų monomerų [8].



**1.10 pav.** Mikroįkapsuliavimo tarpfazinės polikondensacijos būdu principinė schema, kai: A – monomeras tirpus emulsuotame lašelyje, B – monomeras netirpus emulsuotame lašelyje [8]

Tarpfazinė polikondensacija gali vykti dviem būdais. Kai monomeras yra tirpus emulsuotame lašelyje (žr. 1.10 pav. A), polimerinė matrica susidaro lašelių viduje susiformuojant mikrosferoms ir, kai monomeras netirpus emulsuotame lašelyje (žr. 1.10 pav. B), polimerinė membrana susiformuoja aplink lašelius, kurie pavieniui įkapsuliuojami į mikrokapsulę. Susidariusios membranos savybės ir dalelių polidispersiškumas priklauso nuo monomerų prigimties, paviršiaus aktyviosios medžiagos koncentracijos, tirpiklio savybių ir kitų parametru, pvz., maišymo greičio ir laiko. Be to, tarp imobilizuoto veikliojo junginio ir monomerų yra galimos šalutinės cheminės reakcijos, kurių priežastimi gali būti nepakankamas aktyviojo junginio tirpumas tirpiklyje.

Vandenyje tirpų monomerą pakeitus oligomeru ar polimeru vyksta tarpfazinis tinklinimas (žr. 1.11 pav.). Šiuo atveju kondensacijos reakcijoje dalyvauja organiniuose tirpikliuose tirpstančio bifunkcinio monomero reaktyviosios grupės ir vandenyje tirpaus oligomero arba polimero funkcinės grupės.



**1.11 pav.** Mikroįkapsulių sudarymo tarpfazinio tinklinimo metodu mechanizmas, tinklinimo agentu naudojant tereftalio chloridą [8]

M. C. Andry su bendraautoriais [137] suformavo tinklintas, vynuogėse randamų proantocianidinų mikrokapsules, kurių membrana buvo sudaryta iš fenolinio junginio.

Infraraudonųjų spindulių spektroskopijos metodu nustatyta, kad proantocianidinių tinklinimo tereftalio chloridu metu, iš hidroksifenilgrupių susidaro molekulę stabilizuojantys esterio ryšiai, užtikrinantys laisvųjų radikalų surišimą. Be to, mažesnės nei 10 µm dydžio mikrokapsulės, gautos esant pH vertei 9 ir 11, išliko stabilios 45 °C temperatūroje vandeninge aplinkoje daugiau kaip penkis mėnesius.

#### 1.4. Literatūros apžvalgos apibendrinimas ir darbo tikslo pagrindimas

Fenolinės rūgštys pasižymi antioksidacinėmis, antimikrobinėmis ir priešuždegiminėmis savybėmis. Tačiau šie junginiai yra nestabilūs, jautrūs karščiui, šarmams, oksidacijai ir šviesai, todėl greitai praranda veikliąsias savybes [7–11]. Biologiniam veiklumui išsaugoti fenolinės rūgštys gali būti imobilizuojamos gamtiniuose arba sintetiniuose polimeruose, arba lipiduose, taip sukuriant veikliųjų komponentų pernašos sistemas [8, 30].

Literatūroje siūlomi tiek fizikiniai, tiek cheminiai fenolinių rūgščių imobilizavimo polimeriniuose nešikliuose metodai, pavyzdžiui, įkapsuliuavimas, kompleksų, liposomų ir emulsijų sudarymas, purškiamasis džiovinimas, sublimacinis džiovinimas, tarpfazinė polikondensacija, *in situ* polimerizacija, tarpfazinė polimerizacija, tarpfazinis tinklinimas ir t. t. [8, 30]. Tačiau daugumai iš šių metodų reikia brangios aparatūros, didelių laiko ir energijos sąnaudų, papildomų cheminių komponentų. Vienas iš alternatyvių būdų išsaugoti fenolinių rūgščių veiklumą galėtų būti joninių kompleksų sudarymas su katijoninių grupių turinčiais polisacharidais vykdant adsorbiciją. Tačiau mokslinėje literatūroje nerasta duomenų apie katijoninių polisacharidų ir fenolinių rūgščių kompleksų sudarymą vykdant adsorbiciją.

Katijoninių grupių turintys polisacharidai, tokie kaip tinklinio katijoninio krakmolo dariniai ar chitozanas, dėl elektrostatinės sąveikos galėtų sudaryti joninius kompleksus su anijoninių grupių turinčiais mažamolekuliais junginiais, taip pat fenolinėmis rūgštimis. Be to, augaliniuose ekstraktuose gausu fenolinių junginių, kurių didžiąją dalį sudaro fenolinės rūgštys, todėl naudoti augalinius ekstraktus imobilizuojant fenolines rūgštis, būtų efektyviau.

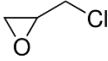
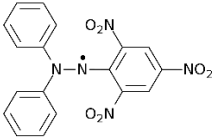
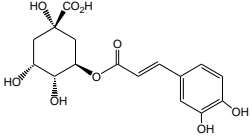
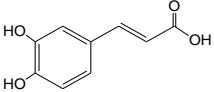
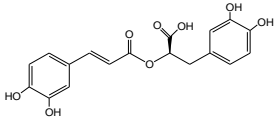
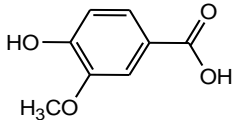
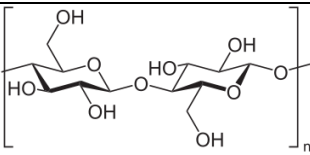
Šio disertacinio darbo tikslas yra išsaugoti fenolinių rūgščių ir augalinių ekstraktų komponentų antioksidacinę veiklumą adsorbavus juos katijoniniais polisacharidais. Kaip katijoninius polisacharidus pasirinkus ketvirtinių amonio grupių ir tretinių amino grupių turinčių tinklinių krakmolo darinių mikrogranules ir chitozano daleles, numatoma gauti jų kompleksus su fenolinėmis rūgštimis, taip apsaugant bioaktyvius junginius nuo oksidacijos ir padidinant jų stabilumą. Fenolinių rūgščių ar augalinių ekstraktų ir tinklinio katijoninio krakmolo darinių ar chitozano kompleksų susidarymas bus ištirtas pusiausvyrosios adsorbicijos metodu. Taip pat bus ištirtas sudarytų kompleksų antioksidacinis efektyvumas, terminis stabilumas bei fenolinių rūgščių ar augalinių ekstraktų, imobilizuotų kompleksuose su tinklinio katijoninio krakmolo dariniais ar chitozanu, atpalaidavimas į įvairias terpes. Įvertinus tyrimų rezultatus bus sukurti tiksliniai fenolines rūgštis turintys produktai, pasižymintys funkcinėmis savybėmis.

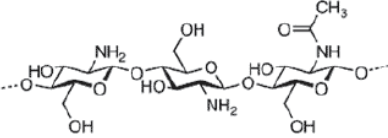
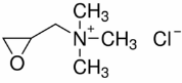
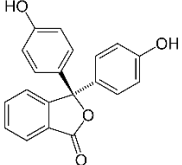
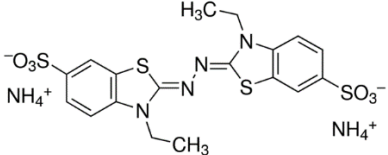
## 2. NAUDOTOS MEDŽIAGOS IR EKSPERIMENTŲ METODIKOS

### 2.1. Naudotos medžiagos

Pagrindinės tyrimuose naudotos medžiagos yra pateiktos 2.1 lentelėje. Medžiagos prieš naudojimą nebuvo papildomai grynintos.

#### 2.1 lentelė. Tyrimų metu naudotos medžiagos

Medžiagos pavadinimas (trumpinys), <i>gamintojas ar tiekėjas</i>	Formulė	Pastabos
Epichlorhidrinas (EPCH), <i>Sigma-Aldrich</i>		Grynumas 98 %
2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas (DPPH'), <i>Sigma-Aldrich</i>		an.gr.
Chlorogeno rūgštis (CLR), <i>Sigma-Aldrich</i>		Grynumas 95 %
Kavos rūgštis (KVR), <i>Sigma-Aldrich</i>		Grynumas 98 %
Rosmarino rūgštis (RZR), <i>Sigma-Aldrich</i>		an.gr.
Vanilino rūgštis (VR), <i>Sigma-Aldrich</i>		Grynumas 97 %
Bulvių krakmolas, <i>BEROXFOOD Natural Ingredients</i>		Orasausis

Chitozanas (mažos molekulinės masės) (ChZ), <i>Sigma Aldrich</i>		Deacetilavimo laipsnis 75–85 %
2,3-epoksipropiltrimetilamonio chloridas (EPTMAC), <i>Sigma-Aldrich</i>		Grynumas 70%
Fenolftaleino indikatorius		0,1 % vandeninis tirpalas
Artišokų ekstraktas (AE) <i>Bernett S.r.l.</i>	—	—
Žaliųjų kavos pupelių ekstraktas (ŽKPE) <i>ZD Biological</i>	—	—
2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfono rūgštis (ABTS), <i>Sigma-Aldrich</i>		an.gr

Amonio hidroksidas, natrio hidroksidas, izopropanolis, metanolis, kalio hidroksidas, druskos rūgštis, sieros rūgštis, seleno dioksidas, vario sulfatas, kalio sulfatas gauti iš *Eurochemicals*, monokalio fosfatas ir dikalio fosfatas – iš *Alfa Aesar*, kalio persulfatas – iš *Penta*, etanolis – iš *UAB „Stumbras“*. Kjeldalio katalizatorius –  $\text{SeO}_2$  :  $\text{CuSO}_4$  :  $\text{K}_2\text{SO}_4$  mišinys, kurio masių santykis 1 : 1,8 : 10,6. Kjeldalio indikatorius – metilo raudono ir metileno mėlyno spiritinis tirpalas. Visos medžiagos buvo analitinio grynumo.

## 2.2. Eksperimentų metodikos

### 2.2.1. Katijoninių krakmolo darinių sintezė

**Ketvirtinių amonio grupių turinčio tinklinio katijonio krakmolo (TKK) gavimas.** TKK sintezė vykdyta dviem etapais [138]. Pirmiausiai buvo susintetintas tinklinis krakmolos (TK) ir po to jis buvo katijonizuotas. TK gautas į 50 % vandeninę bulvių krakmolo granulių suspensiją supylus vandens ir natrio hidroksido mišinyje

emulsuotą EPCH ir gautą mišinį magnetine maišykle maišant kambario temperatūroje. Reagentų molių santykis heterogeniniame mišinyje buvo AGL : EPCH : NaOH : H<sub>2</sub>O = 1 : 0,005 : 0,006 : 10. Reakcija vykdyta 45 ± 1 °C temperatūroje 24 val. Gautas TK buvo katjonizuotas eterinant su EPTMAC šarminėje terpėje. Ruošiant eterinimo mišinį, NaOH tirpalas buvo sumaišytas su EPTMAC. Į jį subertas reikiamas kiekis TK, o po to viskas gerai išmaišyta. Reagentų molių santykis heterogeniniame mišinyje buvo AGL : EPTMAC : NaOH : H<sub>2</sub>O = 1 : 0,45 : 0,04 : 4. Reakcija vykdyta heterogeninėje terpėje 45 ± 1 °C temperatūroje 48 val. Po to, reakcijos produktas plautas distiliuotu vandeniu iki neutralios terpės, tada plautas izopropanoliu ir išdžiovintas.

**Tretinių amino grupių turinčio tinklinio katijonio krakmolo (TTAK) gavimas.** Orasausės krakmolo mikrogranulės buvo užpiltos NH<sub>4</sub>OH ir NaOH tirpalais, tada supiltas epichlorhidrinas. Reakcijos mišinys sumaišomas ir paliekamas 24 val. 20 °C temperatūroje. Reagentų molių santykis mišinyje buvo AGL : EPCH : NH<sub>4</sub>OH : NaOH : H<sub>2</sub>O = 1 : 0,5 : 1 : 0,5 : 20. Reakcijai pasibaigus, reakcijos produktas plautas distiliuotu vandeniu iki neutralios terpės, tada plautas izopropanoliu bei acetonu ir išdžiovintas.

### 2.2.2. Katjoninių grupių kiekio nustatymas

Azoto kiekio nustatymas. Prieš analizę katjoninių grupių turintys krakmolo dariniai gryninti 16 val. ekstrahuojant metanoliu Soksleto aparate. Azoto kiekis bandinyje nustatytas Kjeldalio metodu [139]. Prijungtas azoto kiekis  $N$  (%) apskaičiuotas taikant formulę:

$$N (\%) = \frac{(V_0 - V) \cdot n \cdot k \cdot 14 \cdot 100}{1000 \cdot m}, \quad (2.1)$$

čia  $N$  – azoto masės dalis tiriamajame bandinyje, %;  $V_0$  – NaOH kiekis, sunaudotas „kontroliniam“ bandiniui nutitruoti, ml;  $V$  – NaOH kiekis, sunaudotas tiriamajam bandiniui nutitruoti;  $n$  – NaOH koncentracija, mol/l;  $k$  – koeficientas ( $k=1$ );  $m$  – bandinio masė, g.

Pakeitimo laipsnio nustatymas. Ketvirtinių amonio grupių kiekį modifikuotame krakmole apibūdina pakeitimo laipsnis ( $PL_{kat}$ ), kuris apskaičiuotas taikant formulę:

$$PL_{kat} = \frac{162 \cdot N}{1400 - 151,5 \cdot N}, \quad (2.2)$$

čia:  $N$  – azoto kiekis bandinyje, %; 162 – krakmolo anhidroglukopiranozės likučio (AGL) masė, g/mol.

### 2.2.3. Drėgmės kiekio nustatymas

Sausų medžiagų kiekis bandiniuose buvo apskaičiuotas nustačius bandiniuose esantį drėgnį drėgnomačiu *Kern MSR 120-3*. Drėgmė  $w$  (%), esanti medžiagoje, apskaičiuota taikant formulę:

$$w = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \cdot 100\%, \quad (2.3)$$

čia  $m_0$  – pradinė medžiagos masė, g;  $m_1$  – medžiagos masė po džiovavimo, g.

#### 2.2.4. Fenolinių rūgščių ar augalinių ekstraktų koncentracijos bandiniuose nustatymas

Fenolinės rūgšties ar augalinio ekstrakto koncentracijai tiriamajame tirpale nustatyti jis buvo praskiestas distiliuotu vandeniu ir UV/VIS spektrofotometru *Jenway 6715*, išmatuota charakteringojo monochromatinio spindulio sugertis tiriamuoju tirpalu. Charakteringųjų sugerties smailių bangos ilgiai ( $\lambda_{\max}$ ): VR – 256 nm, KVR – 291 nm, RZR – 326 nm, CLR, AE ir ŽKPE – 325 nm. Fenolinės rūgšties ar augalinio ekstrakto koncentracija apskaičiuota naudojant iš anksto sudarytus atitinkamus kalibracinius grafikus.

#### 2.2.5. Fenolinių rūgščių ar augalinių ekstraktų pusiausvyrosios adsorbcijos katijoniniais polisacharidais tyrimas

Į konusines 250 ml talpos kolbas pasverta po 0,1 g absoliučiai sausų TKK, TTAK mikrogranulių ar ChZ miltelių ir įpilta 100 ml 0,1–1 g/l koncentracijos fenolinės rūgšties ar augalinio ekstrakto vandeninio tirpalo. Kolbos užkimštos ir įstatytos į termostatuojamą vandens vonią su kratykle *WB-14 Mammert*, kurioje temperatūra palaikoma  $\pm 1$  °C tikslumu. Kratyklė judėjo 135 judesių per minutę dažniu. Suspensijos kratytos 60 min. 30 °C, 40 °C ar 60 °C temperatūrose. Po adsorbcijos gautos suspensijos filtruotos per popierinį filtrą ir filtrate nustatyta likutinė bioaktyviosios medžiagos koncentracija. Adsorbuotas fenolinės rūgšties ar augalinio ekstrakto kiekis ( $q_e$ , g/g) buvo apskaičiuotas taikant formulę:

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e) \cdot V}{m}, \quad (2.4)$$

čia  $C_0$  – pradinė fenolinės rūgšties ar augalinio ekstrakto koncentracija (g/l);  $C_e$  – pusiausvyrosi fenolinės rūgšties ar augalinio ekstrakto koncentracija (g/l);  $V$  – tirpalo tūris (l);  $m$  – absoliučiai sauso bandinio masė (g).

##### 2.2.5.1. Taikyti matematiniai adsorbcijos modeliai ir termodinaminių rodiklių apskaičiavimas

Adsorbcijos izotermėms aprašyti pritaikyti Lengmiūro [140], Freundlichio [141], Dubinino ir Radushkevicho [142] modeliai. Lengmiūro adsorbcijos modelio lygtys:

$$q_e = \frac{K_L \cdot Q_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e}, \quad (2.5)$$

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{Q_L \cdot K_L} + \frac{1}{Q_L} C_e \text{ (tiesės lygtis)}, \quad (2.6)$$



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).

Polimero jonogeninių grupių efektyvumas ( $EF$ , mol/ekv.) sujungiant priešingo ženklų krūvio jonus apskaičiuotas išreiškus  $Q_L$  vertę mol/g ir žinant adsorbento grame esančių jonogeninių grupių kiekį. Jeigu visos polimero katijoninės grupės dalyvauja sujungiant tirpale esančius anijonus,  $EF$  vertė yra artima 1 mol/ekv.

Freundlichio modelio lygtys:

$$q_e = K_F \cdot C_e^{n_F}, \quad (2.7)$$

$$\ln q_e = \ln K_F + \frac{1}{n_F} \ln C_e \text{ (tiesės lygtis),} \quad (2.8)$$

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

Dubinino ir Radushkevicho adsorbcijos modelio lygtys:

$$q_e = Q_{DR} \exp(-\beta \varepsilon^2), \quad (2.9)$$

$$\ln q_e = \ln Q_{DR} - \beta \varepsilon^2 \text{ (tiesės lygtis),} \quad (2.10)$$

čia  $Q_{DR}$  – maksimalus adsorbuotas medžiagos kiekis (Dubinino ir Radushkevicho sorbcinė geba (mmol/g));  $\beta$  – konstanta, susijusi su laisvąja adsorbcijos energija (mol<sup>2</sup>/kJ<sup>2</sup>);  $\varepsilon$  – Polanyi potencialas.

Polanyi potencialas:

$$\varepsilon = RT \ln \left( 1 + \left( \frac{1}{C_e} \right) \right). \quad (2.11)$$

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

$$E_{DR} = \frac{1}{\sqrt{2\beta}}. \quad (2.12)$$

Termodinaminiai adsorbcijos rodikliai – Gibso laisvosios energijos ( $\Delta G$ ), entalpijos ( $\Delta H$ ) ir entropijos ( $\Delta S$ ) pokyčiai:

$$\Delta G = -RT \ln K_C, \quad (2.13)$$

$$\ln K_C = \frac{\Delta S}{R} - \frac{\Delta H}{RT}, \quad (2.14)$$

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 gaunama atidėjus eksperimentinius adsorbcijos izotermių duomenis  $\ln q_e/C_e$  nuo  $q_e$  koordinatėse. Gautos tiesės lygties atkirtimas yra  $\ln K_C$  [143]. Žinant  $\ln K_C$  vertes,  $\Delta H^0$  ir  $\Delta S^0$  vertės buvo apskaičiuotos iš tiesės polinkio ir atkirtimo, atidėjus priklausomybę  $\ln K_C$  nuo  $1/T$ .

### 2.2.6. Fenolinių rūgščių ar augalinių ekstraktų ir katijoninių polisacharidų kompleksų gavimas

1 g absoliučiai sausų TKK, TTAK mikrogranulių ar ChZ miltelių užpilta 250 ml 0,5 g/l ar 1 g/l koncentracijos fenolinės rūgšties ar augalinių ekstraktų vandeniniais tirpalais ir 60 min maišyta magnetine maišykle  $20 \pm 1$  °C temperatūroje. Po adsorbcijos, mišinys nufiltruotas pro stiklinį filtrą, filtrate nustatyta likutinė fenolinės rūgšties ar augalinio ekstrakto koncentracija ir apskaičiuotas TKK, TTAK ar ChZ adsorbuotas fenolinės rūgšties ar augalinio ekstrakto kiekis. Gautos mikrogranulės ir milteliai plauti distiliuotu vandeniu ir išdžiovinti kambario temperatūroje.

### 2.2.7. Fenolinių rūgščių ir katijoninių krakmolo darinių kompleksų tyrimas Furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopija

TKK, TTAK mikrogranulių ir kompleksų FT-IR visiško vidinio atspindžio (ATR) spektrai užrašyti *Perkin Elmer Frontier* spektrofotometru. Nedidelis kiekis bandinio buvo padėtas ant deimanto kristalo plokštelės, prispaustas ir užrašytas spektras bangų srities intervale nuo  $4000 \text{ cm}^{-1}$  iki  $655 \text{ cm}^{-1}$ , skenavimų skaičius 5, skiriamoji geba  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

### 2.2.8. Termogravimetrinė analizė

TKK granulių, ChZ miltelių, fenolinių rūgščių, augalinių ekstraktų ir kompleksų termogravimetrinė analizė atlikta *Perkin Elmer TGA 4000* aparatu. Tyrimai atlikti keliant temperatūrą  $10$  °C/min greičiu azoto aplinkoje (dujų srauto debitas  $20 \text{ cm}^3/\text{min}$ .). Bandinio masė  $\sim 10$  mg.

### 2.2.9. Skenuojamosios elektroninės mikroskopijos (SEM) tyrimas

SEM nuotraukos gautos aukštos skiriamosios gebos skenuojančiu elektroniniu mikroskopu su „Šotki“ tipo elektronų patranka *FEI Quanta 200 FEG*. Bandiniai (mikrogranulės ar milteliai) buvo užberti ant specialios lipnios juostelės, kuri buvo pritvirtinta ant bandinio stalio paviršiaus.

### 2.2.10. Branduolių magnetinio rezonanso (BMR) tyrimas

BMR matavimai buvo atlikti *Bruker AVANCE III HD* spektrometru, veikiančiu  $400,2 \text{ MHz}$  ir  $100,6 \text{ MHz}$  rezonanso dažniu  $^1\text{H}$  ir  $^{13}\text{C}$  atomų analizei.  $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$  CP

MAS (angl. CP – *cross-polarization*, liet. *kryžminės poliarizacijos*; angl. MAS – *magic angle spinning*, liet. *magiškojo kampo sukimo*) matavimai buvo atlikti 7 kHz dažniu. Rampos kintamojo kontakto laiko impulsų forma buvo naudojama visuose CP MAS eksperimentuose, kontaktinis laikas 3,9 ms.  $^1\text{H } \pi/2$  polarizuojantis impulsas 2,5  $\mu\text{s}$ , pasikartojimo trukmė – 2 s. Visiems matavimams naudojamas 4 mm 80  $\mu\text{l}$  cirkonio rotorius. Spektrai su 3020 laiko domeno taškais gauti naudojant 256 nuskaitymus. Rezultatai buvo apdoroti naudojant „*Topsin 3.2*“ programinę įrangą. Kaip etalonas naudotas glicino  $^{13}\text{C}$  signalas ties 176,6 m. d.

### 2.2.11. Augalinių ekstraktų tyrimas efektyviaja skysčių chromatografija

Tyrimus atliko LSMU Analizinės ir toksikologinės chemijos bei Farmakognozijos katedrų darbuotojai. Efektyvios skysčių chromatografijos (ESC) metodu įvertinta kokybinė ir kiekybinė augalinių ekstraktų sudėtis.

Chromatografinis atskyrimas ir smailių identifikavimas atliktas taikant modifikuotą Europos farmakopėjos monografijos 01/2010:2389 procedūrą. Skirstymas atliktas chromatografinė sistema *Waters 2965* su detektoriumi *Waters 996 PDA* ir kolonėle *ACE column* (250×4,6 mm, 5  $\mu\text{m}$ , *MAC-MOD Analytical, Inc.*). Judrioji fazė buvo sudaryta iš fosforo rūgšties ir vandens mišinio (0,5:99,5 V/V) (tirpalas A) ir iš fosforo rūgšties ir acetonitrilo mišinio (0,5:99,5 V/V) (tirpalas B). Taikytas gradientinis eliuavimas, gradiento kitimas: 0–1 min. – 8 % B (92 % A), 20–33 min. – 25 % B (75 % A), 33–35 min. – 100 % B (0 % A). Judrios fazės tėkmės greitis buvo 1,2 ml/min. Chlorogeno rūgšties (CLR) izomerai ir kiti fenoliniai junginiai analizuoti 190–400 nm intervale, kiekybiniam CLR izomerų įvertinimui taikytas 324 nm bangos ilgis.

Tiriamieji mėginiai buvo filtruoti pro 0,45  $\mu\text{m}$  porų diametro filtrus. Analitės identifikuotos pagal sulaikymo trukmes ir spektrines charakteristikas etaloninių tirpalų junginių, įsigytų iš *Sigma-Aldrich*. Kiekybinei analizei naudotas chlorogeno etalonas (*Sigma Aldrich*), skaičiavimams naudota kalibracijos grafiko funkcija  $Y=25305,64X$ .

### 2.2.12. Fenolinių rūgščių ar augalinių ekstraktų atpalaidavimo iš sudarytų kompleksų tyrimas

0,1 g absoliučiai sausų kompleksų mikrogranulių ar miltelių užpilta 50 ml atitinkamo tirpalo ir maišyta 300 rpm greičiu  $20 \pm 1$  °C temperatūroje 30 min. Po to bandiniai filtruoti pro stiklo filtrą ir filtrate nustatyta likutinė fenolinės rūgšties ar augalinio ekstrakto koncentracija. Atpalaiduotos fenolinės rūgšties ar augalinio ekstrakto kiekis apskaičiuotas, įvertinus tirtose mikrogranulėse (milteliuose) pradinės esančios fenolinės rūgšties ar augalinio ekstrakto koncentracijos ir filtrate nustatytos bioaktyviosios medžiagos koncentracijos pokytį. Atpalaidavimo tyrimuose naudotos terpės: distiliuotas vanduo, etanolis, 0,1 M HCl vandeninis tirpalas, fosfatinis buferinis tirpalas (pH = 6,8) ir acetatinis buferinis tirpalas (pH = 4,1).

### 2.2.13. Fenolinių rūgščių atpalaidavimo iš fenolinių rūgščių ir katijoninių polisacharidų kompleksų kinetiniai tyrimai

Į 5 ml talpos dializės kapsulę „Quix Sep“ suberta 0,2 g absoliučiai sausų kompleksų mikrogranulių ar miltelių. Tada į dializės kapsulę buvo įpilta 5 ml atitinkamo tirpalo ir kapsulė sandariai uždaryta dangteliu su pusiau pralaidžia modifikuotos celiuliozės dializės membrana (MWCO 10000–20000 Da, *Nadir®-Dialysierschlauch*). Dializės kapsulė įdėta į stiklinę su 100 ml atitinkamo atpalaidavimo terpe. Maišyta magnetine maišykle 300 aps./min. greičiu. Tam tikru laiko momentu buvo paimti 5 ml tirpalo bandiniai ir juose nustatyta atpalaiduotos FR koncentracija. Siekiant išlaikyti nepakitusių tirpalo tūrį bandymo metu, vietoje paimtų 5 ml tirpalo buvo įpilta 5 ml atpalaidavimo terpės. Atpalaidavimo tyrimuose naudotos terpės: 0,1 M vandeninis HCl tirpalas, acetatinio buferio (pH = 4,1) bei fosfatinio buferio (pH = 6,8) tirpalai.

Kinetinėms kreivėms aprašyti naudotos pseudo-pirmojo (2.15) ir pseudo-antrojo (2.16) laipsnio kinetinės lygtys, kurių formulės:

$$\frac{1}{q_t} = \left(\frac{k_1}{q_1}\right) \left(\frac{1}{t}\right) + \frac{1}{q_e}, \quad (2.15)$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{q_e} \cdot t + \frac{1}{k_2 \cdot q_e^2}, \quad (2.16)$$

čia  $q_t$  – atpalaiduotos rūgšties kiekis laiko momentu  $t$  (min.), g/g;  $q_e$  – atpalaiduotos rūgšties kiekis pusiausvyros sąlygomis, g/g;  $k_1$  – pseudo-pirmojo laipsnio greičio konstanta, 1/min;  $k_2$  – pseudo-antrojo laipsnio greičio konstanta, g/g·min.

### 2.2.14. Antioksidacinio efektyvumo įvertinimas

Antioksidacinis fenolinių rūgščių, TKK ir sudarytų kompleksų su TKK efektyvumas įvertintas pagal etanolinio 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo tirpalo spalvos pasikeitimą (DPPH• metodas) [144]. Į 5 ml dializės kapsulę „Quix Sep“ suberta 0,01 g absoliučiai sausų kompleksų mikrogranulių. Tada į kapsulę buvo įpilta 5 ml acetatinio buferinio tirpalo (pH = 4,1) ir kapsulė sandariai uždaryta dangteliu su filtriniu popieriumi. Dializės kapsulė įdėta į stiklinę su 75 ml 0,004 % etanolinio DPPH• tirpalo, praskiesto acetatinio buferiniu tirpalu (pH = 4,1) santykiu 4 : 1. Maišyta magnetine maišykle 300 aps./min. greičiu 20 °C temperatūroje. Tam tikru laiko momentu spektrofotometru *PG Instruments T60 UV/Vis* išmatuota 517 nm bangos ilgio monochromatinio spindulio sugertis tiriamuoju tirpalu. Analogiškai įvertintas katijoninių krakmolo darinių ir fenolinių rūgščių antioksidacinis poveikis. DPPH• laisvųjų radikalų sujungimas (%) apskaičiuotas taikant formulę:

$$DPPH^{\bullet} = \frac{A_k - A_B}{A_k} \cdot 100 \%, \quad (2.17)$$

čia  $A_k$  – šviesos sugertis pradinio DPPH• tirpalu;  $A_B$  – šviesos sugertis DPPH• tirpalu laiko momentu  $t$ , sant.v.

Antioksidacinės augalinių ekstraktų, TKK, ChZ ir sudarytų kompleksų su TKK ir ChZ savybės įvertintos taikant modifikuotą 2,2-azino-bis-3-etilbenziazolin-6-sulfono rūgšties radikalą (ABTS<sup>•+</sup>) metodą [145]. ABTS<sup>•+</sup> tirpalas gautas maišant 7 mM ABTS vandeninį tirpalą su 2,45 mM kalio persulfato tirpalu, paliekant mišinį tamsoje, kambario temperatūroje 12–16 valandų. Gautas ABTS<sup>•+</sup> tirpalas yra stabilus apie 2 dienas laikant tamsoje, kambario temperatūroje. TKK ir augalinių ekstraktų tyrimo atveju, ABTS<sup>•+</sup> tirpalas buvo skiedžiamas acetatiniu buferiniu tirpalu (pH = 4,1), o ChZ ir augalinių ekstraktų atveju – fosfatiniu buferiniu tirpalu (pH = 6,8) taip, kad 734 nm monochromatinio spindulio sugertis tiriamuoju tirpalu būtų  $1,0 \pm 0,02$ .

Atitinkamas kiekis komplekso mikrogranulių užpildtas 100 ml praskiesto ABTS<sup>•+</sup> tirpalu. Tam tikru laiko momentu spektrofotometru *PG Instruments T60 UV/Vis* išmatuota 734 nm bangos ilgio monochromatinio spindulio sugertis tiriamuoju tirpalu. ABTS<sup>•+</sup> laisvųjų radikalų sujungimas (%) apskaičiuotas taikant formulę:

$$ABTS^{•+} = \frac{A_k - A_B}{A_k} \cdot 100 \%, \quad (2.18)$$

čia  $A_k$  – šviesos sugertis pradiniu ABTS<sup>•+</sup> tirpalu;  $A_B$  – šviesos sugertis ABTS<sup>•+</sup> tirpalu laiko momentu  $t$ , sant.v.

### 2.2.15 Aktyvios vaistažolių talpyklos su biologiškai aktyvių junginių turinčia danga prototipo paruošimas ir savybių įvertinimas

*Aktyvios vaistažolių talpyklos su chitozano ir žaliųjų kavos pupelių ekstrakto danga prototipo paruošimas.* Aktyvios dangos (AD) formavimui paruoštas 5 % ChZ/ŽKPE tirpalas, turintis 0,1860 g/g adsorbuoto ŽKPE. Tam tikslui atitinkamas kiekis absoliučiai sausų komplekso miltelių ištirpintas 1 % acto rūgšties vandeniniame tirpale. AD tirpalas paskleistas ant filtro popieriaus „Dynamore“ 121/2 juostos traferetu, naudojant plokščią sietinį šabloną. Filtro popieriaus juosta su AD išdžiovinta ir naudota trijų skirtingų rūšių vaistažolėms pakuoti. Į filtro popierių su AD buvo supakuota po 2 g margainių vaisių, „Detoxoset“ ir sukatžolės arbatžolių (gautos iš UAB „Švenčionių vaistažolės“).

*Aktyvios vaistažolių talpyklos su chitozano ir žaliųjų kavos pupelių, mėlynių uogų ekstrakto danga prototipo paruošimas.* AD formavimui paruoštas 6 % ChZ/ŽKPE tirpalas, turintis 0,1860 g/g adsorbuoto ŽKPE. Tam tikslui atitinkamas kiekis absoliučiai sausų komplekso miltelių ištirpintas 20 ml 1 % acto rūgšties vandeniniame tirpale ir įpilta 5 ml mėlynių uogų vandeninio ekstrakto. AD tirpalas paskleistas ant filtro popieriaus „Dynamore“ 121/2 juostos traferetu, naudojant plokščią sietinį šabloną. Filtro popieriaus juosta su AD išdžiovinta ir naudota trijų skirtingų rūšių vaistažolėms pakuoti. Į filtro popierių su AD buvo supakuota po 2 g margainių vaisių, „Detoxoset“ ir sukatžolių žolės arbatžolių (gautos iš UAB „Švenčionių vaistažolės“).

Vaistažolių talpyklos su dviejų tipų AD užpildtos 150 ml verdančiu vandeniu. Po 5 ir 10 min buvo paimta 5 ml tirpalo kokybinei ir kiekybinei chlorogeno rūgšties izomerų (chlorogeno, neochlorogeno ir kriptochlorogeno izomerų) sudėčiai ir

bendram fenolinių junginių kiekiui nustatyti bei 1 ml antioksidaciniam efektyvumui įvertinti. Analogiškas bandymas atliktas su vaistažolių talpyklomis be AD.

**Chromatografinė analizė.** Analizė atlikta naudojant chromatografinę sistemą *Acquity H-class UPLC system*. Skirstymui buvo naudota kolonėlė *Acquity BEH column* (2,1×50mm, 1,7 μm). Judrioji fazė buvo sudaryta iš 0,1 % skruzdžių rūgšties vadininio tirpalo (tirpalas A) ir acetonitrilo (tirpalas B). Judrios fazės tėkmės greitis buvo 0,4 ml/min. Gradientinis judrios fazės komponentų sudėties kitimas buvo formuojamas tokiomis proporcijomis: 0 min. – 2 % tirpalo B; 0,5–2,0 min. – 15 % tirpalo B; 4,0–5,5 min. – 50 % tirpalo B; 5,5–6,5 min. 100 % tirpalo B. Naudotas 1 μl injekcijos tūris. Eliuato šviesos sugerties analizė atlikta *Acquity eLambda PDA detektoriumi*. Kiekybei įvertinti naudotas išorinio standarto metodas. Masių spektrometrinis detektorius *Xevo TQD* buvo naudojamas smailių tapatumui patvirtinti. Naudotas neigiamas elektropurkštuvinės jonizacijos režimas. Kapiliaro įtampa buvo 1,5 kV, jonizacijos šaltinio temperatūra 150°C, išgarinimo temperatūra: 500°C, išgarinimo dujų srautas 1000 l/h, kūgio dujų srautas 25l/h.

**Antioksidacinių savybių įvertinimas.** Abiejų tipų AD antioksidacinis aktyvumas įvertintas naudojant modifikuotą 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfono rūgšties radikalo (ABTS<sup>+</sup>) metodą: 1 ml tirpalo, gauto naudojant talpyklas be aktyvios dangos ir talpyklas su aktyvia danga, užpildtas 74 ml ABTS<sup>+</sup> tirpalo, gauto sumaišius 7 mM ABTS reagento ir 2,45 mM K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> tirpalus santykiu 1:1 bei skiedžiant gautą ABTS<sup>+</sup> tirpalą distiliuotu vandeniu taip, kad 734 nm monochromatinio spindulio sugertis būtų 1,0 ± 0,02. Gautas mišinys maišytas magnetine maišykle 7 min. ir išmatuota 734 nm bangos ilgio monochromatinio spindulio sugertis gautu mišiniu. Antioksidacinis efektyvumas apskaičiuotas taikant formulę:

$$AOEF = \frac{A_k - A_B}{A_k} \cdot 100 \%, \quad (2.19)$$

čia  $A_k$  – šviesos sugertis pradinio ABTS<sup>+</sup> tirpalu;  $A_B$  – šviesos sugertis ABTS<sup>+</sup> tirpalu laiko momentu  $t$ , sant.v.

#### 2.4. Rezultatų tikslumo ir patikimumo įvertinimas

Bandymų rezultatai buvo apskaičiuoti kaip aritmetiniai vidurkiai formule:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^N X_i}{N}, \quad (2.20)$$

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

Standartinis nuokrypis apskaičiuotas taikant formulę:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (\bar{X} - X_i)^2}{N - 1}}, \quad (2.21)$$

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 apskaičiuota mažiausių kvadratų metodu. Tiesinės koreliacijos (Pirsono) koeficientas  $R$  apskaičiuotas taikant formulę:

$$R = \frac{n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{[n\sum x^2 - (\sum x)^2][n\sum y^2 - (\sum y)^2]}} \quad (2.22)$$

čia  $x$  – nepriklausomo kintamojo vertės;  $y$  – priklausomo kintamojo vertės;  $n$  – bandymų skaičius.

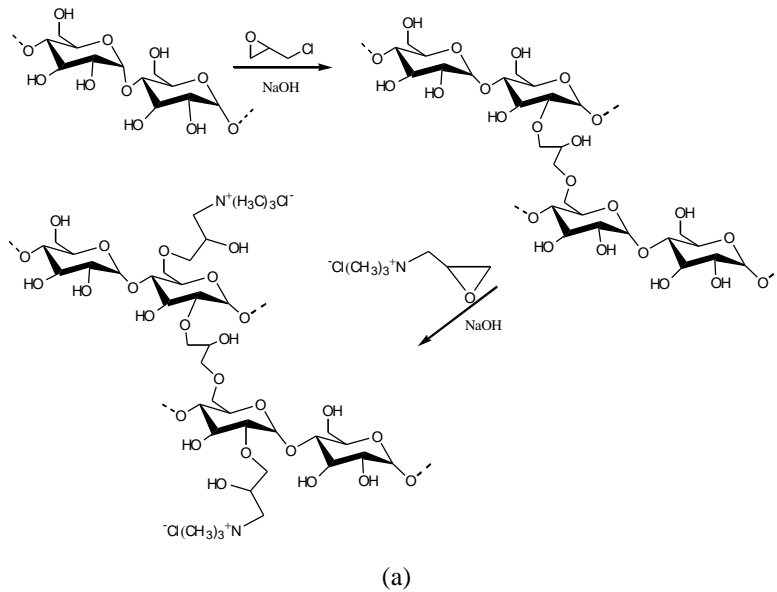
Koreliacija įvertinta pagal šio koeficiento vertę, pakeltą kvadratu ( $R^2$ ).

### 3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

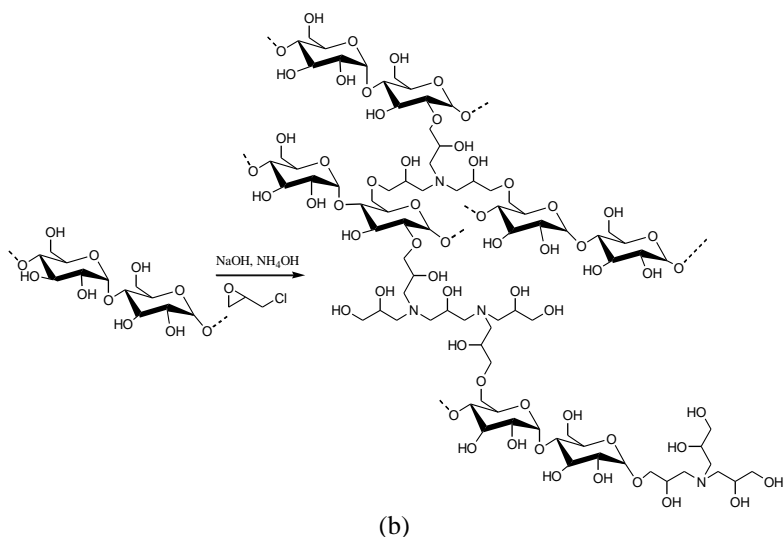
#### 3.1. Ketvirtinių amonio grupių ir tretinių amino grupių turinčių tinklinio katijoninio krakmolo darinių sintezė

Ketvirtinių amonio grupių turinčio tinklinio katijoninio krakmolo (TKK) sintezė vykdyta dviem etapais [146]. Pirmiausiai buvo susintetintas tinklinis krakmolas, kuris buvo katijonizuotas eterinant epichlorhidrinu šarminėje terpėje. TKK sintezės (žr. 3.1 pav., a) metu, ketvirtinės amonio grupės prie tinklinio krakmolo molekulės yra prijungiamos kaip šoninės grandys ir katijoninių grupių pakeitimo laipsnis (PL) gali būti tiksliai apskaičiuotas pagal esančio azoto kiekį. Nustatyta, kad buvo susintetintas 2,6 % azoto turintis TKK, kurio PL lygus 0,42.

Jei krakmolo tinklinimo reakcijos metu į reakcijos mišinį įdedama amonio hidroksido (žr. 3.1 pav., b), azoto turintys tilteliai gali susiformuoti tarp dviejų ar trijų krakmolo  $\alpha$ -D-gliukopiranozės likučių (AGL) [147]. Be to, tretinės amino grupės gali būti prijungtos prie krakmolo AGL ir nesuformuojant tinklinės struktūros. Dėl šios priežasties, pagal esančio azoto kiekį yra sudėtinga tiksliai apskaičiuoti tretinių amino grupių turinčio tinklinio katijoninio krakmolo (TTAK) katijoninių grupių PL. Todėl skaičiuojant buvo priimta, kad visų trijų rūšių tretinės amino grupės, suformuotos lygiomis dalimis, t. y. esant azoto kiekiui 1,5 % TTAK PL buvo lygus 0,44.

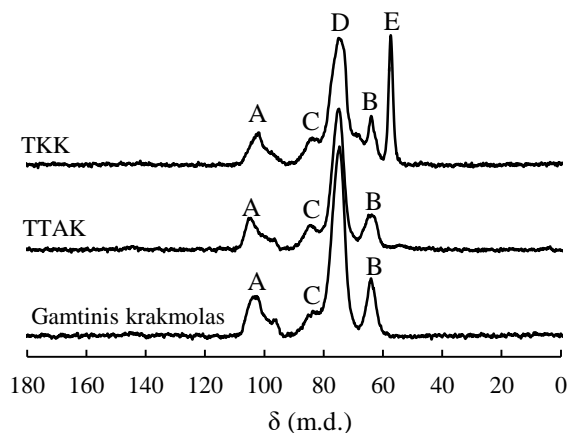






**3.1 pav.** Ketvirtinių amonio grupių (a) ir tretinių amino grupių (b) turinčių tinklinio katijoninio krakmolo darinių gavimo schema

Susintetintų tinklinių katijoninių krakmolų struktūra analizuota kietos būsenos  $^{13}\text{C}$  CP/MAS BMR spektroskopijos metodu. Gamtinio ir modifikuotų krakmolų  $^{13}\text{C}$  CP/MAS BMR spektrai pateikti 3.2 paveiksle.

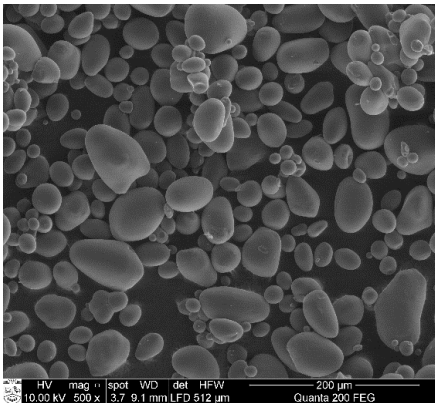


**3.2 pav.** Gamtinio krakmolo, TKK ir TTAK kietos būsenos  $^{13}\text{C}$  CP/MAS BMR spektrai

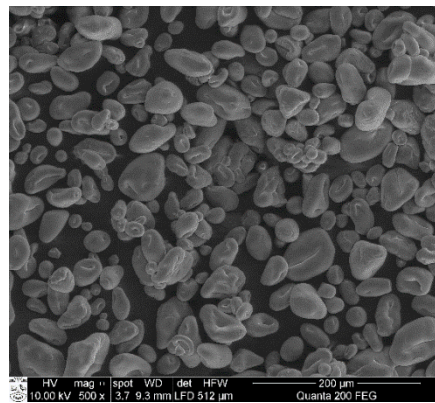
Kaip matyti iš 3.2 pav., gamtinio krakmolo spektrui būdingos tokios smailės: smailė ties 102 m. d. (smailė *A*) priskiriama anomeriniam metingrupės anglies atomui ( $\text{C}_1$ ) ir smailė ties 62 m. d. (smailė *B*) priskiriama  $-\text{CH}_2\text{OH}$  karbeno anglies atomui ( $\text{C}_6$ ) [148, 149], o smailės ties 82 m. d. (smailė *C*) ir 74 m. d. (smailė *D*) atitinkamai būdingos  $\text{C}_4$  ir  $\text{C}_{2,3,5}$  anglies atomams [74]. Po tinklinimo ir katijonizavimo reakcijų stebimi akivaizdūs krakmolo struktūros pakyciai. TKK ir TATK spektruose smailės *A* rezoliucija ir intensyvumas dėl didesnio tinklintų polimerų molekulių standumo

sumažėjo [150]. TTK spektre padidėjo smailės *C* ir srities tarp smailių *B* ir *D* intensyvumas ir tai gali būti paaiškinta papildomų smailių ties 66 m. d. ( $-\text{CH}_2$ ) ir 88 m. d. ( $-\text{CH}$ ) atsiradimu katjonizuojant EPTMAC. Taip pat dėl  $\text{C}_6$  anglies atomo reakcijos su EPTMAC, smailės *B* intensyvumas sumažėjo [151]. Be to, TTK spektre ties 57 m. d. esanti smailė (smailė *E*) priskiriama prie ketvirtinių amino grupių, prijungtų metilgrupių anglies atomams [152]. Paminėtina tai, kad TTK spektre taip pat padidėjo smailės *C* ir sumažėjo smailės *B*, kuri taip pat ir praplatėjo, kadangi reakcija su  $\text{NH}_4\text{OH}$ , matomai, vyko tik keliose  $\text{C}_6$  padėtyse [147]. TTK spektre stebimas žymus smailės intensyvumo *D* sumažėjimas, patvirtinantis sėkmingą krakmolo modifikavimą. Tačiau, TTK struktūroje esančių poliamino grandinėlių  $\text{N}-\text{CH}_2$ – grupėms charakteringo signalo smailė ties 77 m. d. [153] nustelbiama stipresnio  $\text{C}_{2,3,5}$  anglies atomų signalo smailės.

Tretinių amino grupių (TTAK) ir ketvirtinių amonio grupių (TKK) turinčių tinklinio katjoninio krakmolo darinių sintezės metu gautos granulės (žr. 3.3 pav.). Išmatavus šių granulių dydį nustatyta, kad TTK buvo būdingos 20–74  $\mu\text{m}$  dydžio granulės, kurių vidutinis dydis buvo  $34,53 \pm 4,99 \mu\text{m}$ . TTK granulių dydis buvo nuo 20 iki 54  $\mu\text{m}$ , o vidutinis jų dydis –  $31,77 \pm 5,36 \mu\text{m}$ .



(a)



(b)

**3.3 pav.** TTK (a) ir TTAK (b) mikrogranulių skenuojančios elektroninės mikroskopijos nuotraukos (didinimas 500 kartų)

### 3.2. Chlorogeno rūgšties imobilizavimo tretinių amino grupių ir ketvirtinių amonio grupių turinčiais tinklinio katjoninio krakmolo dariniais tyrimai

Katjoninių polisacharidų ir fenolinių rūgščių kompleksams sudaryti yra svarbi ne tik šių rūgščių struktūra ar karboksigrupių disociacija, bet ir polimero katjoninių grupių prigimtis. Stipriomis bazinėmis savybėmis pasižyminčių ketvirtinių amonio grupių turinčių junginių disociacija beveik nepriklauso nuo tirpalo pH vertės, nes jų funkcinės grupės yra jonizuotos tiek rūgščiuose, tiek šarminiuose tirpaluose [146]. Tačiau fenolinių rūgščių imobilizavimas mažo bazingumo junginiais, pavyzdžiui, tretinių amino grupių turinčiu tinkliniu katjoniniu krakmolu, gali priklausyti nuo abiejų junginių jonogeninių grupių disociacijos laipsnio, kurį lemia tirpalo pH vertė. Todėl pirmajame darbo etape buvo palygintas tretinių amino grupių (TTAK) ir

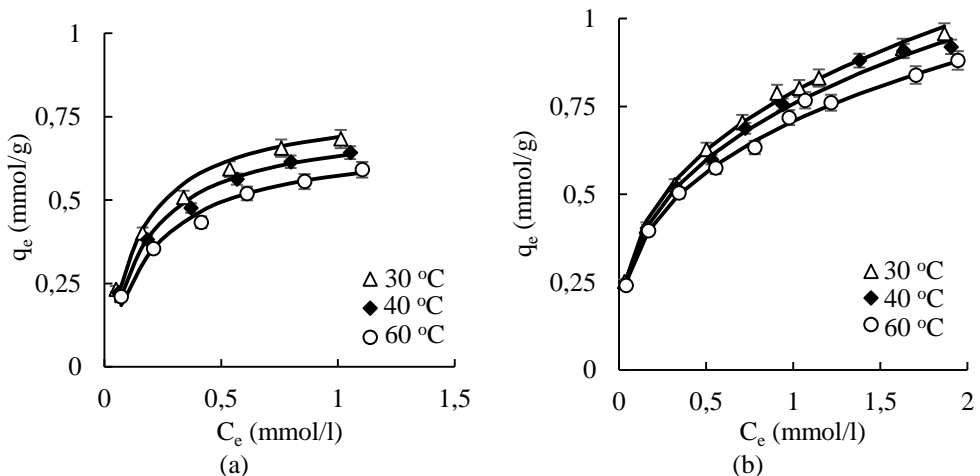
ketvirtinių amonio grupių (TKK) turinčių tinklinio katijoninio krakmolo darinių gebėjimas sudaryti kompleksus su fenolinėmis rūgštimis.

TTAK ir TKK mikrogranulės gali adsorbuoti įvairius anjoninius junginius [150, 154, 155]. Dažniausiai augaluose randama hidroksicinamono rūgšties darinys yra chlorogeno rūgštis (kavos ir chino rūgščių esteris) [156]. Žalios kavos pupelės, turinčios 4–14 % CLR, yra turtingiausias šios rūgšties šaltinis [157]. Taip pat jos gausu artišokuose, slyvose, bulvėse ir kituose augaluose. Todėl fenolinių rūgščių ir TTAK ar TKK kompleksams sudaryti bei TTAK ir TKK adsorbicinėms savybėms įvertinti buvo pasirinkta chlorogeno rūgštis.

### 3.2.1. Chlorogeno rūgšties pusiausvyrosios adsorbcijos tretinių amino grupių ir ketvirtinių amonio grupių turinčiais tinklinio katijoninio krakmolo dariniais tyrimai

Remiantis moklinės literatūros duomenimis, CLR disociacijos konstantos  $pK_a$  vertė yra lygi 3,58 [158]. Kadangi pusiausvyrosios adsorbcijos bandymuose pradinė CLR tirpalo pH vertė buvo lygi  $3,15 \pm 0,1$ , tam tikras fenolinės rūgšties molekulių kiekis tirpale buvo jonizuotas. Taigi, tik skirtingas tretinių amino grupių ir ketvirtinių amonio grupių bazingumas galėtų lemti jų sąveiką su CLR. TKK ir TTAK sorbcinių savybių palyginimui buvo pasirinktas pusiausvyrosios adsorbcijos metodas ir jam aprašyti taikyti matematiniai adsorbcijos modeliai.

CLR adsorbcija abiem modifikuoto krakmolo dariniais vyko greitai, per pirmąsias 20–30 min. nuo adsorbcijos pradžios. Tam, kad pusiausvyra būtų iki galo pasiekta, adsorbcija buvo vykdoma 60 min. Skirtingos temperatūros sąlygomis gautos adsorbcijos izotermės pateiktos 3.4 paveiksle. Kaip matyti iš paveiksle pateiktų duomenų, tiek TKK, tiek TTAK adsorbuotos CLR kiekis mažėja didėjant temperatūrai. Adsorbcijos izotermėms aprašyti taikyti dviejų kintamųjų Lengmiūro, Freundlichio ir Dubinino-Radushkevicho adsorbcijos modeliai.



**3.4 pav.** CLR adsorbcijos TTAK (a) ir TKK (b) mikrogranulėmis izotermės skirtingose temperatūrose. Taškai atitinka eksperimentinius duomenis, kreivės nubraižytos naudojant Lengmiūro adsorbcijos modelio rodiklius

Apskaičiuotos CLR adsorbcijos TTAK ir TKK mikrogranulėmis adsorbcijos modelių svarbiausių parametų vertės kartu su tiesės lygties pasiklovimo lygio  $R^2$  vertėmis pateiktos 3.1 lentelėje.

**3.1 lentelė.** CLR adsorbcijos TTAK ir TKK mikrogranulėmis izotermių Lengmiūro, Freundlichio ir Dubinino-Radushkevichio adsorbcijos modelių rodikliai

$T$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	Lengmiūro modelis			Freundlichio modelis		Dubinino– Radushkevichio modelis	
	$Q_L$ (mmol/g)	$K_L$ (1/mol)	$R^2$	$n_F$	$R^2$	$E_{DR}$ (kJ/mol)	$R^2$
<b>TTAK (PL = 0,44)</b>							
30	0,79	6630	0,9962	3,3	0,9908	12,8	0,9950
40	0,74	5860	0,9969	3,2	0,9889	13,0	0,9928
60	0,69	5130	0,9954	3,1	0,9866	13,2	0,9888
<b>TKK (PL = 0,42)</b>							
30	1,11	2770	0,9934	3,0	0,9971	11,6	0,9980
40	1,10	2650	0,9921	3,0	0,9963	11,7	0,9940
60	1,02	2640	0,9882	3,1	0,9966	12,0	0,9926

Tiesės lygties pasiklovimo lygio  $R^2 > 0,99$  vertės rodo, kad CLR adsorbciją TTAK ir TKK mikrogranulėmis gerai aprašo Lengmiūro adsorbcijos modelis. Kiek mažesnės  $R^2$  vertės ( $R^2 \sim 0,98$ ) gautos CLR adsorbcijos TTAK 60  $^{\circ}\text{C}$  temperatūroje metu, taikant Freundlichio ir Dubinino-Radushkevichio adsorbcijos modelius ir 40  $^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, aprašant adsorbcijos izotermes Freundlichio adsorbcijos modeliu.

Lengmiūro adsorbcijos modelis [140] yra vienas iš dažniausiai taikomų adsorbcijos modelių, ypač aprašant joninių junginių adsorbciją įvairiais adsorbentais, kuriuo remiantis 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. Todėl remiantis šiuo adsorbcijos modeliu, CLR adsorbuojama abiejų skirtingų modifikuotų krakmolų aktyviais centrais, t. y. ketvirtinėmis amonio grupėmis (TKK) ir tretinėmis amino grupėmis (TTAK). Adsorbcijos varomoji jėga yra elektrostatinė sąveika tarp šių katijoninių grupių ir CLR karboksigrupių. Lengmiūro sorbcinės gebos  $Q_L$  vertės rodo, kad CLR buvo adsorbuota pusiausvyros sąlygomis. Kaip matyti iš 3.1 lent. pateiktų duomenų, CLR adsorbcijos TKK atveju apskaičiuotos  $Q_L$  vertės yra apie 1,5 karto didesnės už šias vertes, gautas CLR adsorbuojant TTAK visose adsorbcijos temperatūrose. Viena iš šio skirtumo priežasčių galėtų būti mažesnis tikrasis PL, t. y., galėjo susidaryti didesnis, tiltelių tarp dviejų krakmolo AGL ar tretinių amino grupių prie AGL nesuformuojant tinklo, kiekis (žr. 3.1 pav., b). Be to, adsorbuojant fenolinius junginius negalima ignoruoti erdvinį efektų, kuriuos lemia adsorbato ir adsorbento struktūra [159]. Taip pat, krakmolo modifikavimas gali lemti erdvinis paviršinius trukdymus,

dėl kurių adsorbcijos mechanizmas tampa sudėtingesnis. Erdvinių efektų įtaka matoma iš TTK katjoninių grupių efektyvumo verčių ( $EF$ ) sujungiant CLR [160]. Apskaičiavus TTK (kurio pakeitimo laipsnis 0,42) katjoninių grupių kiekį yra žinoma, kad 1 g TTK turi 0,00186 ekv./g ketvirtinių amonio grupių. CLR adsorbcijos TTK atveju, priklausomai nuo adsorbcijos temperatūros,  $EF$  vertės yra nuo 0,56 iki 0,61. Taigi, tik kiek daugiau nei pusė TTK katjoninių grupių dalyvauja sąveikoje su CLR. CLR adsorbcijos TTAK atveju,  $EF$  verčių neįmanoma apskaičiuoti, nes TTAK sintezės metu azoto turintys tilteliai susiformuoja tarp trijų ar dviejų krakmolo AGL, ar tretinės amino grupės prijungiamos prie AGL nesuformuojant tinklo (žr. 3.1 pav., b). Dėl šios priežasties negalima tiksliai apskaičiuoti TTAK katjoninių grupių ekvivaletu.

Lengmiūrio pusiausvyros konstantos  $K_L$  vertė nusako adsorbcijos ir desorbcijos procesų greičių santykį. CLR adsorbcijos TTAK atveju,  $K_L$  vertės yra 2–2,4 karto didesnės, lyginant su  $K_L$  vertėmis, gautomis CLR adsorbuojant TTK (žr. 3.1 lent.). Tai rodo, kad fenolinę rūgštį adsorbuojant TTAK proceso greitis yra didesnis už CLR adsorbcijos TTK greitį. Tokie adsorbcijos greičio skirtumai gali būti susiję su skirtingu katjoninių grupių bazingumu.

Freundlichio adsorbcijos modelyje teigiama [141], kad adsorbato kiekis adsorbente didėja tol, kol didėja adsorbato koncentracija tirpale (daugiasluoksnė adsorbcija). Šis modelis aprašo adsorbciją ant heterogeninių paviršių, turinčių energijos požįriū vienodus centrus ir galimą sąveiką 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 [161]. Kai  $n_F$  vertės yra tarp 1 ir 2, adsorbcija vyksta sunkiai, o jeigu  $n_F < 1$ , sąlygos adsorbcijai yra nepalankios.

Daugiau informacijos apie adsorbcijos prigimtį ir mechanizmą suteikia Dubinino-Radushkevicho adsorbcijos modelis [142], kuris paremtas Polanyi adsorbcijos potencialo teorija ir Dubinino prielaida, kad adsorbato užpildo adsorbento mikroporų tūrį, o ne sluoksnis po sluoksnio padengia adsorbento porų sienes. Iš paskaičiuotų Dubinino ir Radushkevicho adsorbcijos energijos ( $E_{DR}$ ) verčių galima spręsti apie adsorbcijos prigimtį [142]: 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.

Įdomu tai, kad mažo bazingumo tretinės amino grupės aktyviau nei TTK ketvirtinės amonio grupės dalyvauja elektrostatinėje sąveikoje su CLR karboksigrupėmis. Freundlichio konstantos  $n_F$  ir Dubinino-Radushkevicho adsorbcijos energijos  $E_{DR}$  vertės patvirtina šią prielaidą. Kaip matyti iš 3.1 lent. pateiktų duomenų,  $n_F$  vertės yra didesnės nei 3, o  $E_{DR}$  vertės varijuoja tarp 11,6 kJ/mol ir 13,2 kJ/mol. Tai rodo, kad sąlygos CLR adsorbcijai abiem tinklinio katjoninio krakmolo dariniais yra palankios ir jonų mainų mechanizmas vyrauja adsorbcijos metu bei susidarant CLR ir tinklinio katjoninio krakmolo darinių kompleksams. Tačiau, kiek didesnės  $n_F$  ir  $E_{DR}$  vertės nustatytos CLR adsorbcijos TTAK metu rodo, kad tretinės amino grupės yra tinkamesnės adsorbuojant CLR.

Naudojant adsorbcijos izotermių duomenis pagal metodinėje dalyje pateiktas (2.13) ir (2.14) formules, buvo apskaičiuoti termodinaminiai CLR adsorbcijos tinklinio katijoninio krakmolo darinių mikrogranulėmis rodikliai. Apskaičiuoti termodinaminiai CLR adsorbcijos TTAK ir TKK mikrogranulėmis rodikliai kartu su tiesės lygčių pasiklovimo lygio  $R^2$  vertėmis pateikti 3.2 lentelėje.

**3.2 lentelė.** CLR adsorbcijos TKK ir TTAK mikrogranulėmis termodinaminiai rodikliai

$T (^{\circ}C)$	$K_c$	$\Delta G$ (kJ/mol)	$R^2$	$\Delta H$ (kJ/mol)	$\Delta S$ (J/mol·K)	$R^2$
<b>TTAK (PL = 0,44)</b>						
30	12,40	-6,4	0,9952			
40	9,46	-5,9	0,9915	-21,2	-49,0	0,9960
60	7,57	-5,4	0,9891			
<b>TKK (PL = 0,42)</b>						
30	7,84	-5,2	0,9936			
40	7,06	-5,1	0,9768	-8,1	-9,6	0,9999
60	5,87	-4,9	0,9750			

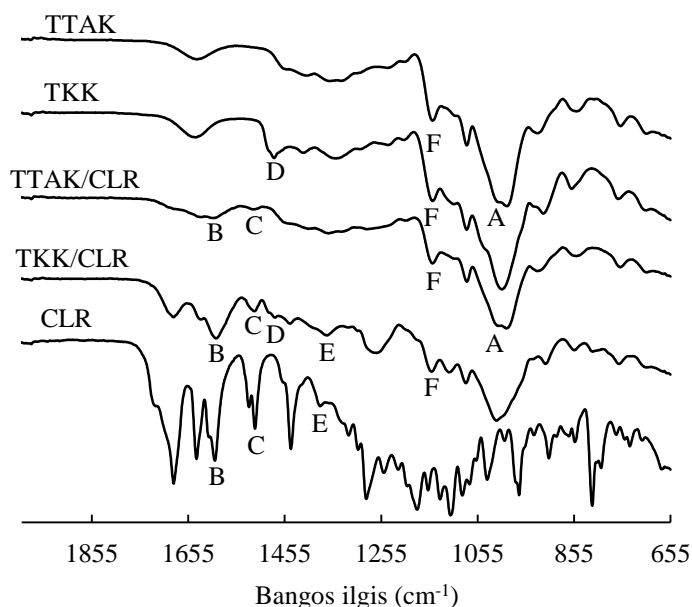
Kaip matyti iš 3.2 lent. pateiktų duomenų, CLR adsorbcijos tiek TTAK, tiek TKK atveju gautos neigiamos Gibso laisvosios energijos pokyčio  $\Delta G$  vertės rodo adsorbcijos spontaniškumą. Be to, CLR adsorbcijos TTAK atveju gautos didesnės neigiamos  $\Delta G$  ir entalpijos  $\Delta H$  pokyčių vertės patvirtina didesnę tretinių amino grupių giminiškumą CLR ir didesnį proceso egzotermiškumą.

Entropijos  $\Delta S$  pokyčio vertės yra sistemos tvarkos matas adsorbcijos proceso metu. CLR adsorbcijos skirtingais modifikuoto krakmolo dariniais metu gautos neigiamos entropijos  $\Delta S$  pokyčio vertės rodo, kad sistemos tvarka procesų metu žymiai padidėjo.

### 3.2.2. Chlorogeno rūgšties ir tinklinio katijoninio krakmolo darinių kompleksų FT-IR spektroskopijos tyrimai

Buvo užrašyti ir išanalizuoti TTAK ir TKK mikrogranulių bei CLR ir tinklinio katijoninio krakmolo darinių kompleksų mikrogranulių FT-IR spektrai (žr. 3.5 pav.). Prieš analizę visi spektrai, išskyrus CLR spektrą, buvo normalizuoti atsižvelgiant į smailės ties  $1159 \text{ cm}^{-1}$  (smailė *F*), charakteringos  $-C-O-C-$  ryšiui  $\alpha$ -D-gliukopiranozės likutyje, intensyvumą [53].

TTAK ir TTAK/CLR mikrogranulių spektruose stebima smailė ties  $1017 \text{ cm}^{-1}$  (smailė *A*) priskiriama tretinėms amino grupėms [150]. Tretinių amino grupių turinčio katijoninio krakmolo būdingųjų adsorbcijos smailių intensyvumo sumažėjimas vykstant dažiklių adsorbcijai taip pat buvo nustatytas kitų tyrėjų [150]. Smailės, būdingos CLR, matomos TTAK/CLR FT-IR spektruose: smailė ties  $1592 \text{ cm}^{-1}$  (smailė *B*) būdinga aromatinio žiedo virpesiams ir smailė ties  $1518 \text{ cm}^{-1}$  (smailė *C*) priskiriama konjuguoto  $-C=C-$  ryšio virpesiams [162]. TTAK/CLR spektre stebimas smailių *A*, *B* ir *C* intensyvumo sumažėjimas rodo sąveiką tarp TTAK tretinių amino grupių ir CLR karboksigrupių.



**3.5 pav.** TTAk, TKK, CLR ir sudarytų kompleksų FT-IR spektrai

TKK ir TKK/CLR FT-IR spektrams būdinga absorbcijos smailė ties  $1477\text{ cm}^{-1}$  (smailė *D*) priskiriama prie ketvirtinių amonio grupių, prijungtų metilgrupių virpesiams [152]. TKK/CLR spektre sumažėjęs smailės *D* intensyvumas patvirtina TKK ketvirtinių amonio grupių sąveiką su CLR karboksigrupėmis. Be to, TKK/CLR spektre esančių CLR charakteringų absorbcijos smailių intensyvumas taip pat yra mažesnis, lyginant su smailėmis CLR spektre: smailės *B* ir *C* bei smailė ties  $1375\text{ cm}^{-1}$  (smailė *E*) priklausančios fenolinių rūgščių karboksigrupėms [18].

Buvo užrašyti TTAk/CLR ir TKK/CLR  $^{13}\text{C}$  CP/MAS kietosios būsenos BMR spektrai, kuriuose buvo matomos tiek CLR, tiek modifikuotiems krakmolams būdingų signalų smailės.

### 3.2.3. Chlorogeno rūgšties atpalaidavimo iš chlorogeno rūgšties ir tinklinio katijoninio krakmolo darinių kompleksų mikrogranulių tyrimai

Buvo palygintas CLR atpalaidavimas iš TTAk/CLR ir TKK/CLR kompleksų mikrogranulių į skirtingas atpalaidavimo terpes, tokias kaip: 0,1 M HCl vandeninis tirpalas, distiliuotas vanduo, etanolis, fosfatinis ir acetatinis buferiniai tirpalai (žr. 3.3 lent.). TTAk/CLR ir TKK/CLR kompleksai gauti pagal 2.2.6 skyrelio metodinėje dalyje pateiktą aprašymą. Tyrimams naudotas vienodas kiekis TTAk/CLR ir TKK/CLR mikrogranulių, kurių 1 grame atitinkamai buvo 0,097 g ir 0,085 g adsorbuotos CLR. Tokiu būdu CLR koncentracija atpalaidavimo tirpale, esant 100 % fenolinės rūgšties atpalaidavimui iš TTAk/CLR ir TKK/CLR mikrogranulių, atitinkamai buvo 0,177 g/l ir 0,157 g/l.

**3.3 lentelė.** Iš TTAK/CLR ir TKK/CLR mikrogranulių atpalaiduotos CLR kiekis skirtingose atpalaidavimo terpėse per 30 min.

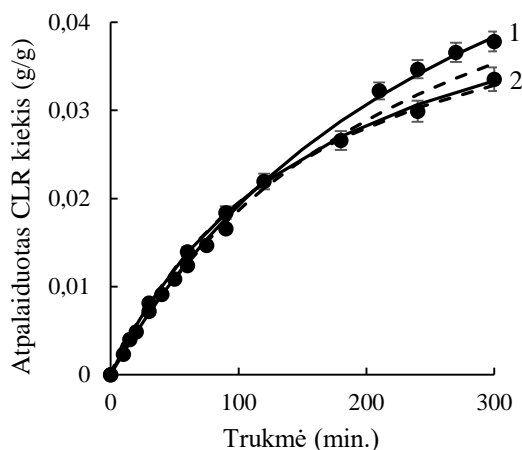
Atpalaidavimo terpė	Atpalaiduotas CLR kiekis, (g/l) / (%)	
	TTAK	TKK
0,1 M HCl vandeninis tirpalas (pH = 1)	0,177 / 100	0,134 / 84,9
Acetatinis buferinis tirpalas (pH = 4,1)	0,116 / 65,8	0,102 / 64,5
Fosfatinis buferinis tirpalas (pH = 6,8)	0,168 / 95,4	0,123 / 82,3
Distiliuotas vanduo	0,009 / 5,2	0,002 / 1,1
Etanolis	0 / 0	0 / 0

Kaip matyti iš 3.3 lent. pateiktų duomenų, CLR tiek iš TTAK, tiek iš TKK kompleksų mikrogranulių į gryną etanolį neatpalaiduojama. Į distiliuotą vandenį po 30 min. atpalaiduojama labai nedaug tik 1–5 % adsorbuotos CLR. Į buferinį acetatinį tirpalą, sudarytą iš acto rūgšties ir natrio acetato bei fosfatinį buferinį tirpalą, sudarytą iš dikalio vandenilio ir kalio divandenilio fosfatų, CLR atpalaiduojama daugiau: 64,5–65,8 % į acetatinį ir 82,3–95,4 % į fosfatinį. Daugiausia CLR net 84,9–100 % nuo galimo kiekio yra atpalaiduojama į 0,1 M HCl vandeninį tirpalą.

Apibendrinant gautus rezultatus reikia paminėti, kad tiek iš TTAK, tiek iš TKK kompleksų mikrogranulių stebima tokia pati atpalaiduotos CLR kiekio priklausomybė nuo terpės, t. y. atpalaiduotos CLR kiekis mažėja šia tvarka: 0,1 M HCl vandeninis tirpalas > fosfatinis buferinis tirpalas (pH = 6,8) > acetatinis buferinis tirpalas (pH = 4,1) > distiliuotas vanduo. Be to, matyti, kad CLR atpalaidavimą iš sudarytų kompleksų mikrogranulių lemia ne tik atpalaidavimo terpės pH vertė, bet taip pat buferiniuose tirpaluose esančios druskos.

Atpalaidavimo tyrimai parodė, kad efektyviausiai CLR iš TTAK/CLR ir TKK/CLR kompleksų mikrogranulių yra atpalaiduojama į 0,1 M HCl vandeninį tirpalą, kuris yra naudojamas kaip skrandžio modelinė terpė. Todėl buvo iširta TTAK ir TKK adsorbuotos CLR atpalaidavimo į 0,1 M HCl vandeninį tirpalą kinetika. Tyrimams naudotos TTAK/CLR ir TKK/CLR mikrogranulės, 1 grame atitinkamai turinčios 0,097 g ir 0,085 g adsorbuotos CLR. CLR atpalaidavimo iš TTAK ir TKK mikrogranulių į 0,1 M HCl vandeninį tirpalą kinetinės kreivės pateiktos 3.6 paveiksle.





**3.6 pav.** CLR atpalaidavimo iš TTAk/CLR (1) ir TKK/CLR (2) kompleksų mikrogranulių į 0,1 M HCl vandeninį tirpalą kinetinės kreivės. Taškai atitinka eksperimentinius duomenis, punktyrinės linijos nubraižytos naudojant I-ojo laipsnio kinetinės lygties rodiklius, išsistinės linijos – II-ojo laipsnio kinetinės lygties rodiklius

Naudojant metodinėje dalyje pateiktas pseudo-pirmojo (2.15) ir pseudo-antrojo (2.16) laipsnio kinetinių lygčių formules buvo apskaičiuoti CLR atpalaidavimo iš TTAk/CLR ir TKK/CLR kompleksų mikrogranulių kinetinių lygčių rodikliai. Apskaičiuotos pseudo-pirmojo ir pseudo-antrojo laipsnio kinetinių lygčių rodiklių vertės kartu su tiesės lygties pasiklivimo lygio  $R^2$  vertėmis pateiktos 3.4 lentelėje.

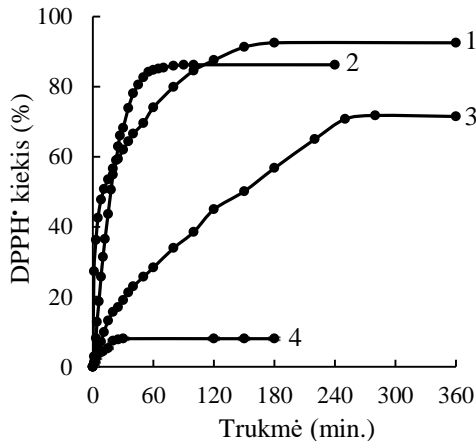
**3.4 lentelė.** CLR atpalaidavimo iš TTAk/CLR ir TKK/CLR kompleksų mikrogranulių į 0,1 M HCl vandeninį tirpalą kinetiniai rodikliai po 300 min.

Mikrogranulės	Pseudo-pirmojo laipsnio kinetiniai rodikliai			Pseudo-antrojo laipsnio kinetiniai rodikliai			$q_e$ eksp. (g/g)
	$q_e$ (g/g)	$k_I$ (1/min.)	$R^2$	$q_e$ (g/g)	$k_{II}$ (g/g·min.)	$R^2$	
TTAK/CLR	0,064	243,423	0,9980	0,076	0,044	0,9934	0,038
TKK/CLR	0,049	152,701	0,9999	0,051	0,119	0,9988	0,034

Apskaičiuotos tiesės lygties pasiklivimo lygio  $R^2$  vertės buvo didesnės nei 0,99 ir rodo, kad CLR atpalaidavimui į 0,1 M HCl vandeninį tirpalą aprašyti tinka abi kinetinės lygtys. Kaip matyti iš 3.6 pav. duomenų, CLR atpalaidavimui iš abiejų kompleksų mikrogranulių naudojant pseudo-antrojo laipsnio lygties rodiklius nubrėžtos kreivės geriau atitinka eksperimentinius taškus, tačiau apskaičiuotas teorinis atpalaiduotas rūgšties kiekis pusiausvyros sąlygomis  $q_e$  yra apie du kartus didesnis už gautą eksperimentų metu ( $q_e$  eksp.). Tuo metu naudojant pseudo-pirmojo laipsnio lygties rodiklius, apskaičiuotos  $q_e$  vertės yra šiek tiek mažesnės, todėl galima daryti išvadą, kad pseudo-pirmojo laipsnio kinetinė lygtis tinkamesnė aprašyti eksperimentinius duomenis.

### 3.2.4. Chlorogeno rūgšties ir tinklinio katijoninio krakmolo darinių kompleksų antioksidacinių savybių įvertinimas

CLR imobilizavimas katijoniniais krakmolo dariniais gali apsaugoti ją nuo oksidacinio poveikio bei pailginti fenolinės rūgšties antioksidacinį veiklumą. Grynos CLR, TTAk, TKK ir TTAk/CLR, TKK/CLR kompleksų mikrogranulių antioksidacinis poveikis buvo įvertintas nustatčius DPPH<sup>•</sup> laisvųjų radikalų sujungimo priklausomybę nuo tyrimo trukmės. Gauti antioksidacinių savybių tyrimo rezultatai pateikti 3.7 paveiksle.



3.7 pav. DPPH<sup>•</sup> laisvųjų radikalų sujungimo priklausomybės nuo tyrimo trukmės kreivės: 1 – TTAk/CLR; 2 – CLR; 3 – TKK/CLR; 4 – TTAk. CLR koncentracija bandiniuose – 0,053 g/l

Nustatyta, kad TTAk pasižymėjo silpnu antioksidaciniu poveikiu (žr. 3.7 pav., 4 kr.), kai tuo metu TKK antioksidacinėmis savybėmis visai nepasižymėjo.

Kadangi fenolinių rūgščių antioksidacinis efektyvumas priklauso nuo hidroksigrupės skaičiaus bei padėties molekulėje [15], CLR turinti penkias hidroksigrupes gali sujunti penkias DPPH<sup>•</sup> laisvųjų radikalų molekules. Šis faktas paaiškina didelį grynosios CLR antioksidacinį efektyvumą sujungiant DPPH<sup>•</sup> laisvuosius radikalus (žr. 3.7 pav., 2 kr.). Grynosios CLR atveju, DPPH<sup>•</sup> laisvųjų radikalų koncentracija sumažėjo per pirmąsias 60 min. ir pasiekė 12 % galutinę vertę. Kaip matyti iš paveiksle pateiktų duomenų, kad CLR sureaguotų su DPPH<sup>•</sup> reikia daugiau laiko ir tai gali būti paaiškinta tuo, kad pusiausvyrai tarp fenolinės rūgšties koncentracijos dializės kapsulėje ir išoriniame DPPH<sup>•</sup> tirpale pasiekti taip pat reikia tam tikro laiko tarpo. Pradinėje stadijoje TTAk/CLR (žr. 3.7 pav., 1 kr.) ir TKK/CLR (žr. 3.7 pav., 3 kr.) kompleksų mikrogranulės su DPPH<sup>•</sup> laisvaisiais radikalais reaguoja skirtingu greičiu. Tai lemia nevienodas CLR atpalaidavimo iš kompleksų mikrogranulių greitis (žr. 3.2.3 poskyrį). Kaip matyti, TTAk/CLR kompleksų mikrogranulės su DPPH<sup>•</sup> laisvaisiais radikalais reaguoja gana greitai. Tuo metu, dėl lėtesnio atpalaidavimo iš TKK/CLR kompleksų mikrogranulių, CLR su DPPH<sup>•</sup> laisvaisiais radikalais reaguoja daug lėčiau (žr. 3.7 pav., 3 kr.).

Apibendrinant gautus antioksidacinių savybių tyrimų rezultatus galima teigti, kad CLR imobilizavimas TTAk, o ypač TKK, pailgina CLR antioksidacinę veiklumą, t. y. TTAk/CLR ir TKK/CLR kompleksų mikrogranulės pasižymi pailginto veikimo antioksidaciniu poveikiu. TTAk/CLR atveju maksimalus DPPH' laisvųjų radikalų kiekis (DPPH' = 92,5 %) buvo sujungtas per 180 min. (žr. 3.7 pav., 1 kr.) ir antioksidacinis efektyvumas buvo didesnis lyginant su grynosios CLR efektyvumu dėl pačio TTAk papildomo antioksidacinio poveikio. TKK/CLR atveju, maksimalus DPPH' laisvųjų radikalų kiekis (DPPH' = 70 %) buvo sujungtas per 240 min. (DPPH' = 70 %) (žr. 3.7 pav., 3 kr.). Kadangi tirpalo joninė jėga sąlygoja polielektrolitų kompleksų susidarymą ir disociaciją [163], nevienodas laisvųjų radikalų sujungimas TTAk ir TKK su imobilizuota CLR gali būti paaiškintas skirtinga, dializės kapsulėje ir išoriniame DPPH' tirpale esančio acetatinio buferinio tirpalo įtaka, t. y. acetatinio buferinio tirpalo jonai turi didesnę įtaką TTAk/CLR kompleksų disociacijai.

Apibendrinant 3.2 skyriuje pateiktus tyrimų rezultatus ir įvertinus skirtingų katijoninių grupių įtaką sudarant chlorogeno rūgšties ir tinklinio katijoninio krakmolo darinių kompleksus dėl jonų mainų nustatyta, kad nepaisant didesnio tretinių amino grupių giminingumo chlorogeno rūgščiai, ketvirtinių amonio grupių turinčiu tinkliniu katijoniniu krakmolu šios fenolinės rūgšties imobilizuojama daugiau. Be to, pastarieji kompleksai pasižymi geresniu pailginto veikimo antioksidaciniu poveikiu, t. y. laisvųjų radikalų sujungimu. Todėl galima daryti išvadą, kad ketvirtinių amonio grupių turintis tinklinis katijoninis krakmolas yra geresnė matrica fenolinių rūgščių imobilizavimui.

### **3.3. Tinklinio katijoninio krakmolo ir hidroksibenzenkarboksirūgšties kompleksų tyrimai**

Augaluose randamų hidroksibenzenkarboksirūgščių kiekiai nėra dideli. Didesni jų kiekiai yra randami raudonuosiuose vaisiuose, juoduosiuose ridikuose ir svogūnuose [164]. Hidroksibenzenkarboksirūgštis – vanilino rūgštis (4-hidroksi-3-metoksibenzoinė rūgštis) yra fenolinis junginys, naudojamas kaip kvapnioji medžiaga farmacijoje, maisto produktuose ir parfumerijoje [165, 166]. Ji išgaunama iš daugelio augalų [167, 168] ir taip pat yra kavos rūgšties metabolinis šalutinis produktas [169]. Vanilino rūgštis pasižymi antimikrobinėmis [170], antioksidacinėmis [171], priešūždegiminėmis [172] savybėmis, todėl pusiausvyrajai hidroksibenzenkarboksirūgščių adsorbicijai TKK mikrogranulėmis tirti pasirinktas hidroksibenzenkarboksirūgšties darinys – vanilino rūgštis.

#### **3.3.1 Vanilino rūgšties pusiausvyrosios adsorbicijos ketvirtinių amonio grupių turinčio tinklinio katijoninio krakmolo mikrogranulėmis tyrimai**

Vanilino rūgštis (VR) gali būti adsorbuojama stiprias ketvirtines amonio grupes turinčio TKK mikrogranulėmis. Sorbcinėms savybėms įvertinti pasirinktas pusiausvyrosios adsorbicijos metodas ir jam aprašyti taikyti matematiniai adsorbicijos modeliai.

Fenolinės rūgšties adsorbicinėms savybėms įtakos turi ir pačios rūgšties karboksigrupės disociacija, kurią sąlygoja terpės pH. Adsorbicijos tyrimams buvo

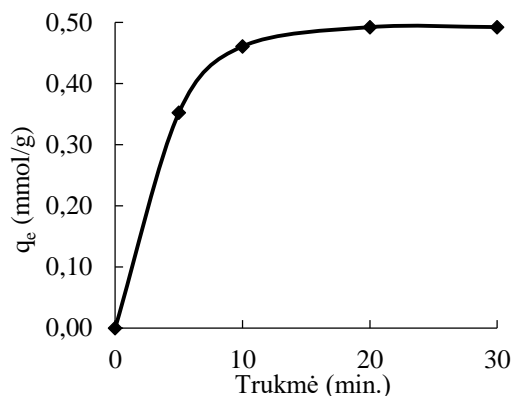
paruošti 0,5 g/l koncentracijos VR tirpalai, praskiedžiant pradinį 1 g/l VR vandeninį tirpalą tuo pačiu kiekiu distiliuoto vandens, 0,1 M HCl vandeniniu tirpalu ar 0,1 M fosfatinu buferiniu tirpalu (pH = 6,8), gauto sumaišius  $K_2HPO_4$  ir  $KH_2PO_4$  tirpalus. Iš šių tirpalų pusiausvyros sąlygomis VR buvo adsorbuota TKK mikrogranulėmis. Adsorbuotos VR kiekis ir tirpalų po adsorbcijos pH vertės pateiktos 3.5 lentelėje.

**3.5 lentelė.** Pusiausvyros sąlygomis TKK adsorbuotas VR kiekis bei tirpalo pH vertės skirtingose terpėse, kai pradinė VR koncentracija adsorbcijos terpėje buvo 0,5 g/l, o TKK – 1 g/l

VR tirpalui paruošti naudota terpė	Tirpalo pH vertė po adsorbcijos	Adsorbuotas VR kiekis (g/g)
Distiliuotas vanduo	3,3	0,095
0,1 M HCl vandeninis tirpalas (pH = 1)	1,5	adsorbcija nevyko
0,1 M fosfatinis buferis (pH = 6,8)	6,7	0,036

Kaip matyti iš lentelėje pateiktų duomenų, daugiausia VR adsorbuota iš tirpalo, praskiesto distiliuotu vandeniu. Atskiedus pradinį VR tirpalą 0,1 M HCl vandeniniu tirpalu, VR adsorbcija TKK mikrogranulėmis visiškai nevyko, kadangi VR karboksigrupės rūgščioje terpėje buvo nedisocijavusios, t. y. neturėjo krūvio. O iš tirpalo, atskiesto fosfatinu buferiu, VR adsorbuota kelis kartus mažiau nei atskiedus distiliuotu vandeniu. Apibendrinant gautus rezultatus galima teigti, kad VR adsorbcijai TKK įtakos turi ne tik tirpalo pH vertė, bet ir tirpale esantys elektrolitai. Todėl pusiausvyrosios VR adsorbcijos TKK mikrogranulėmis bandymuose VR tirpalai buvo ruošiami su distiliuotu vandeniu.

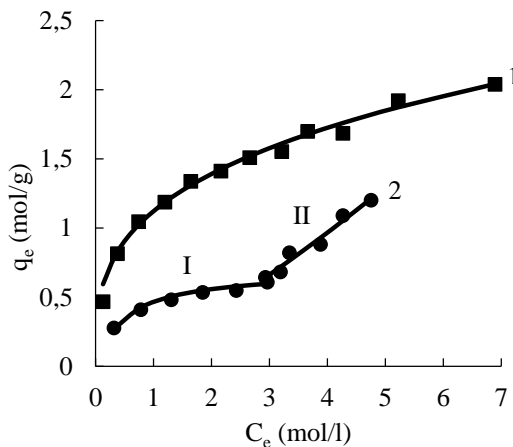
Tiriant pusiausvyrą VR adsorbciją pirmiausia buvo įvertinta trukmė, per kurią nusistovi pusiausvyra tarp VR, adsorbuoto TKK ir VR likusio tirpale, kiekio. Kaip matyti iš 3.8 pav. pateiktos kinetinės kreivės, pusiausvyra praktiškai pasiekama po 10 min. nuo adsorbcijos pradžios. Tam, kad pusiausvyra būtų visiškai pasiekta, adsorbcijos procesas buvo vykdytas 30 min.



**3.8 pav.** TKK adsorbuoto VR kiekio priklausomybė nuo adsorbcijos trukmės 30 °C temperatūroje. Pradinė VR koncentracija adsorbcijos tirpale – 0,25 g/l

Kaip jau buvo minėta, pusiausvyrą VR adsorbciją gali lemti fenolinės rūgšties disociacijos konstantos  $pK_a$  vertė. Remiantis mokslinės literatūros duomenimis, VR disociacijos konstantos  $pK_a$  vertė yra lygi 4,31 [173], vadinasi VR bus disocijavusi tirpale, kurio pH ~ 4,31. Pusiausvyrosios adsorbcijos tyrimuose pradinė vandeninio VR tirpalo pH vertė buvo lygi  $3,30 \pm 0,1$ . Gauta mažesnė pradinio VR vandeninio tirpalo pH vertė ( $3,40 < pK_a$ ) rodo, kad dalis fenolinės rūgšties molekulių tirpale yra nejonizuotos formos, o tai gali sąlygoti jos adsorbciją TKK mikrogranulėmis. Norint eliminuoti disociacijos konstantos  $pK_a$  įtaką, prieš adsorbciją į pradinį VR tirpalą buvo pridėtas ekvimolinis NaOH kiekis. Tokiu būdu gauto VR tirpalo pH vertė buvo lygi 6,69. Kadangi TKK ketvirtinių amonio grupių jonizacija nepriklauso nuo tirpalo pH vertės [146], galima tikėtis, kad disocijavusios karboksigrupės įtakos VR adsorbcijos mechanizmą.

Pusiausvyrosios VR adsorbcijos TKK mikrogranulėmis izotermės iš vandeninio tirpalo ir vandeninio tirpalo, turinčio ekvimolinį NaOH kiekį, 30 °C temperatūroje pavaizduotos 3.9 pav. Kaip matyti iš pateiktų duomenų, VR adsorbcijos TKK mikrogranulėmis iš vandeninio tirpalo izotermei būdingi du segmentai, t. y. adsorbcijos, esant mažoms VR koncentracijoms (I) bei adsorbcijos, esant didelėms VR koncentracijoms (II) (žr. 3.9 pav., 2 kr.). Gautos izotermės pobūdis gali būti siejamas su skirtingų sąveikos jėgų pasireiškimu susidarant kompleksui. Pirmajame etape dalis VR molekulių adsorbuojamos TKK mikrogranulėmis dėl elektrostatinės sąveikos tarp rūgšties karboksigrupių ir TKK ketvirtinių amonio grupių. Todėl TKK mikrogranulių paviršius tampa hidrofobiškesnis ir antrajame etape kitos VR molekulės adsorbuojamos ne tik dėl elektrosstatinės, bet ir dėl hidrofobinės sąveikos tarp fenolinės rūgšties benzeno žiedų.



**3.9 pav.** VR adsorbcijos TKK mikrogranulėmis izotermės 30 °C temperatūrose: 1 – adsorbuojant VR iš vandeninio tirpalo, turinčio ekvimolinį NaOH kiekį; 2 – adsorbuojant VR iš vandeninio tirpalo. Taškai atitinka eksperimentinius duomenis, kreivės nubraižytos naudojant Lengmiūro (2 kr., I segmentas) ir Freundlichio (1 kr. ir 2 kr., II segmentas) adsorbcijos modelių rodiklius

VR adsorbcijos TKK mikrogranulėmis metu iš tirpalų, turinčių ekvimolinį NaOH kiekį, gauta įprasto pobūdžio adsorbcijos izotermė (žr. 3.9 pav., 1 kr.). Gautai adsorbcijos izotermei aprašyti pritaikyti dviejų kintamųjų Lengmiūro, Freundlichio, Dubinino-Radushkevicho adsorbcijos modeliai, kurių rodiklių vertės kartu su tiesės lygties pasiklioavimo lygio  $R^2$  vertėmis pateiktos 3.6 lentelėje.

**3.6 lentelė.** VR adsorbcijos TKK iš tirpalų, turinčių ekvimolinį NaOH kiekį, izotermių Lengmiūro, Freundlichio ir Dubinino-Radushkevicho adsorbcijos modelių rodikliai

$T$ (°C)	$q_e$ (mmol/g)	Lengmiūro modelis				Freundlichio modelis		Dubinino–Radushkevicho modelis	
		$Q_L$ (mmol/g)	$K_L$ (1/mol)	$EF$ (mol/ekv)	$R^2$	$n_F$	$R^2$	$E_{DR}$ (kJ/mol)	$R^2$
30	2,04	1,88	1754	1,03	0,9920	3,23	0,9935	11,39	0,9887

Kaip matyti iš 3.6 lentelėje pateiktų duomenų, apskaičiuota Lengmiūro sorbcinės gebos  $Q_L$  vertė yra mažesnė už gautą eksperimento metu ( $q_e$ ). Be to, adsorbuotos jonizuotos VR kiekis pusiausvyros sąlygomis  $q_e$  yra 1,7 karto didesnis už gautą, kai VR adsorbuojama TKK mikrogranulėmis tik iš vandeninio tirpalo (žr. 3.9 pav., 2 kr.).

Įvertinus TKK jonogeninių grupių efektyvumo vertes ( $EF$ , mol/ekv.), sujungiant priešingų ženklų krūvio jonus, galima teigti, kad pateikta  $EF$  vertė artima 1 mol/ekv. rodo visų TKK katijoninių grupių ( $EF$  1,03 mol/ekv.) dalyvavimą joninėje sąveikoje su VR.

Be to, iš 3.6 lent. pateiktų duomenų matyti, kad sąlygos jonizuotos VR adsorbcijai TKK mikrogranulėmis yra palankios ( $n_F = 3,23$ ) bei adsorbcija, taip pat kompleksų susidarymas vyksta dėl elektrostatinės sąveikos tarp jonizuotų VR karboksigrupių ir TKK ketvirtinių amonio grupių ( $E_{DR} = 11,39$  kJ/mol).

### 3.3.2. Vanilino rūgšties atpalaidavimo iš tinklinio katijoninio krakmolo ir vanilino rūgšties komplekso mikrogranulių tyrimai

Adsorbcijos tyrimai parodė, kad VR gali būti adsorbuota TKK mikrogranulėmis tiek iš vandeninių tirpalų, kai fenolinė rūgštis iš dalies disocijavusi, tiek iš tirpalų, kuriuose ji yra iki galo jonizuotos formos. Todėl praktiniu požiūriu yra svarbus VR, kaip biologiškai veiklaus junginio atpalaidavimas iš gauto komplekso mikrogranulių. Atpalaidavimo tyrimams buvo naudotos TKK/VR komplekso mikrogranulės, kurių 1 grame buvo 0,045 g adsorbuotos VR (0,045 g/g) (žr. 2.2.6 sk. metodiką). Kaip atpalaidavimo terpė buvo naudoti 0,1 M HCl vandeninis tirpalas, distiliuotas vanduo, etanolis, fosfatinis ir acetatinis buferiniai tirpalai (žr. 3.7 lent.). Bandydams buvo naudota tiek TKK/VR mikrogranulių, kad esant 100 % VR atpalaidavimui, jų koncentracija atpalaidavimo tirpale būtų 85 mg/l. Ši koncentracija įvardyta kaip maksimaliai galima ( $C_{max} = 85$  mg/l).

**3.7 lentelė.** Iš TKK/VR mikrogranulių atpalaiduotos VR kiekis skirtingose atpalaidavimo terpėse per 30 min.

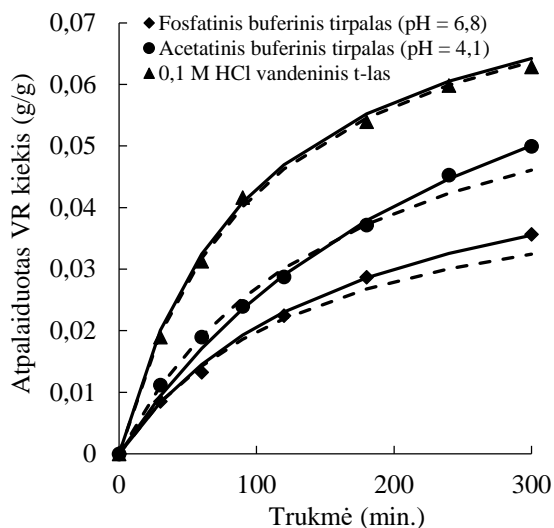
Atpalaidavimo terpė	VR koncentracija atpalaidavimo tirpale (mg/l)	Atpalaiduotos VR kiekis nuo maksimaliai galimo (%*)
0,1 M HCl vandeninis tirpalas (pH = 1)	26	30,9
Acetatinis buferinis tirpalas (pH = 4,1)	18	21,5
Fosfatinis buferinis tirpalas (pH = 6,8)	21	24,1
Distiliuotas vanduo	1	0,7
Etanolis	0	0

\*  $C_{\max} = 85$  mg/l

Kaip matyti iš 3.7 lent. pateiktų duomenų, VR iš TKK mikrogranulių gryname etanolyje nebuvo atpalaiduota, o į 0,1 M HCl vandeninį tirpalą atpalaiduota 30,9 % VR. Į fosfatinį ir acetatinį buferinius tirpalus VR atpalaiduota kiek mažiau, atitinkamai 24,1 % ir 21,5 %. Į distiliuotą vandenį per 30 min. atpalaiduota labai nedaug, tik ~1 % VR.

Apibendrinant gautus rezultatus galima teigti, kad daugiausia VR iš TKK/VR komplekso mikrogranulių yra atpalaiduojama į 0,1 M HCl vandeninį 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.

Buvo iširta, TKK adsorbuotos VR atpalaidavimo į 0,1 M HCl vandeninį tirpalą, acetatinį ir fosfatinį buferinius tirpalus, kinetika. Tyrimams naudotos TKK/VR komplekso mikrogranulės, kurių 1 grame buvo 0,113 g adsorbuotos VR (0,113 g/g). Kadangi įdėtas į atpalaidavimo tirpalą komplekso mikrogranules sunku atskirti ir tai trukdo analizei, atpalaidavimo eksperimente buvo naudota pusiau pralaidi modifikuotos celiuliozės membrana. VR atpalaidavimo iš TKK/VR mikrogranulių į skirtingas terpes kinetinės kreivės pateiktos 3.10 pav. Reikia paminėti, kad kinetinių tyrimų metu atpalaiduotos VR kiekis buvo daug didesnis nei anksčiau aprašytų tyrimų metu, nes VR atpalaidavimo kinetikai tirti naudotos TKK/VR komplekso mikrogranulės, turinčios 2,5 karto daugiau adsorbuotos VR.



**3.10 pav.** VR atpalaidavimo iš TKK/VR mikrogranulių į skirtingas atpalaidavimo terpes kinetinės kreivės. Taškai atitinka eksperimentinius duomenis, punktyrinės linijos nubraižytos naudojant I-ojo laipsnio kinetinės lygties rodiklius, išsistinės linijos – II-ojo laipsnio kinetinės lygties rodiklius

Naudojant metodinėje dalyje pateiktas pseudo-pirmojo (2.15) ir pseudo-antrojo (2.16) laipsnio kinetinių lygčių formules buvo apskaičiuoti VR atpalaidavimo kinetinių lygčių rodikliai. Apskaičiuotos pseudo-pirmojo ir pseudo-antrojo laipsnio kinetinių lygčių rodiklių vertės kartu su tiesės lygties pasiklivimo lygio  $R^2$  vertėmis pateiktos 3.8 lentelėje.

Kaip matyti iš 3.8 lent. pateiktų duomenų, tiesės lygties pasiklivimo lygio  $R^2 > 0,99$  vertės rodo, kad VR atpalaidavimui į 0,1 M HCl vandeninį tirpalą, acetatinį ir fosfatinį buferinį tirpalą aprašyti tinka abi kinetinės lygtys.



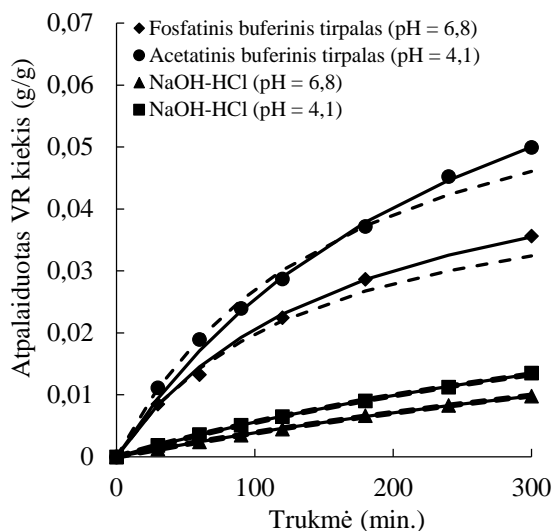
**3.8 lentelė.** VR atpalaidavimo iš TKK/VR komplekso mikrogranulių į skirtingas atpalaidavimo terpes kinetiniai rodikliai po 300 min.

Atpalaidavimo terpė	Pseudo-pirmojo laipsnio kinetiniai rodikliai			Pseudo-antrojo laipsnio kinetiniai rodikliai			$q_e$ eksp. (g/g)
	$q_e$ (g/g)	$k_I$ (1/min.)	$R^2$	$q_e$ (g/g)	$k_{II}$ (g/g·min.)	$R^2$	
Fosfatinis buferinis tirpalas (pH = 6,8)	0,049	140,030	0,9921	0,056	0,106	0,9981	0,036
Acetatinis buferinis tirpalas (pH = 4,1)	0,071	163,578	0,9963	0,097	0,037	0,9938	0,050
0,1 M HCl vandeninis tirpalas	0,085	100,561	0,9938	0,085	0,121	0,9998	0,063

Naudojant abiejų kinetinių lygčių rodiklius buvo nubraižytos teorinės atpalaidavimo kinetinės kreivės, iš kurių matyti, kad naudojant pseudo-antrojo laipsnio lygties rodiklius nubrėžta kreivė geriau atitinka eksperimentinius taškus. Tačiau pagal pseudo-antrojo laipsnio lygtį apskaičiuotas teorinis atpalaiduotos rūgšties kiekis pusiausvyros sąlygomis  $q_e$  yra didesnis už gautą eksperimentų metu ( $q_e$  eksp.). Naudojant pseudo-pirmojo laipsnio lygties rodiklius, apskaičiuotos  $q_e$  vertės yra artimesnės eksperimentiniams duomenims. Todėl galima teigti, kad atpalaidavimo kinetiką geriau aprašo pseudo-pirmojo laipsnio kinetinė lygtis.

**3.3.2.1 Buferiniuose tirpaluose esančių druskų įtaka vanilino rūgšties kompleksu mikrogranulių atpalaidavimui iš tinklinio katijoninio krakmolo ir vanilino rūgšties kompleksu mikrogranulių**

Norint įvertinti buferiniuose atpalaidavimo tirpaluose esančių druskų įtaką VR atpalaidavimo procesui, buvo iširta TKK adsorbuotos VR atpalaidavimo į atitinkamos pH vertės tirpalus, paruoštus remiantis šarmo-rūgšties balansu, kinetika. Tyrimams naudotos TKK/VR komplekso mikrogranulės, kurių 1 grame buvo 0,113 g adsorbuotos VR (0,113 g/g). VR atpalaidavimo iš TKK/VR mikrogranulių į NaOH-HCl tirpalus, kurių pH vertės lygios 4,1 ir 6,8, kinetinės kreivės pateiktos 3.11 pav. bei palygintos su kinetinėmis kreivėmis, gautomis vykdant atpalaidavimą į atitinkamą pH verčių acetatinį ir fosfatinį buferinius tirpalus.



**3.11 pav.** VR atpalaidavimo iš TKK/VR komplekso mikrogranulių į NaOH-HCl vandeninius tirpalus ir buferinius tirpalus kinetinės kreivės. Taškai atitinka eksperimentinius duomenis, punktyrinės linijos nubraižytos naudojant I-ojo laipsnio kinetinės lygties rodiklius, išsines linijos – II-ojo laipsnio kinetinės lygties rodiklius

Naudojant metodinėje dalyje pateiktas pseudo-pirmojo (2.15) ir pseudo-antrojo (2.16) laipsnio kinetinių lygčių formules buvo apskaičiuoti VR atpalaidavimo kinetinių lygčių rodikliai. Apskaičiuotos pseudo-pirmojo ir pseudo-antrojo laipsnio kinetinių lygčių rodiklių vertės kartu su tiesės lygties pasiklivimo lygio  $R^2$  vertėmis pateiktos 3.9 lentelėje.

**3.9 lentelė.** VR atpalaidavimo iš TKK/VR kompleksų mikrogranulių į NaOH-HCl vandeninius tirpalus kinetiniai rodikliai, po 300 min.

Atpalaidavimo terpė	Pseudo-pirmojo laipsnio kinetiniai rodikliai			Pseudo-antrojo laipsnio kinetiniai rodikliai			$q_e$ eksp. (g/g)
	$q_e$ (g/g)	$k_I$ (1/min.)	$R^2$	$q_e$ (g/g)	$k_{II}$ (g/g·min.)	$R^2$	
NaOH-HCl vandeninis tirpalas (pH = 6,8)	0,044	1034,953	0,9996	0,042	0,024	0,9982	0,010
NaOH-HCl vandeninis tirpalas (pH = 4,1)	0,042	654,593	0,9938	0,044	0,033	0,9917	0,014

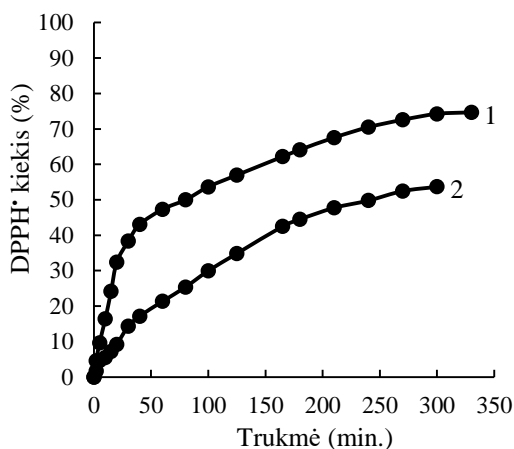
Naudojant abiejų kinetinių lygčių rodiklius buvo nubraižytos teorinės kinetinės kreivės iš kurių matyti, kad tiek naudojant pseudo-pirmojo, tiek pseudo-antrojo laipsnio lygties rodiklius nubrėžtos kreivės gerai atitinka eksperimentinius taškus. Be to, abiejų kinetinių lygčių atveju apskaičiuotas teorinis atpalaiduotas rūgšties kiekis pusiausvyros sąlygomis  $q_e$  yra daug didesnis už gautą eksperimentų metu. Palyginus 3.8 ir 3.9 lentelėse pateiktus duomenis matyti, kad VR atpalaidavimo iš TKK/VR komplekso mikrogranulių į NaOH-HCl vandeninius tirpalus eksperimentų metu,

atpalaiduotos rūgšties kiekis pusiausvyros sąlygomis  $q_{e \text{ eksp.}}$  yra 3,6 karto mažesnis nei į atitinkamos pH vertės buferinius tirpalus.

Apibendrinant gautus rezultatus galima daryti išvadą, kad VR atpalaidavimą iš TKK/VR komplekso mikrogranulių lemia ne tik atpalaidavimo terpės pH vertė, bet taip pat buferiniuose tirpaluose esančios druskos.

### 3.3.3. Tinklinio katijoninio krakmolo ir vanilino rūgšties komplekso antioksidacinių savybių įvertinimas

Viena iš svarbesnių VR, kaip bioaktyvaus junginio savybių, yra jos antioksidacinis veiklumas. TKK/VR komplekso mikrogranulių, kurių 1 grame buvo 0,045 adsorbuotos VR (0,045 g/g.), grynos VR ir TKK mikrogranulių antioksidacinis poveikis buvo įvertintas taikant modifikuotą DPPH<sup>\*</sup> metodą bei išreikštas DPPH<sup>\*</sup> laisvųjų radikalų sujungimu (%). Tyrimo metu VR koncentracija tirpale ir TKK/VR komplekso mikrogranulių dispersinėje sistemoje buvo vienoda. Gauti VR ir TKK/VR antioksidacinių savybių tyrimo rezultatai pateikti 3.12 paveiksle.



3.12 pav. DPPH<sup>\*</sup> laisvųjų radikalų sujungimo priklausomybės nuo tyrimo trukmės kreivės: 1 – VR; 2 – TKK/VR. VR koncentracija bandinyje – 0,043 g/l

Kuo didesnė DPPH<sup>\*</sup> laisvųjų radikalų sujungimo vertė, tuo geresnis tiriamojo junginio antioksidacinis efektyvumas. Kaip matyti iš 3.12 pav. pateiktų kreivių, įdėjus į DPPH<sup>\*</sup> tirpalą grynosios VR, DPPH<sup>\*</sup> laisvųjų radikalų sujungimas per 60 min. buvo apie 53 % (žr. 3.12 pav., 1 kr.). TKK/VR komplekso mikrogranulės tokio pat dydžio antioksidacinį efektyvumą pasiekia tik per 350 min. (žr. 3.12 pav., 2 kr.). Reikia atkreipti dėmesį, kad pats TKK nepasižymi antioksidacinėmis savybėmis, todėl jo duomenys paveiksle nėra pateikti.

Atsižvelgiant į antioksidacinių savybių tyrimų rezultatus galima daryti išvadą, kad suformuotas TKK/VR kompleksas pasižymi pailginto veikimo antioksidaciniu poveikiu, kuris gali būti siejamas su laipsniniu sujungtos fenolinės rūgšties atpalaidavimu terpėje.

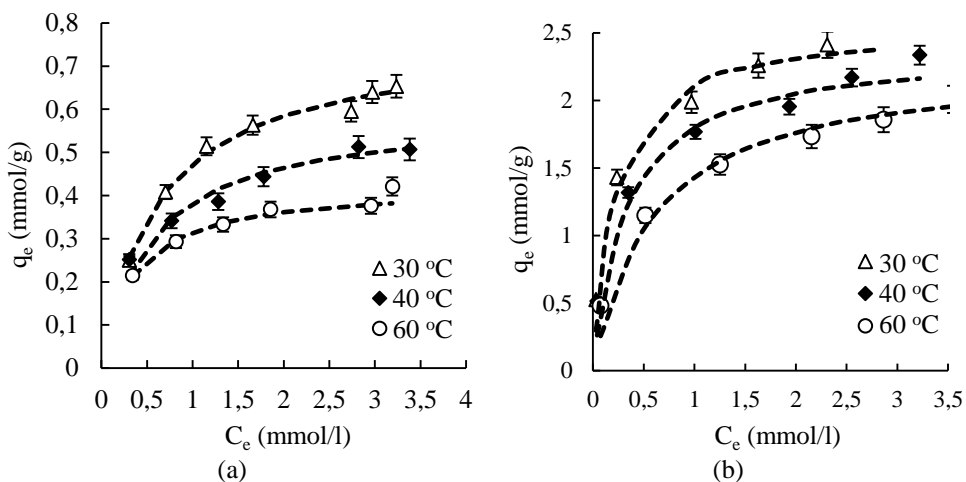
### **3.4. Tinklinio katijoninio krakmolo ir hidroksicinamono rūgščių kompleksų tyrimai**

Hidroksicinamono rūgštys yra dažniau randamos gamtoje nei hidroksibenzenkarboksirūgštys. Hidroksicinamono rūgščių pagrindą sudaro *p*-kumaro, kavos, ferulo ir sinapo rūgštys [12]. Kavos rūgštis yra labiausiai paplitusi fenolinė rūgštis tiek laisvos, tiek esterio formos ir sudaro 75–100 % daugumos vaisių bendrojo hidroksicinamono rūgščių kiekio [12]. Pusiausvyrajai hidroksicinamono rūgščių adsorbcijai TKK mikrogranulėmis tirti pasirinkta hidroksicinamono rūgštis – kavos rūgštis (KVR) bei jos dariniai – chlorogeno (CLR) ir rozmarino (RZR) rūgštys.

#### **3.4.1. Hidroksicinamono rūgščių pusiausvyrosios adsorbcijos ketvirtinių amonio grupių turinčio tinklinio katijoninio krakmolo mikrogranulėmis tyrimai**

Hidroksicinamono rūgščių cheminės struktūros skirtumai lemia šių junginių savybes, t. y. antioksidacinį efektyvumą ir disociacijos konstantos  $pK_a$  vertes [174, 175]. Mokslinės literatūros duomenimis KVR, CLR ir RZR disociacijos konstantos  $pK_a$  vertės yra atitinkamai lygios 4,47; 3,58 ir 2,92 [158, 176]. Kuo didesnė  $pK_a$  vertė, tuo mažesnė rūgšties disociacija terpėje esant konkrečiai tos terpės pH vertei. Pusiausvyrosios adsorbcijos tyrimuose KVR, CLR ir RZR vandeninių tirpalų pH vertės buvo atitinkamai lygios  $3,20 \pm 0,1$ ;  $3,15 \pm 0,1$  ir  $2,95 \pm 0,05$ . Taigi, jonizuotos fenolinės rūgšties kiekis mažėja šia tvarka: RZR > CLR > KVR. Informacijos apie fenolinių rūgščių rūgštingumo įtaką jų sąveikai su stiprias bazines grupes turinčiu TKK galima gauti iš pusiausvyrosios adsorbcijos duomenų ir jiems aprašyti taikomų matematinių adsorbcijos modelių.

Pusiausvyroji KVR, CLR ir RZR adsorbcija TKK mikrogranulėmis buvo tiriama 30 °C, 40 °C ir 60 °C temperatūrose. Gautos adsorbcijos izotermės pateiktos 3.4 ir 3.13 pav. Kaip matyti iš paveiksluose pateiktų duomenų, adsorbuotų fenolinių rūgščių kiekis priklauso nuo jų struktūros ir mažėja didėjant adsorbcijos temperatūrai. Adsorbcijos izotermėms aprašyti taikyti dviejų kintamųjų Lengmiūro, Freundlichio ir Dubinino-Radushkevicho adsorbcijos modeliai.



**3.13 pav.** KVR (a) ir RZR (b) adsorbcijos TKK mikrogranulėmis izotermės skirtingose temperatūrose. Taškai atitinka eksperimentinius duomenis, kreivės nubraižytos naudojant Lengmiūro adsorbcijos modelio rodiklius

Svarbiausių adsorbcijos modelių parametrų vertės, tokios kaip Lengmiūro sorbcinė geba  $Q_L$  bei pusiausvyros konstanta  $K_L$ , Freundlichio konstanta  $n_F$  ir Dubinino-Radushkevicho adsorbcijos energijos  $E_{DR}$  vertės, kartu su tiesės lygties pasiklivimo lygio  $R^2$  vertėmis pateiktos 3.1 ir 3.10 lentelėse.

**3.10 lentelė.** KVR ir RZR adsorbcijos TKK mikrogranulėmis izotermių Lengmiūro, Freundlichio ir Dubinino-Radushkevicho adsorbcijos modelių rodikliai

$T$ (°C)	$q_e$ (mmol/g)	Lengmiūro modelis				Freundlichio modelis		Dubinino–Radushkevicho modelis	
		$Q_L$ (mmol/g)	$K_L$ (1/mol)	$EF$ (mol/ekv)	$R^2$	$n_F$	$R^2$	$E_{DR}$ (kJ/mol)	$R^2$
<b>KVR adsorbcija (<math>pK_a = 4,47</math>)</b>									
30	0,65	0,76	1660	0,42	0,9957	2,55	0,9501	10,1	0,9698
40	0,51	0,59	1870	0,32	0,9927	3,15	0,9964	12,2	0,9925
60	0,42	0,42	2990	0,23	0,9987	3,32	0,9932	13,2	0,9986
<b>RZR adsorbcija (<math>pK_a = 2,92</math>)</b>									
30	2,38	2,68	3240	1,46	0,9837	2,82	0,9989	12,2	0,9962
40	2,34	2,38	3080	1,30	0,9937	2,89	0,9926	12,6	0,9930
60	2,01	2,28	1700	1,25	0,9947	3,54	0,9957	13,4	0,9972

Kaip matyti iš 3.1 ir 3.10 lent. pateiktų duomenų, tiesės lygties pasiklivimo lygio  $R^2 > 0,99$  vertės rodo, kad fenolinių rūgščių adsorbciją gerai aprašo visi adsorbcijos modeliai. Kiek mažesnės  $R^2$  vertės ( $R^2 > 0,98$ ) nustatytos CLR adsorbcijos 60 °C temperatūroje (žr. 3.1 lent.) ir RZR adsorbcijos 30 °C temperatūroje atveju, taikant Lengmiūro adsorbcijos modelį. Mažiausios  $R^2$  vertės (0,97–0,98) gautos KVR

adsorbcijos 30 °C temperatūroje, aprašant adsorbcijos izotermes Freundlichio ir Dubinino-Radushkevichio adsorbcijos modeliais.

Remiantis Lengmiūro adsorbcijos modeliu [140], fenolinės rūgštys adsorbuojamos ketvirtinėmis tinklinio katijoninio krakmolo amonio grupėmis. Adsorbcijos varomoji jėga yra sąveika tarp šių grupių ir fenolinių rūgščių karboksigrupių. Kaip matyti iš 3.1 ir 3.10 lent. duomenų, Lengmiūro sorbcinės gebos  $Q_L$  vertės mažėja didėjant adsorbcijos temperatūrai ir konkrečioje temperatūroje yra glaudžiai susijusios su tiriamos fenolinės rūgšties disociacijos konstantos  $pK_a$  verte. Kuo didesnė  $pK_a$  vertė, tuo mažesnė  $Q_L$  vertė, t. y. adsorbuotos fenolinės rūgšties kiekis mažėja tvarka, priešinga  $pK_a$  vertės didėjimui. Gauti rezultatai gali būti paaiškinti fenolinių rūgščių jonizacijos skirtumais adsorbcijos tirpaluose. Pusiausvyrosios adsorbcijos bandymuose KVR, CLR ir RZR tirpalų pH vertės buvo atitinkamai lygios  $3,20 \pm 0,1$ ;  $3,15 \pm 0,05$  ir  $2,95 \pm 0,05$ . Taigi, tik RZR atveju adsorbcijos tirpalo pH vertė sutapo su disociacijos konstantos  $pK_a$  verte, t. y. RZR buvo labiau jonizuota lyginant su KVR ir CLR.

Naudojant Lengmiūro sorbcinės gebos  $Q_L$  vertes, buvo apskaičiuotos TKK katijoninių grupių efektyvumo ( $EF$ ) sujungiant fenolines rūgštis vertės, išreikštos fenolinės rūgšties molių skaičiumi, tenkančiu vienai TKK katijoninei grupei. 3.10 lent. pateiktos  $EF$  vertės rodo, kad mažiau nei pusė TKK katijoninių grupių ( $EF$  0,23–0,42) dalyvauja joninėje sąveikoje su KVR, didesnis šių grupių kiekis ( $EF$  0,56–0,61) dalyvauja adsorbuojant CLR (žr. 3.1 lent.). RZR atveju,  $EF$  vertės yra didesnės negu 1 mol/ekv., t. y. viena TKK ketvirtinė amonio grupė sujungia daugiau kaip vieną RZR molekulę. Galima daryti prielaidą, kad RZR molekulės buvo prijungtos ne tik elektostatinės sąveikos jėgomis, t. y. dalis RZR molekulių tikriausiai buvo adsorbuotos dėl kitokių sąveikos jėgų, pavyzdžiui, RZR molekulių asociacijos tirpale.

Šią prielaidą patvirtina ir nustatyta temperatūros įtaka Lengmiūro pusiausvyros konstantai  $K_L$  (žr. 3.1 lent. ir 3.10 lent.). KVR adsorbcijos atveju, didėjant adsorbcijos temperatūrai,  $Q_L$  vertės mažėja, kai tuo metu  $K_L$  vertės didėja, t. y. nepaisant didėjančios pusiausvyros konstantos vertės, adsorbuotas KVR kiekis mažėja. CLR adsorbcijos TKK atveju, didėjant temperatūrai, didėja tiek  $Q_L$ , tiek  $K_L$  vertės, net jei temperatūros įtaka neįtampa. Didelė temperatūros įtaka  $Q_L$  ir  $K_L$  vertėms buvo pastebėta RZR adsorbcijos atveju, kai didėjant adsorbcijos temperatūrai šios vertės labai sumažėjo. Galima teigti, kad didėjant adsorbcijos temperatūrai, adsorbuotos ir atpalaiduotos RZR kiekių santykis sumažėjo dėl padidėjusios molekulių kinetinės energijos, t. y. didesnis RZR molekulių judrumas trukdė joms asociuotis tirpale, todėl sumažėjo TKK mikrogranulėmis adsorbuotos rūgšties kiekis.

Freundlichio konstantos  $n_F$  ir Dubinino-Radushkevichio adsorbcijos energijos  $E_{DR}$  vertės didėja, didėjant adsorbcijos temperatūrai. 3.1 ir 3.10 lent. pateikti duomenys rodo, kad sąlygos KVR, CLR ir RZR adsorbcijai TKK mikrogranulėmis yra palankios ( $n_F > 2$ ). O Dubinino-Radushkevichio adsorbcijos energijos vertės ( $E_{DR} > 8$  kJ/mol) parodė, kad jonų mainų mechanizmas vyrauja visų hidroksicinamono rūgščių adsorbcijos TKK ir kompleksų susidarymo metu. CLR adsorbcijos atveju stebima mažesnė adsorbcijos temperatūros įtaka  $n_F$  ir  $E_{DR}$  verčių didėjimui, palyginti su temperatūros įtaka šioms parametrų vykstant KVR ir RZR adsorbcijai.

Naudojant 3.4 ir 3.13 pav. pateiktų adsorbcijos izotermių duomenis pagal metodinėje dalyje pateiktas (2.13) ir (2.14) formules, buvo apskaičiuoti termodinaminiai KVR, CLR ir RZR adsorbcijos TKK mikrogranulėmis rodikliai. Apskaičiuoti termodinaminiai KVR, CLR ir RZR adsorbcijos TKK mikrogranulėmis rodikliai pateikti 3.2 ir 3.11 lent. kartu su tiesės lygčių pasiklivimo lygio  $R^2$  vertėmis.

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

**3.11 lentelė.** KVR ir RZR adsorbcijos TKK mikrogranulėmis termodinaminiai rodikliai

$T (^{\circ}C)$	$\Delta G$ (kJ/mol)	$R^2$	$\Delta H$ (kJ/mol)	$\Delta S$ (J/mol·K)	$R^2$
<b>KVR adsorbcija (<math>pK_a = 4,47</math>)</b>					
30	-3,06	0,9624			
40	-3,19	0,9938	-1,57	5,09	0,9714
60	-3,26	0,9987			
<b>RZR adsorbcija (<math>pK_a = 2,92</math>)</b>					
30	-9,44	0,9581			
40	-8,88	0,9904	-30,9	-70,6	0,9970
60	-7,34	0,9978			

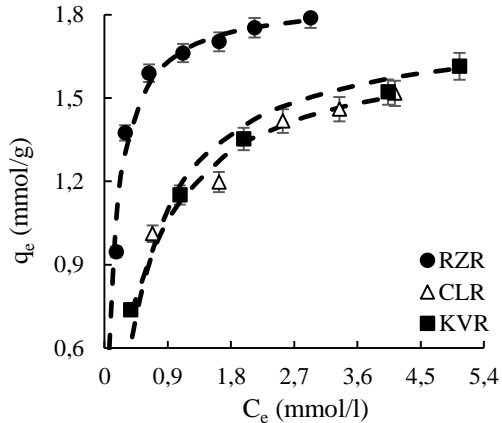
Kaip matyti iš 3.2 ir 3.11 lent. pateiktų duomenų, fenolines rūgštis adsorbuojant TKK mikrogranulėmis, visais atvejais gautos neigiamos  $\Delta G$  vertės, kurios rodo, kad KVR, CLR ir RZR adsorbcija vyksta spontaniškai. Be to, kaip ir buvo galima tikėtis  $\Delta G$  vertės yra glaudžiai susijusios su fenolinių rūgščių  $pK_a$  vertėmis, t. y. rūgščių jonizacija adsorbcijos tirpale. RZR, kurios  $pK_a$  vertė yra mažiausia ( $pK_a = 2,92$ ), giminiškumas TKK yra didesnis už KVR giminiškumą ( $pK_a = 4,47$ ). Be to, adsorbcijos temperatūra sąlygoja  $\Delta G$  vertes. KVR adsorbcijos atveju, didėjant adsorbcijos temperatūrai, neigiamos  $\Delta G$  vertės didėja, CLR atveju – nežymiai sumažėja, o RZR atveju – sumažėja žymiai.

Apskaičiuotos neigiamos entalpijos  $\Delta H$  pokyčių vertės rodo, kad fenolinių rūgščių adsorbcija TKK mikrogranulėmis yra egzotermis procesas. Adsorbcijos metu išspinduliuotos šilumos kiekis didėja, mažėjant  $pK_a$  vertei ir kinta tokia tvarka: KVR < CLR < RZR. KVR adsorbcijos atveju gautos teigiamos entropijos  $\Delta S$  pokyčio vertės rodo sistemos tvarkos mažėjimą. RZR ir CLR adsorbcijos atveju apskaičiuotos  $\Delta S$  pokyčių vertės yra neigiamos, t. y. sistemos tvarka dėl adsorbcijos padidėja.

#### **3.4.1.1. Hidroksicinamono rūgščių pusiausvyroji adsorbcija tinklinio katijoninio krakmolo mikrogranulėmis iš tirpalų, turinčių ekvimolinį NaOH kiekį**

Aiškus ryšys tarp KVR, CLR ir RZR  $pK_a$  verčių ir jų adsorbcinių savybių patvirtino rūgščių jonizacijos svarbą elektrostatinės sąveikos su TKK metu. Norint eliminuoti  $pK_a$  įtaką sorbcinėms savybėms, prieš adsorbciją į fenolinių rūgščių tirpalus buvo įdėtas ekvimolinis NaOH kiekis. Gautų fenolinių rūgščių tirpalų pH vertės varijavo nuo 6,5 iki 6,8. Galima daryti prielaidą, kad kintant rūgščių jonizacijai

gali pakisti ir jų sorbcinės savybės, nes TKK ketvirtinių amonio grupių jonizacija nepriklauso nuo tirpalo pH vertės [146]. Pusiausvyrosios KVR, CLR ir RZR adsorbcijos TKK mikrogranulėmis izotermės iš tirpalų, turinčių ekvimolinį NaOH kiekį, 40 °C temperatūroje pavaizduotos 3.14 paveiksle.



**3.14 pav.** KVR, CLR ir RZR adsorbcijos TKK mikrogranulėmis izotermės iš tirpalų, turinčių ekvimolinį NaOH kiekį, 40 °C temperatūroje. Taškai atitinka eksperimentinius duomenis, kreivės nubraižytos naudojant Lengmiūro modelio rodiklius

Apskaičiuotos Lengmiūro, Freundlich, Dubinino-Radushkevicho adsorbcijos modelių ir Gibso laisvosios energijos  $\Delta G$  pokyčių vertės kartu su tiesės lygčių pasiklovimo lygio  $R^2$  vertėmis pateiktos 3.12 lentelėje.



**3.12 lentelė.** KVR, CLR ir RZR adsorbcijos TKK mikrogranulėmis, iš tirpalų turinčių ekvimolinį NaOH kiekį, izotermių Lengmiūro, Freundlichio, Dubinino-Radushkevicho adsorbcijos modelių rodikliai ir  $\Delta G$  vertės 40 °C temperatūroje

Parametras	Fenolinė rūgštis		
	KVR	CLR	RZR
Adsorbcijos tirpalo pH vertė	6,7	6,8	6,5
$q_e$ (mmol/g)	1,61	1,52	1,79
Lengmiūro modelis			
$Q_L$ (mmol/g)	1,78	1,71	1,86
$K_L$ (1/mol)	1850	1780	7960
$EF$ (mol/ekv)	0,97	0,94	1,02
$R^2$	0,9944	0,9927	0,9996
Freundlichio modelis			
$n_F$	4,76	3,72	9,14
$R^2$	0,9897	0,9942	0,9474
Dubinino-Radushkevicho modelis			
$E_{DR}$ (kJ/mol)	14,0	13,8	20,7
$R^2$	0,9933	0,9970	0,9548
$\Delta G$ (kJ/mol)	-8,14	-8,66	-21,4
$R^2$	0,9892	0,9869	0,9508

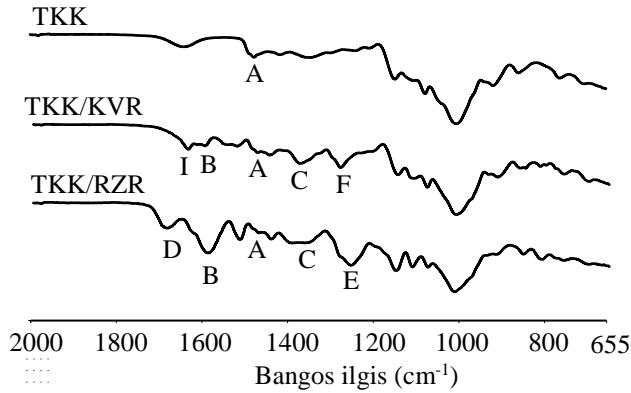
Įdėjus natrio šarmo į tirtų fenolinių rūgščių tirpalus, padidėjo elektrostatinės sąveikos tarp TKK ketvirtinių amonio grupių ir jonizuotų fenolinių rūgščių karboksigrupių intensyvumas, kartu pagerėjo sąlygos vyksti adsorbcijai. Tai patvirtina apskaičiuotos didesnės Freundlichio konstantos  $n_F$  ir Dubinino-Radushkevicho laisvosios energijos  $E_{DR}$  vertės, lyginant su šių parametru vertėmis, gautomis kai fenolinės rūgštys buvo adsorbuotos iš vandeninių tirpalų be NaOH priedo (žr. 3.10 lent.). Be to, didesnės Gibso laisvosios energijos  $\Delta G$  pokyčių vertės rodo, kad karboksigrupių jonizavimas padidino fenolinių rūgščių giminiškumą TKK bei adsorbcijos spontaniškumą.

Kaip matyti iš 3.12 lent. pateiktų duomenų, vykstant jonizuotų KVR, CLR ir RZR adsorbcijai TKK, buvo nustatytos panašios Lengmiūro sorbcinės gebos  $Q_L$  vertės. Tačiau lyginant 3.10 ir 3.12 lent. pateiktus duomenis matyti, kad jonizuotų KVR ir CLR adsorbcijos TKK atveju gautos didesnės  $Q_L$  vertės, ypač adsorbuojant KVR, kai tuo tarpu jonizuotos RZR adsorbcijos TKK atveju  $Q_L$  vertė sumažėjo.

Apibendrinant pateiktus duomenis galima teigti, kad tirtų fenolinių rūgščių sorbcinės savybės priklauso nuo karboksigrupių jonizacijos laipsnio. Vykstant jonizuotų fenolinių rūgščių adsorbcijai TKK mikrogranulėmis, adsorbcijos modelių rodiklių vertės ir giminiškumas priklauso nuo rūgščių struktūros, kai rūgščių adsorbciją tik iš vandeninių tirpalų lemia disociacijos konstantos  $pK_a$  vertės.

### 3.4.2. Tinklinio katijoninio krakmolo ir hidroksicinamono rūgščių kompleksų FT-IR spektroskopijos tyrimai

Buvo užrašyti ir išanalizuoti TKK bei sudarytų TKK ir hidroksicinamono rūgščių kompleksų FT-IR spektrai (žr. 3.5 ir 3.15 pav.). TKK ir sudarytų kompleksų FT-IR spektrams yra būdinga absorbcijos smailė ties  $1477\text{ cm}^{-1}$  (smailė A), kuri priskiriama prie ketvirtinių aminorio grupių prijungtų metilgrupių virpesiams [155].



3.15 pav. TKK bei sudarytų TKK ir hidroksicinamono rūgščių kompleksų FT-IR spektrai

Kaip matyti iš 3.5 ir 3.15 pav., kompleksų spektruose sumažėja smailės A intensyvumas ir tai patvirtina TKK ketvirtinių aminorio grupių sąveiką su fenolinių rūgščių karboksigrupėmis. Smailės, būdingos KVR, CLR ir RZR taip pat matomos kompleksų FT-IR spektruose. Smailė ties  $1592\text{ cm}^{-1}$  (smailė B) priskiriama fenolinių rūgščių aromatinio žiedo virpesiams [162, 177–179]. TKK/KVR ir TKK/CLR kompleksų spektruose smailė ties  $1375\text{ cm}^{-1}$  ir TKK/RZR komplekso spektre esanti plati absorbcijos smailė ties  $1350\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$  (smailė C) yra charakteringa fenolinių rūgščių karboksigrupių virpesiams [178, 179]. Be to, TKK/KVR komplekso spektre intensyvia smailės ties  $1282\text{ cm}^{-1}$  (smailė F) ir  $1640\text{ cm}^{-1}$  (smailė I) yra būdingos kavos rūgščiai ir atitinkamai yra priskiriamos  $\text{C-OH}$  ir  $\text{C=O}$  virpesiams. TKK/CLR ir TKK/RZR spektruose absorbcijos smailės ties  $1282\text{ cm}^{-1}$  (smailė F) persidengimas su intensyvia smaile ties  $1260\text{ cm}^{-1}$  (smailė E) būdingas esterio grupėse esančių karbonilgrupių virpesiams [180]. TKK su adsorbuotomis CLR ir RZR spektruose smailė ties  $1690\text{ cm}^{-1}$  (smailė D) taip pat gali būti priskiriama šiems virpesiams, nes abi fenolinės rūgštys yra kavos rūgšties esteriai [179, 181].

### 3.4.3. Hidroksicinamono rūgščių atpalaidavimo iš tinklinio katijoninio krakmolo ir hidroksicinamono rūgščių kompleksų mikrogranulių tyrimai

Norint pritaikyti ketvirtinių aminorio grupių turinčius tinklinio katijoninio krakmolo darinius su imobilizuotomis fenolinėmis rūgštimis praktiniams tikslams, svarbus ne tik adsorbuotos rūgšties kiekis, bet ir jos atpalaidavimas reikiamoje terpėje. Atpalaidavimo tyrimams buvo naudotos TKK/KVR, TKK/CLR ir TKK/RZR kompleksų mikrogranulės, kurių 1 grame atitinkamai buvo 0,028 g, 0,085 g, 0,114 g

adsorbuotos KVR, CLR ir RZR (žr. 2.2.6 sk. metodiką). Kaip atpalaidavimo terpė buvo naudota 0,1 M HCl vandeninis tirpalas, distiliuotas vanduo, etanolis, fosfatinis ir acetatinis buferiniai tirpalai (žr. 3.3 ir 3.13 lent.). Bandyams buvo naudotas vienodas TKK/KVR, TKK/CLR ir TKK/RZR mikrogranulių kiekis. Tokiu būdu KVR, CLR ir RZR koncentracija atpalaidavimo terpėje, esant 100 % atpalaidavimui, atitinkamai būtų 0,055 g/l, 0,157 g/l ir 0,205 g/l. Ši koncentracija įvardyta kaip maksimaliai galima ( $C_{\max \text{ KVR}} = 55 \text{ mg/l}$ ,  $C_{\max \text{ CLR}} = 157 \text{ mg/l}$ ,  $C_{\max \text{ RZR}} = 205 \text{ mg/l}$ ).

**3.13 lentelė.** Iš TKK/KVR, TKK/CLR ir TKK/RZR mikrogranulių atpalaiduotas KVR, CLR ir RZR kiekis skirtingose atpalaidavimo terpėse per 30 min.

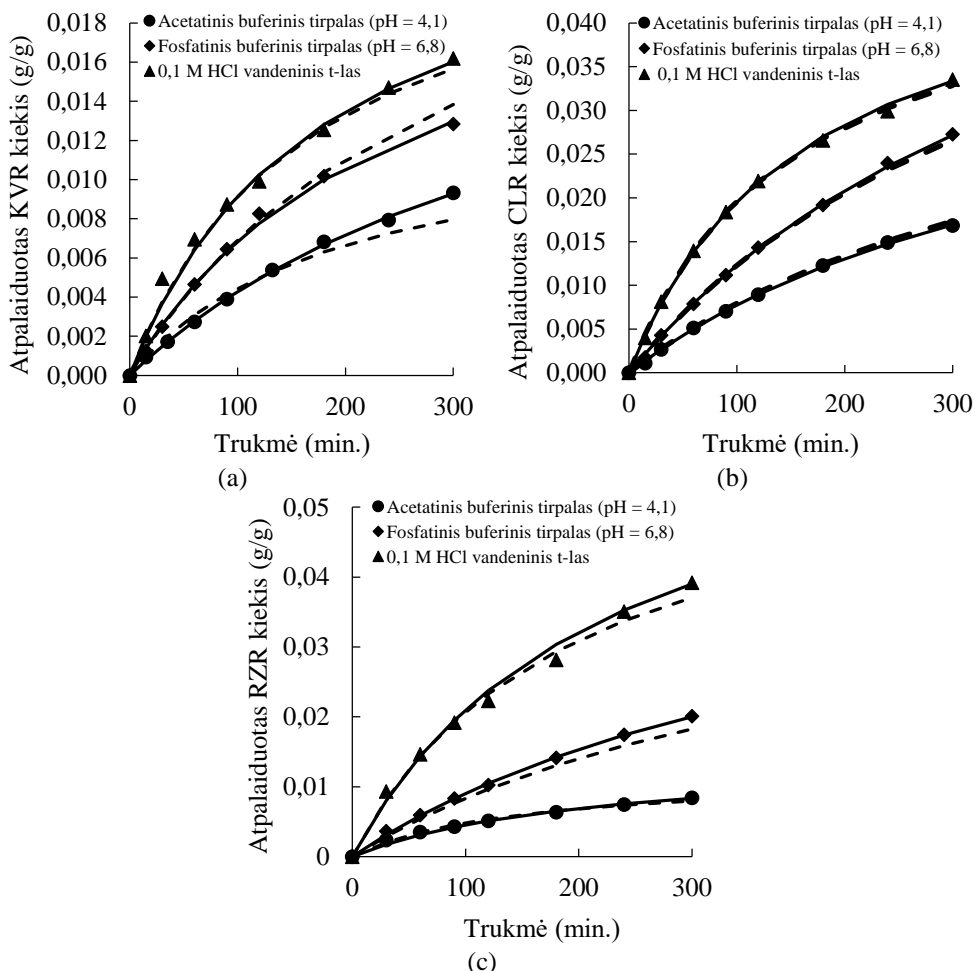
Atpalaidavimo terpė	Atpalaiduotas fenolinės rūgšties kiekis, (mg/l) / (%*)	
	KVR	RZR
0,1 M HCl vandeninis tirpalas (pH = 1)	44 / 80,8	164 / 79,7
Acetatinis buferinis tirpalas (pH = 4,1)	33 / 60,6	85 / 41,4
Fosfatinis buferinis tirpalas (pH = 6,8)	35 / 63,4	143 / 69,8
Distiliuotas vanduo	2 / 2,8	1 / 0,4
Etanolis	0 / 0	0 / 0

\*  $C_{\max \text{ KVR}} = 55 \text{ mg/l}$ ,  $C_{\max \text{ CLR}} = 157 \text{ mg/l}$ ,  $C_{\max \text{ RZR}} = 205 \text{ mg/l}$

Kaip matyti iš 3.3 ir 3.13 lent. pateiktų duomenų, visos trys hidroksicinamono rūgštys nėra atpalaiduojamos iš kompleksų mikrogranulių į gryną etanolį. Tuo metu į distiliuotą vandenį per 30 min. atpalaiduojama labai nedaug, tik 0,4–2,8 % rūgščių. Į acetatinį buferinį tirpalą, sudarytą iš acto rūgšties ir natrio acetato, KVR, CLR ir RZR atitinkamai atpalaiduojama 60,6 %, 64,5 % ir 41,4 %. Kiek didesnis fenolinių rūgščių kiekis yra atpalaiduojamas į fosfatinį iš dikalio vandenilio ir kalio divandenilio fosfatų tirpalų sudarytą buferinį tirpalą. Daugiausia KVR, CLR ir RZR, net 79,7–84,9 % nuo galimo kiekio buvo atpalaiduota į 0,1 M HCl vandeninį tirpalą. Be to, iš gautų rezultatų matyti, kad nors RZR buvo adsorbuota TKK mikrogranulėmis daugiausiai (0,114 g/g), jos atpalaiduota buvo mažiau nei KVR ar CLR. Taip pat, nepaisant skirtingo TKK adsorbuotos KVR ir CLR kiekio, iš kompleksų atpalaiduotų šių fenolinių rūgščių kiekis yra panašus.

Reikia paminėti, kad tiek hidroksicinamono rūgščių (KVR, CLR, RZR), tiek hidroksibenzenkarboksirūgšties (vanilino rūgšties) atpalaidavimo iš kompleksų mikrogranulių (žr. 3.3.2 poskyris) rezultatai koreliuoja tarpusavyje, t. y. stebima tokia pati fenolinių rūgščių atpalaidavimo priklausomybė nuo atpalaidavimo terpės.

Buvo iširta TKK adsorbuotų KVR, CLR ir RZR atpalaidavimo į 0,1 M HCl vandeninį tirpalą, acetatinį ir fosfatinį buferinius tirpalus, kinetika. Tyrimams naudotos atitinkamus KVR, CLR ir RZR kiekius turinčios kompleksų mikrogranulės, kaip ir vykdant anksčiau aprašytą atpalaidavimo tyrimą. Tirtų hidroksicinamono rūgščių atpalaidavimo iš kompleksų mikrogranulių į skirtingas terpes kinetinės kreivės pateiktos 3.16 paveiksle. Reikia paminėti, kad kinetinių tyrimų metu atpalaiduotos KVR, CLR ir RZR kiekis buvo daug mažesnis, nei anksčiau aprašytų, nes atpalaidavimas buvo vykdomas per pusiau pralaidžią modifikuotos celiuliozės membraną.



**3.16 pav.** KVR (a), CLR (b) ir RZR (c) atpalaidavimo iš kompleksų mikrogranulių į skirtingas atpalaidavimo terpes kinetinės kreivės. Taškai atitinka eksperimentinius duomenis, punktyrinės linijos nubraižytos naudojant I-ojo laipsnio kinetinės lygties rodiklius, išsitiesinės linijos – II-ojo laipsnio kinetinės lygties rodiklius

Naudojant metodinėje dalyje pateiktas pseudo-pirmojo (2.15) ir pseudo-antrojo (2.16) laipsnio kinetinių lygčių formules, buvo apskaičiuoti KVR, CLR ir RZR atpalaidavimo kinetinių lygčių rodikliai. Apskaičiuotos pseudo-pirmojo ir pseudo-antrojo laipsnio kinetinių lygčių rodiklių vertės kartu su tiesės lygties pasiklivimo lygio  $R^2$  vertėmis pateiktos 3.14 lentelėje.

**3.14 lentelė.** KVR, CLR ir RZR atpalaidavimo iš kompleksų mikrogranulių į skirtingas atpalaidavimo terpes kinetiniai rodikliai po 300 min.

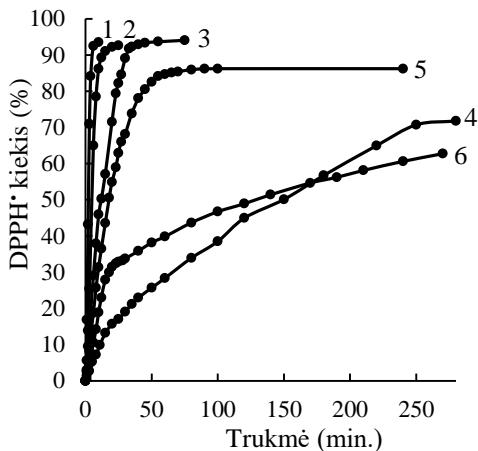
Atpalaidavimo terpė	Pseudo-pirmojo laipsnio kinetiniai rodikliai			Pseudo-antrojo laipsnio kinetiniai rodikliai			$q_e$ eksp. (g/g)
	$q_e$ (g/g)	$k_I$ (1/min.)	$R^2$	$q_e$ (g/g)	$k_{II}$ (g/g·min.)	$R^2$	
<b>KVR atpalaidavimas</b>							
Acetatinis buferinis tirpalas (pH = 4,1)	0,013	195,745	0,9963	0,022	0,106	0,9922	0,009
Fosfatinis buferinis tirpalas (pH = 6,8)	0,028	300,804	0,9989	0,024	0,174	0,9958	0,013
0,1 M HCl vandeninis tirpalas (pH = 1)	0,024	165,040	0,9999	0,026	0,217	0,9953	0,016
<b>CLR atpalaidavimas</b>							
Acetatinis buferinis tirpalas (pH = 4,1)	0,042	433,875	0,9989	0,042	0,054	0,9982	0,017
Fosfatinis buferinis tirpalas (pH = 6,8)	0,061	395,677	0,9997	0,068	0,032	0,9966	0,027
0,1 M HCl vandeninis tirpalas (pH = 1)	0,049	152,701	0,9999	0,051	0,119	0,9988	0,034
<b>RZR atpalaidavimas</b>							
Acetatinis buferinis tirpalas (pH = 4,1)	0,012	143,637	0,9918	0,014	0,331	0,9941	0,008
Fosfatinis buferinis tirpalas (pH = 6,8)	0,045	440,461	0,9989	0,051	0,043	0,9918	0,020
0,1 M HCl vandeninis tirpalas (pH = 1)	0,061	194,199	0,9918	0,068	0,065	0,9985	0,039

Tirtų fenolinių rūgščių atpalaidavimui į skirtingas terpes aprašyti tinka abi kinetinės lygtys, nes tiesės lygties pasiklivimo lygio  $R^2$  vertės yra didesnės nei 0,99. Naudojant abiejų kinetinių lygčių rodiklius buvo nubraižytos teorinės kinetinės kreivės, iš kurių matyti (žr. 3.16 pav.), kad naudojant pseudo-antrojo laipsnio lygties rodiklius nubrėžtos kreivės geriau atitinka eksperimentinius taškus. Tačiau, pagal pseudo-antrojo laipsnio lygtį apskaičiuoti teoriniai atpalaiduotos rūgšties kiekiai pusiausvyros sąlygomis  $q_e$ , yra daug didesni už gautus eksperimentų metu (žr. 3.14 lent.). Naudojant pseudo-pirmojo laipsnio lygties rodiklius, apskaičiuotos  $q_e$  vertės yra artimesnės eksperimentiniams duomenims. Todėl galima teigti, kad pseudo-pirmojo laipsnio kinetinė lygtis tinkamesnė aprašyti eksperimentinius duomenis.

**3.4.4. Tinklinio katijoninio krakmolo ir hidrokscinamono rūgščių kompleksų antioksidacinių savybių įvertinimas**

KVR, CLR ir RZR bei sudarytų kompleksų antioksidacinės savybės buvo iširtos modifikuotu DPPH' metodu ir išreikštos DPPH' laisvųjų radikalų sujungimo verte (%). Bandyams buvo naudotos TTK/KVR, TTK/CLR ir TTK/RZR kompleksų mikrogranulės, atitinkamai turinčios 0,013 g/l, 0,038 g/l ir 0,051 g/l

prijungtos KVR, CLR ir RZR. Grynųjų fenolinių rūgščių koncentracija bandiniuose buvo tokia pati kaip ir sudarytų atitinkamų kompleksų mikrogranulių dispersinėse sistemose. Gauti antioksidacinių savybių tyrimo rezultatai pateikti 3.17 paveiksle.



**3.17 pav.** DPPH<sup>•</sup> laisvųjų radikalų sujungimo priklausomybės nuo tyrimo trukmės kreivės: 1 – RZR; 2 – TKK/RZR; 3 – KVR; 4 – TKK/KVR; 5 – CLR; 6 – TKK/CLR. KVR, CLR, RZR koncentracija tirpaluose ir kompleksų mikrogranulių dispersinėse sistemose atitinkamai buvo 0,013 g/l, 0,038 g/l, 0,051 g/l

Remiantis mokslinės literatūros duomenimis, fenolinių rūgščių antioksidacinis aktyvumas priklauso nuo hidroksigrupių skaičiaus bei padėties molekulėje [15]. Didėjant hidroksigrupių skaičiui, didėja ir antioksidacinis aktyvumas. Pagal hidroksigrupių skaičiaus mažėjimą tirtas hidroksicinamono rūgštis galima išdėstyti šia tvarka: CLR > RZR > KVR. Be to, hidroksicinamono rūgščių dariniuose esanti –CH=CH–COOH grupė užtikrina didesnę antioksidacinę veiklumą nei hidroksibenzenkarboksirūgščių dariniuose esanti –COOH grupė, todėl kavos, chlorogeno ir rozmarino rūgščių antioksidinis poveikis yra didesnis nei vanilino rūgšties.

Kaip matyti iš gautų rezultatų, grynosios KVR, CLR ir RZR su DPPH<sup>•</sup> laisvaisiais radikalais sureagoja greitai ir, nepaisant skirtingos fenolinių rūgščių koncentracijos tiriamajame tirpale, pasižymi gana dideliu antioksidaciniu efektyvumu (DPPH<sup>•</sup> sujungimas > 86 %) (žr. 3.17 pav., 1, 3, 5 kr.). TKK/KVR, TKK/CLR kompleksai su DPPH<sup>•</sup> radikalais reaguoja lėčiau (žr. 3.17 pav., 4, 6 kr.), kadangi eksperimento metu pusiausvyrai tarp fenolinių rūgščių koncentracijos dializės kapsulėje ir išoriniame DPPH<sup>•</sup> tirpale pasiekti reikia daugiau laiko. Galima paminėti, kad DPPH<sup>•</sup> radikalų sujungimas po 270 min. dar nebuvo pasibaigęs. Tuo metu TKK/RZR sujungia DPPH<sup>•</sup> radikalus gana greitai (žr. 3.17 pav., 2 kr.), tačiau vis dėlto lėčiau nei viena RZR. Lėtesnis DPPH<sup>•</sup> laisvųjų radikalų sujungimas yra vienareikšmiškai susijęs su KVR, CLR ir RZR atpalaidavimu iš TKK mikrogranulių.

Apibendrinant gautus antioksidacinių savybių tyrimų rezultatus galima daryti išvadą, kad sudaryti TKK/KVR, TKK/CLR ir TKK/RZR kompleksai pasižymi

pailginto veikimo antioksidaciniu poveikiu, kuris siejamas su laipsnišku fenolinių rūgščių atpalaidavimu iš TKK mikrogranulių.

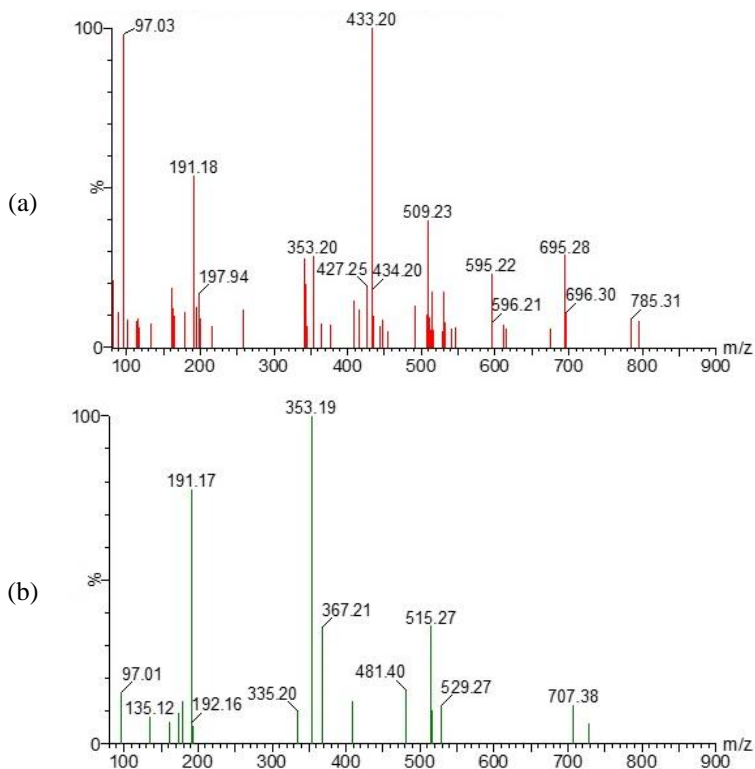
### **3.5. Tinklinio katijoninio krakmolo ir augalinių ekstraktų kompleksų tyrimai**

Fenolinių rūgščių imobilizavimui galima naudoti ne tik grynąsias rūgštis, bet ir augalinius ekstraktus, nes juose gausu įvairių fenolinių junginių. Artišokų lapų ir žalios kavos pupelių ekstraktų sudėtyje gausu fenolinių junginių, kurių didžiąją dalį sudaro chlorogeno rūgštis [182–185] suteikianti augaliniams ekstraktams antioksidacines [186, 187], priešuždegimines [188] ir antimikrobines [189] savybes. Šiame darbo etape ištirtas ketvirtinių amonio grupių turinčio tinklinio katijoninio krakmolo ir fenolinių junginių, esančių artišokų ir žaliųjų kavos pupelių ekstraktuose, kompleksų susidarymas.

#### **3.5.1. Augalinių ekstraktų sudėties tyrimai efektyviosios skysčių chromatografijos metodu**

Augalinių ekstraktų fenoliniai junginiai identifikuoti panaudojus ESC-UV-MS/MS metodą. Įvertinus artišokų ekstrakto (AE) masių spektrą (žr. 3.18 pav., a) nustatyta, kad jame dominuoja jonas, kurio  $m/z$  yra 353. Ši smailė yra būdinga kafeoilchino rūgščių (chlorogeno rūgšties izomerų): chlorogeno (3-*O*-kafeoilchino), neochlorogeno (5-*O*-kafeoilchino) ir kriptochlorogeno (4-*O*-kafeoilchino) spektrams. Jonai, kurių  $m/z$  yra 515 ir 191 atitinkamai priskiriami dikafeoilchino dariniui cinarinui ir chino rūgščiai. Be to, AE identifikuotas flavonoidas – liuteolin-7-*O*-gliukozidas, kurio jono  $m/z$  yra 447, bei aptikti apigenino gliukozido pėdsakai ( $m/z$  427).

Kiekybinei AE analizei buvo atrinkti dominuojantys junginiai: chlorogeno, neochlorogeno ir kriptochlorogeno rūgštys, cinarinas ir liuteolino 7-*O*-gliukozidas. Tyrimas vykdytas ultraefektyviosios skysčių chromatografijos skirstymo sąlygomis, eliuento komponentų detekcijai taikant ultravioletinės šviesos absorbcijos rodiklį skirtingo ilgio bangų srityse: 325 nm bangos ilgio – chlorogeno, neochlorogeno, kriptochlorogeno ir bendro fenolinių junginių kiekio nustatymui (taikant chlorogeno standartinių tirpalų gradavimo grafiko tiesinę funkciją), 321 nm bangos ilgio – cinarino nustatymui ir 347 nm bangos ilgio – liuteolin-7-*O*-gliukozido nustatymui. Kiekybiniam įvertinimui naudoti smailių plotai, o bendram fenolinių junginių kiekiui įvertinti – smailių plotų suma. Nustatyta, kad sausų AE miltelių sudėtyje yra 8,1 % fenolinių junginių, tarp kurių dominuoja chlorogeno rūgštis (1,5 %), liuteolin-7-*O*-gliukozidas (0,6 %), kriptochlorogeno rūgštis (0,5 %) neochlorogeno rūgštis (0,3 %) ir cinarinas (0,2 %).



**3.18 pav.** AE (a) ir ŽKPE (b) eliuato masių spektras

Žaliųjų kavos pupelių ekstrakto (ŽKPE) masių spektre (žr. 3.18 pav., b) dominuoja jonai, kurių  $m/z$  yra 353 ir 707 ir yra būdingi kafeoilchino rūgšties dariniams (chlorogeno rūgšties izomerams). Antra pagal intensyvumą masių spektre yra chino rūgšties jono, kurio  $m/z$  yra 191, smailė. Jonas, kurio  $m/z$  yra 515 priskiriamas dikafeoilchino dariniams. Jonas, kurio  $m/z$  yra 367 žymi ferulo rūgšties ir chino rūgščių darinius, kuriuos ŽKPE nustatė ir kiti mokslininkai [189]. Jonas, kurio  $m/z$  yra 179 yra būdingas kavos rūgščiai ir jos dariniams, o jonas, kurio  $m/z$  yra 335 – kafeoilchino fragmentui, nuo kurio atskeltas neutralus  $H_2O$ . Taip pat nustatytas kumaro darinių antrinis fragmentas, kurio  $m/z$  yra 481. Analogišką fragmentą ( $m/z$  482,6–482,9) atlikdamas tyrimus kartu su kolegomis nustatė ir Alonso-Salcer'is [190].

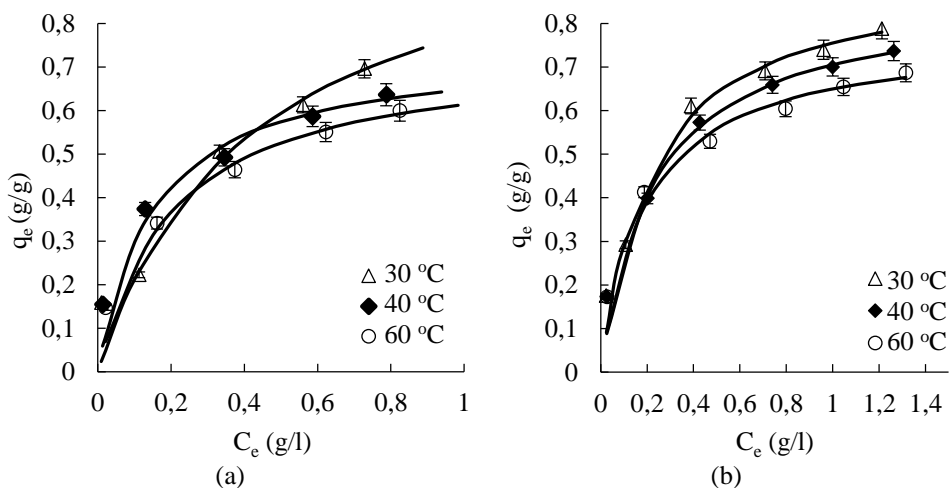
Kiekybei analizei buvo atrinkti dominuojantys ŽKPE junginiai: chlorogeno, neochlorogeno ir kriptochlorogeno rūgštys. Tyrimas vykdytas ultraefektyviosios skysčių chromatografijos skirstymo sąlygomis eliuento komponentų detekcijai taikant ultravioletinės šviesos absorbcijos rodiklį (325 nm). Analogiškai, kaip ir AE atveju, kiekybiniam įvertinimui naudoti smailių plotai, o bendro fenolinių junginių rodiklių įvertinimui – ir smailių plotų suma. Nustatyta, kad pradinio sausojo ŽKPE sudėtyje yra 74,6 % fenolinių junginių (vertinant chlorogeno rūgšties ekvivalentu), tarp kurių



dominuoja chlorogeno rūgštis (32,5 %), neochlorogeno rūgštis (6,6 %) ir kriptochlorogeno rūgštis (10,4 %).

### 3.5.2. Augalinių ekstraktų pusiausvyrosios adsorbcijos tinklinio katijoninio krakmolo mikrogranulėmis tyrimai

Remiantis 3.5.1 skyrelyje pateiktais duomenimis, AE ir ŽKPE sudėtyje atitinkamai buvo 8,1 % ir 74,6 % fenolinių junginių, tarp kurių chlorogeno rūgšties izomerai (chlorogeno, neochlorogeno ir kriptochlorogeno rūgštys) atitinkamai sudarė 2,3 % ir 49,5 %. Šių ir kitų ekstraktuose esančių junginių ir TKK kompleksų susidarymas buvo ištirtas įvertinus pusiausvyrajį AE ir ŽKPE adsorbciją TKK mikrogranulėmis 30 °C, 40 °C ir 60 °C temperatūrose. Gautoms adsorbcijos izotermėms aprašyti pritaikytas Lengmiūro adsorbcijos modelis. Gautos adsorbcijos izotermės pateiktos 3.19 paveiksle.



**3.19 pav.** AE (a) ir ŽKPE (b) adsorbcijos TKK mikrogranulėmis izotermės skirtingose temperatūrose. Taškai atitinka eksperimentinius duomenis, kreivės nubraižytos naudojant Lengmiūro adsorbcijos modelio rodiklius

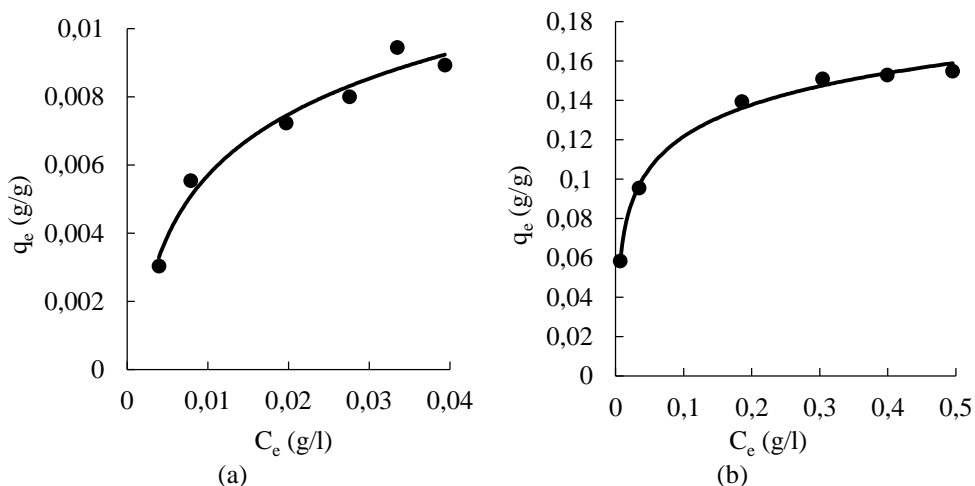
Adsorbuotas AE ir ŽKPE kiekis nustatytas įvertinus augalinių ekstraktų vandeninių tirpalų prieš ir po adsorbcijos koncentracijos pokyčius. Lengmiūro sorbcinės gebos  $Q_L$  bei pusiausvyros konstantos  $K_L$  vertės kartu su tiesės lygties pasiklivimo lygio  $R^2$  vertėmis pateiktos 3.15 lentelėje.

**3.15 lentelė.** AE ir ŽKPE adsorbcijos TKK mikrogranulėmis izotermių Lengmiūro adsorbcijos modelio rodikliai

$T$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$Q_L$ (g/g)	$K_L$ (l/mol)	$R^2$
<b>AE adsorbcija</b>			
30	1,10	2,35	0,9916
40	0,75	6,69	0,9938
60	0,74	4,93	0,9969
<b>ŽKPE adsorbcija</b>			
30	0,93	4,45	0,9983
40	0,87	4,31	0,9996
60	0,78	5,06	0,9963

Kaip matyti iš 3.19 pav. ir 3.15 lent. pateiktų duomenų, didėjant adsorbcijos temperatūrai, adsorbuotų AE ir ŽKPE kiekiai mažėja. Taip temperatūros adsorbcijos procesas yra veikiamas vykstant chemisorbcijai [160, 191]. Be to, didelės tiesės lygties pasiklovimo lygio vertės ( $R^2 > 0,99$ ) patvirtina, kad augalinių ekstraktų adsorbciją gerai aprašo Lengmiūro adsorbcijos modelis, t. y. ekstraktuose esantys anijoniniai fenoliniai junginiai dėl elektrostatinės sąveikos buvo adsorbuoti tinklinio katijoninio krakmolo ketvirtinėmis amonio grupėmis.

AE ir ŽKPE vandeninių tirpalų ir CLR vandeninio tirpalo charakteringi UV absorbcijos maksimumai sutampa ( $\lambda_{\text{max}} = 325$  nm). Taigi, įvertinus adsorbuotą AE ir ŽKPE kiekį UV absorbcijos metodu, buvo įvertintas visų fenolinių junginių, turinčių UV absorbciją ties 325 nm, kiekis. Tiksliam adsorbuotų CLR izomerų kiekiui nustatyti, tirpalai po adsorbcijos buvo analizuoti ESC-UV-MS/MS metodu. Gautos adsorbcijos izotermės pavaizduotos 3.20 pav., o apskaičiuoti Lengmiūro adsorbcijos modelio rodikliai pateikti 3.16 lentelėje.



**3.20 pav.** AE (a) ir ŽKPE (b) esančių CLR izomerų adsorbcijos TKK mikrogranulėmis 30  $^{\circ}\text{C}$  temperatūroje izotermės. Taškai atitinka eksperimentinius duomenis, kreivės nubraižytos naudojant Lengmiūro adsorbcijos modelio rodiklius

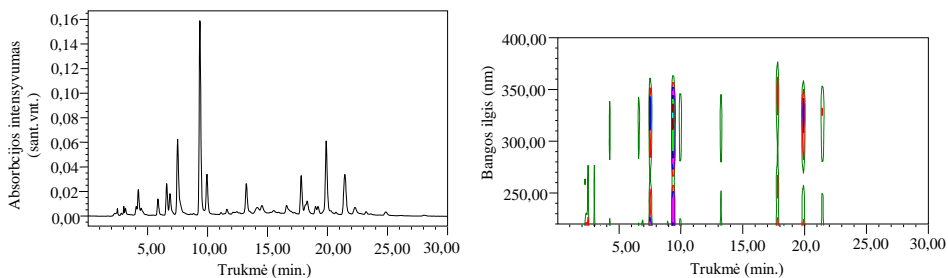
**3.16 lentelė.** AE ir ŽKPE esančių CLR izomerų adsorbcijos TKK mikrogranulėmis izotermių Lengmiūro adsorbcijos modelio rodikliai

Augalinis ekstraktas	$Q_L$ (g/g)	$K_L$ (l/mol)	$R^2$
AE	0,09	153,8	0,9933
ŽKPE	0,16	50,4	0,9992

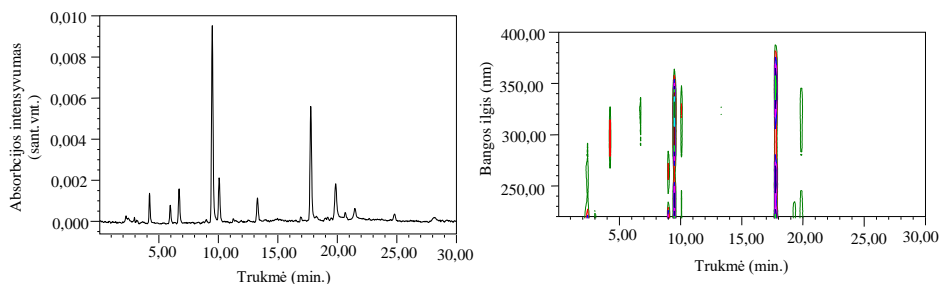
Augalinių ekstraktų adsorbcijai apskaičiuotas Lengmiūro sorbcinės gebos  $Q_L$  vertes (žr. 3.15 lent.) palyginus su šiomis vertėmis, gautomis įvertinus CLR izomerų adsorbciją (žr. 3.16 lent.), matyti, kad chlorogeno, neochlorogeno ir kriptochlorogeno rūgštys atitinkamai sudaro tik 8 % ir 17 % viso adsorbuoto AE ir ŽKPE kiekio. Galima daryti išvadą, kad kiti fenoliniai junginiai konkuruoja su CLR izomerais adsorbcijos TKK metu. Šiuo atveju adsorbcijos procesą gali veikti ir erdviniai trukdžiai bei skirtingas ekstraktuose esančių fenolinių junginių giminingumas adsorbentui [159].

Kadangi ESC-UV-MS/MS metodu buvo nustatyta, kad AE ir ŽKPE dominuoja chlorogeno, neochlorogeno ir kriptochlorogeno rūgštys (žr. 3.4.1 poskyrį), šių CLR izomerų adsorbcijai TKK patvirtinti buvo užrašytos pradinė AE ir ŽKPE vandeninių tirpalų bei AE ir ŽKPE vandeninių tirpalų po adsorbcijos chromatogramos. ESC eliuacijos kreivės, gautos esant 325 nm bangos ilgio UV spindulių detekcijai ir chromatogramų projekcinės apybrėžos 200–400 nm intervale yra pateiktos 3.21 pav. Fenolinių junginių projekcinių apybrėžų dėmės, kurios rodo, kad šių junginių adsorbcijos maksimumai yra 270–350 nm intervale, būdingos fenolinių junginių chromoforų grupėms. Tiek AE, tiek ŽKPE dominuojanti chlorogeno rūgštis buvo eliuuojama po 9,5 min., neochlorogeno rūgštis – po 7 min. ir kriptochlorogeno rūgštis – po 10 min.

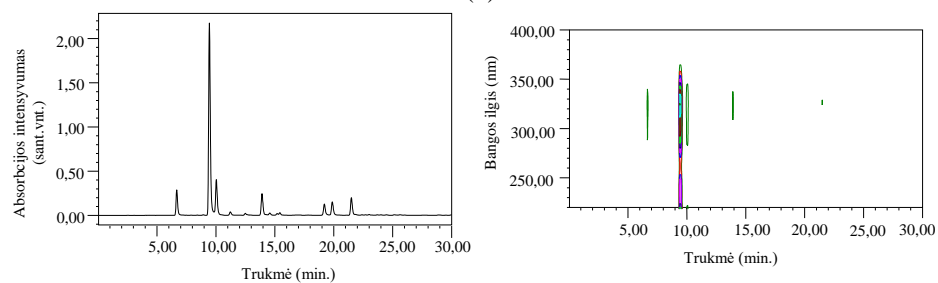
Lyginant pradinių AE ir ŽKPE tirpalų chromatogramas su tirpalų po adsorbcijos chromatogramomis bei jų projekcines apybrėžas, pastebėti chromatografinių smailių intensyvumo pokyčiai. Nustatyta, kad iš AE tirpalo 1 g TKK mikrogranulių buvo adsorbuota 80,4 % silpnai hidrofilinės chlorogeno rūgšties, 76,7 % neochlorogeno rūgšties, 82,0 % kriptochlorogeno rūgšties ir 82,3 % didesnio lipofiliškumo dikafeoilchino rūgšties darinio cinarino. Flavonoido liuteolino 7-*O*-gliukozido adsorbuota tik 38,4 %. ŽKPE adsorbcijos atveju, 1 g mikrogranulių iš ŽKPE tirpalo buvo adsorbuota 84,9 % chlorogeno rūgšties, 81,4 % neochlorogeno rūgšties ir 83,1 % kriptochlorogeno rūgšties. Kadangi iš ŽKPE tirpalo TKK mikrogranulėmis adsorbuotų kafeoilchino rūgščių kiekis yra panašus kaip ir AE adsorbcijos atveju, galima teigti, kad tiek AE, tiek ŽKPE adsorbcijos TKK mechanizmai buvo panašūs ir adsorbcijos proceso nelėmė skirtinga tirpalų sudėtis.



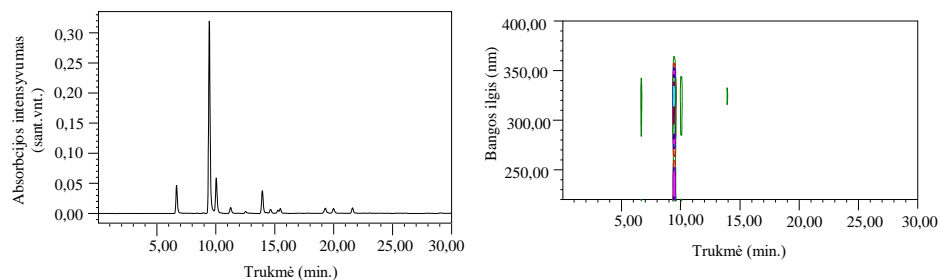
(a)



(b)



(c)



(d)

**3.21 pav.** Augalinių ekstraktų vandeninių tirpalų ESC-UV 325 nm elucijos kreivės (kairėje) ir chromatogramų projekcinės apybrėžos 200–400 nm bangų ilgių intervale (dešinėje): a – AE vandeninis tirpalas; b – AE vandeninis tirpalas po adsorbcijos TKK; c – ŽKPE vandeninis tirpalas; d – ŽKPE vandeninis tirpalas po adsorbcijos TKK

Iš 3.21 pav. pateiktų chromatogramų taip pat matyti, kad iš pradinių AE ir ŽKPE tirpalų buvo adsorbuotos ne tik chlorogeno, neochlorogeno ir kriptochlorogeno rūgštys (AE adsorbcijos atveju ir cinarinas), bet ir kiti neidentifikuoti fenoliniai junginiai.

### 3.5.3. Augalinių ekstraktų atpalaidavimo iš augalinių ekstraktų ir tinklinio katijoninio krakmolo kompleksų mikrogranulių tyrimai

Adsorbcijos tyrimai parodė, kad CLR izomerai ir kiti fenoliniai junginiai gali būti sėkmingai adsorbuoti iš AE ir ŽKPE vandeninių tirpalų TKK mikrogranulėmis. Praktiniu požiūriu ne mažiau svarbus yra šių biologiškai aktyvių junginių atpalaidavimas iš gautų kompleksų mikrogranulių. Augalinių ekstraktų atpalaidavimas iš gautų kompleksų mikrogranulių buvo ištirtas, kaip atpalaidavimo terpę naudojant 0,1 M HCl vandeninį tirpalą, distiliuotą vandenį, etanolį, fosfatinį ir acetatinį buferinius tirpalus (žr. 3.17 lent.). Tyrimams naudotos TKK/AE ir TKK/ŽKPE mikrogranulės, kurių 1 grame atitinkamai buvo 0,172 g ir 0,149 g adsorbuotų AE ir ŽKPE (žr. 2.2.6 sk. metodiką). Atliekant eksperimentus naudoti tokie TKK/AE ir TKK/ŽKPE mikrogranulių kiekiai, kad esant 100 % augalinių ekstraktų atpalaidavimui iš TKK/AE ir TKK/ŽKPE mikrogranulių, jų koncentracija atpalaidavimo tirpale būtų 0,29 g/l. Ši koncentracija įvardyta kaip maksimaliai galima ( $C_{\max} = 290$  mg/l).

**3.17 lentelė.** Iš TKK/AE ir TKK/ŽKPE kompleksų mikrogranulių atpalaiduotas AE ir ŽKPE kiekis skirtingose atpalaidavimo terpėse po 30 min.

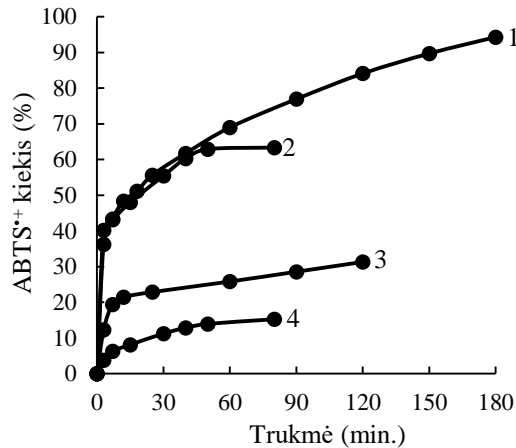
Atpalaidavimo terpė	Atpalaiduoto augalinio ekstrakto kiekis, (mg/l) / (%*)	
	AE	ŽKPE
0,1 M HCl vandeninis tirpalas (pH = 1)	249 / 84,8	214 / 73,8
Acetatinis buferinis tirpalas (pH = 4,1)	121 / 41,2	130 / 45,0
Fosfatinis buferinis tirpalas (pH = 6,8)	191 / 65,0	171 / 59,1
Distiliuotas vanduo	3 / 1,0	0 / 0

\*nuo  $C_{\max} = 290$  mg/l

Kaip matyti iš 3.17 lent. pateiktų duomenų, didžiausi AE ir ŽKPE kiekiai, atitinkamai 84,4 % ir 73,8 % nuo galimo, yra atpalaiduojami į 0,1 M HCl tirpalą. Į buferinį tirpalą iš gautų kompleksų mikrogranulių atpalaiduotų AE ir ŽKPE kiekis labai priklausė nuo buferinio tirpalo sudėties. Į fosfatinį buferinį tirpalą, sudarytą iš dikalio vandenilio ir kalio divandenilio fosfatų, AE atpalaiduota 65,0 %, ŽKPE – 59,1 %. Į acetatinį buferinį tirpalą, sudarytą iš acto rūgšties ir natrio acetato, AE ir ŽKPE iš kompleksų atpalaiduota mažiau nei į fosfatinį buferinį tirpalą, atitinkamai 41,2 % ir 45 %. Be to, augaliniai ekstraktai iš sudarytų kompleksų į gryną etanolį neatpalaiduojami. Taip pat nustatyta, kad ŽKPE atpalaidavimas į distiliuotą vandenį nevyko, o AE buvo atpalaiduota labai nedaug ~1,0 %.

### 3.5.4. Augalinių ekstraktų ir tinklinio katijoninio krakmolo kompleksų antioksidacinių savybių įvertinimas

Efektyviosios skysčių chromatografijos tyrimai parodė, kad TKK mikrogranulėmis yra adsorbuojami ne tik CLR izomerai, bet ir kiti fenoliniai junginiai. Tai leidžia daryti prielaidą, kad TKK adsorbuotų biologiškai aktyvių junginių sudėtis skiriasi nuo pradinių AE ir ŽKPE sudėties. Šie skirtumai gali lemti ir gautų kompleksų antioksidacines savybes. AE, ŽKPE, TKK/AE ir TKK/ŽKPE kompleksų antioksidacinis poveikis buvo įvertintas nustačius ABTS<sup>+</sup> laisvųjų radikalų sujungimo priklausomybę nuo tyrimo trukmės. Gauti antioksidacinių savybių tyrimo rezultatai pateikti 3.22 paveiksle.



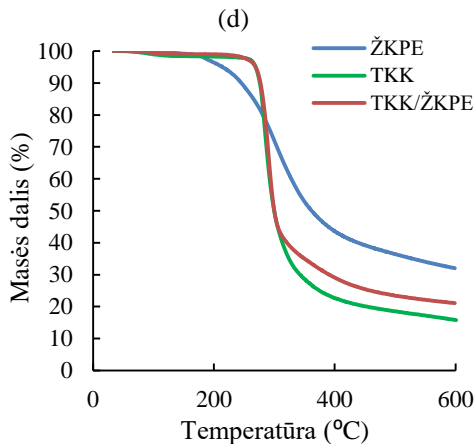
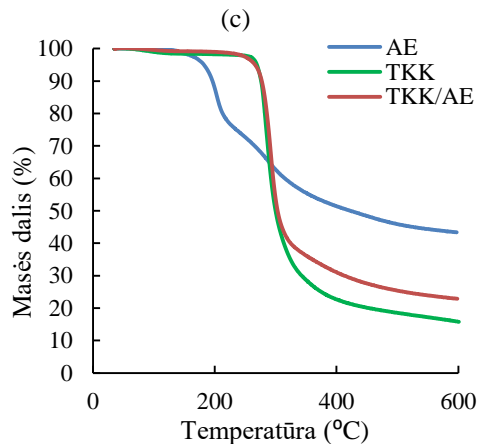
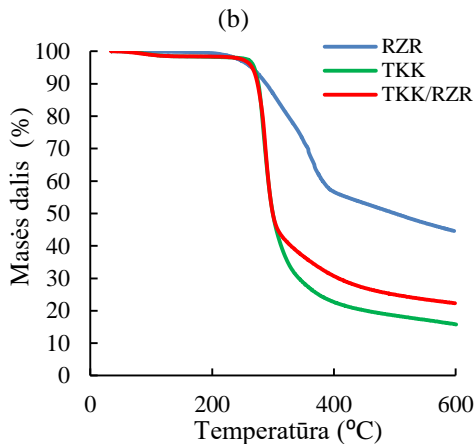
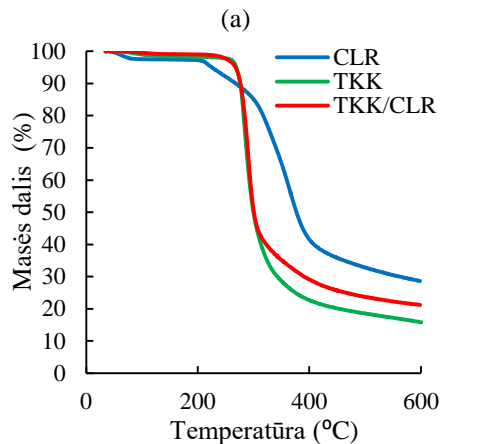
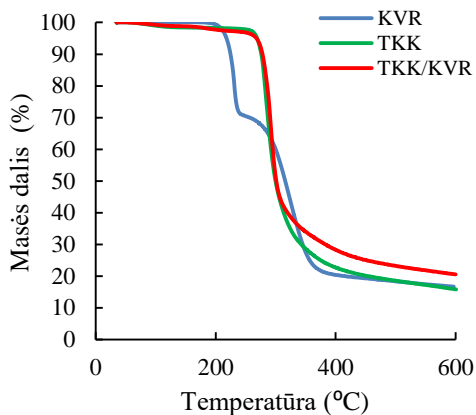
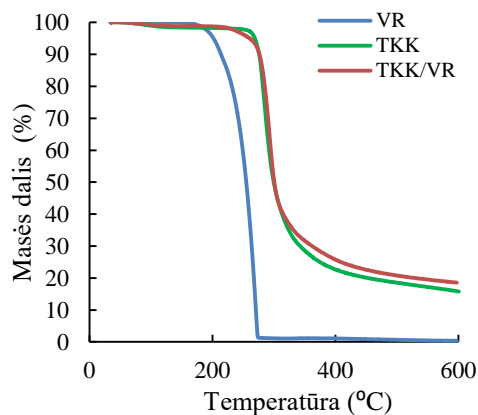
3.22 pav. ABTS<sup>+</sup> laisvųjų radikalų sujungimo priklausomybės nuo tyrimo trukmės kreivės: 1 – TKK/ŽKPE; 2 – ŽKPE; 3 – TKK/AE; 4 – AE. Augalinių ekstraktų koncentracija bandiniuose – 0,0154 g/l

Kaip matyti iš gautų rezultatų, TKK mikrogranulėmis adsorbuotų fenolinių junginių antioksidacinis efektyvumas yra didesnis negu AE ir ŽKPE. Kadangi fenolinių rūgščių antioksidacinis aktyvumas priklauso nuo hidroksigrupių skaičiaus bei padėties molekulėje, penkias hidroksigrupes turintys CLR izomerai turėjo didžiausią įtaką augalinių ekstraktų ir sudarytų kompleksų antioksidaciniam aktyvumui. Be to, iš efektyviosios skysčių chromatografijos duomenų yra žinoma, kad ne tik CLR izomerai yra adsorbuojami iš AE ir ŽKPE. ŽKPE sudėtyje esanti kavos rūgštis ar AE sudėtyje esantis cinarinas, taip pat gali būti tarp TKK adsorbuotų neidentifikuotų fenolinių junginių. Galima teigti, kad fenolinių rūgščių dominavimas TKK/AE ir TKK/ŽKPE kompleksų mikrogranulėse lemia didesnę jų antioksidacinį efektyvumą lyginant su pačių ekstraktų efektyvumu. TKK/AE atveju ABTS<sup>+</sup> laisvųjų radikalų sujungimo efektyvumas yra net dvigubai didesnis negu AE (žr. 3.22 pav. 3 ir 4 kr.). Reikia paminėti, kad TKK/ŽKPE mikrogranulės pasižymi ne tik didesniu antioksidaciniu efektyvumu (žr. 3.22 pav. 1 ir 2 kr.), bet ir pailginto veikimo antioksidaciniu poveikiu dėl palaipsninio augalinio ekstrakto aktyviųjų komponentų atpalaidavimo į tirpalą iš TKK/ŽKPE komplekso.

Apibendrinant gautus duomenis galima teigti, kad AE ir ŽKPE sudėtyje esantys chlorogeno rūgšties izomerai (chlorogeno, neochlorogeno ir kriptochlorogeno rūgštys) ir kiti anijoniniai fenoliniai junginiai dėl elektrostatinės sąveikos yra adsorbuojami tinklinio katijoninio krakmolo ketvirtinėmis amonio grupėmis. Be to, adsorbuotų fenolinių junginių dominavimas TKK/AE ir TKK/ŽKPE kompleksų mikrogranulėse lemia didesnę jų antioksidacinę efektyvumą.

### **3.6. Tinklinio katijoninio krakmolo ir fenolinių rūgščių kompleksų bei augalinių ekstraktų kompleksų termogravimetrinė analizė**

Ankstesniuose poskyriuose pateikti rezultatai leidžia daryti prielaidą, kad tinklinio katijoninio krakmolo ir fenolinių rūgščių kompleksai galėtų būti panaudoti antioksidaciniu veiklumu pasižymintiems produktams gauti. Kadangi TKK/KVR, TKK/CLR, TKK/RZR, TKK/AE ir TKK/ŽKPE kompleksai pasižymi pailginto veikimo antioksidaciniu poveikiu, jie galėtų būti panaudoti kaip antioksidacinių savybių turintys priedai kosmetikos produktų gamyboje. Tokios gamybos metu dažnai procesai vykdomi ir aukštoje temperatūroje, todėl yra svarbu žinoti ar fenolinių rūgščių bei augalinių ekstraktų ir tinklinio katijoninio krakmolo kompleksai yra termiškai stabilūs. TKK, VR, KVR, CLR, RZR, AE, ŽKPE ir sudarytų kompleksų termogramos yra pateiktos 3.23 pav., o terminio skilimo pradžios temperatūra ir masės nuostoliai pateikti 3.18 lentelėje.



**3.23 pav.** TKK, VR, KVR, CLR, RZR, AE, ŽKPE ir jų kompleksų termogramos: a – VR, TKK, TKK/VR; b – KVR, TKK, TKK/KVR; c – CLR, TKK, TKK/CLR; d – RZR, TKK, TKK/RZR; e – AE, TKK, TKK/AE; f – ŽKPE, TKK, TKK/ŽKPE. Temperatūros kėlimo greitis 10 °C/min., N<sub>2</sub> aplinka



**3.18 lentelė.** TKK, VR, KVR, CLR, RZR ir jų kompleksų charakteringieji terminės destrukcijos rodikliai

Bandinys	Terminės destrukcijos pradžios temperatūra (°C)	Masės nuostoliai (%)
VR	192	98
KVR	219	83
CLR	206	71
RZR	245	55
AE	186	56
ŽKPE	177	68
TKK/VR	276	81
TKK/KVR	279	79
TKK/CLR	277	79
TKK/RZR	276	78
TKK/AE	277	77
TKK/ŽKPE	276	79
TKK	273	84

Iš pateiktų duomenų matyti, kad TKK terminis skilimas prasideda 273 °C temperatūroje bandinio masei sumažėjant 84 %. Nepaisant nedidelių skirtumų, lyginant masės nuostolius terminio skilimo pabaigoje, TKK ir TKK/VR komplekso termogramos iš esmės nesiskyrė (žr. 3.18 pav., a). TKK/VR komplekso terminis skilimas prasideda 276 °C temperatūroje, o masės nuostoliai siekia 81 %. Reikia paminėti, kad VR terminis skilimas prasideda 192 °C temperatūroje susidarant 98 % masės nuostoliams. Kaip matyti iš VR termogravimetrinės kreivės, 273 °C temperatūroje VR beveik iki galo sublimavosi. O KVR terminis skilimas vyko dviem stadijomis, esant pirmos stadijos destrukcijos pradžios temperatūrai 219 °C ir antros stadijos destrukcijos pradžios temperatūrai 235 °C bei susidarant masės nuostoliams, atitinkamai 28 % ir 83 % (žr. 3.18 pav., b). Tačiau TKK/KVR komplekso terminė destrukcija vyko viena stadija esant terminės destrukcijos pradžios temperatūrai 279 °C ir pasiekiant 79 % masės nuostolius. CLR ir RZR terminis skilimas atitinkamai prasideda 209 °C ir 245 °C temperatūrose (žr. 3.18 pav. c ir d). TKK/CLR ir TKK/RZR terminė destrukcija prasideda aukštesnėje temperatūroje negu CLR ar RZR, atitinkamai 277 °C ir 276 °C temperatūrose, esant masės nuostoliams 79 % ir 78 %. Kaip ir grynųjų fenolinių rūgščių atveju, TKK/AE ir TKK/ŽKPE kompleksų terminė destrukcija prasideda aukštesnėje temperatūroje lyginant su AE ar ŽKPE terminės destrukcijos pradžios temperatūra. Be to, tiek TKK/AE, tiek TKK/ŽKPE kompleksų termogramos yra panašios (žr. 3.18 pav., e ir f), t. y. terminės destrukcijos pradžios temperatūros yra atitinkamai 277 °C ir 276 °C esant masės nuostoliams 77 % ir 79 %. Mokslinėje literatūroje teigiama, kad vykstant fenolinių rūgščių terminei destrukcijai iš pradžių vyksta dekarboksilinimo reakcija, o po to skyla hidroksigrupės [192, 193].

Iš 3.18 lent. pateiktų duomenų matyti, kad visų kompleksų terminis skilimas prasideda temperatūroje, artimoje TKK terminės destrukcijos pradžios temperatūrai.

VR, KVR, CLR, RZR, AE ir ŽKPE imobilizavus TKK granulėse, jų terminis stabilumas atitinkamai padidėjo 84, 60, 71, 31, 91 ir 99 °C.

Apibendrinant termogravimetrinės analizės rezultatus galima teigti, kad fenolinių rūgščių bei augalinių ekstraktų ir TKK kompleksams būdinga aukštesnė terminės destrukcijos pradžios temperatūra negu pačių fenolinių rūgščių terminio skilimo atveju. Fenolines rūgštis ar augalinius ekstraktus imobilizavus TKK granulėse, jų terminis stabilumas padidėjo 31–99 °C.

### **3.7. Chitozano ir chlorogeno rūgšties bei augalinių ekstraktų kompleksų tyrimai**

Chitozanas – gamtinės kilmės katijoninis polisacharidas, pasižymintis tokiomis specifinėmis savybėmis kaip klampos kontroliavimas, polielektrolitinių kompleksų sudarymas, plėvelių suformavimas ir t. t. [194, 195]. Be to, dėl savo netoksiškumo, biologinio suderinamumo ir bioskaidumo, chitozanas plačiai naudojamas maisto, audinių inžinerijos, farmacijos, tekstilės, žemės ūkio, vandens valymo ir kosmetikos pramonėje [196–200]. Pastaruoju metu ypatingas dėmesys yra skiriamas biopolimerų – bioaktyviųjų medžiagų daugiafunkcinių pernašos sistemų su tikslinga aktyviųjų junginių pernaša ir atpalaidavimu bei didesniu biologiniu prieinamumu kūrimui [84, 201, 202].

Remiantis teorines literatūros duomenimis, katijoninis polisacharidas chitozanas gali sudaryti polielektrolitinius kompleksus su anijoninių grupių turinčiais polimerais [203] arba joninius kompleksus su anijoniniais mažamolekuliais junginiais [204]. Kompleksai susidaro dėl elektrostatinės sąveikos tarp priešingo krūvio ženklų grupių. Per pastaruosius kelerius metus, chitozano – bioaktyviųjų junginių kompleksai sulaukė nemažai dėmesio, nes sudaryti kompleksai gali pasižymėti naudingomis abiejų komplekso komponentų savybėmis [84, 202, 205, 206].

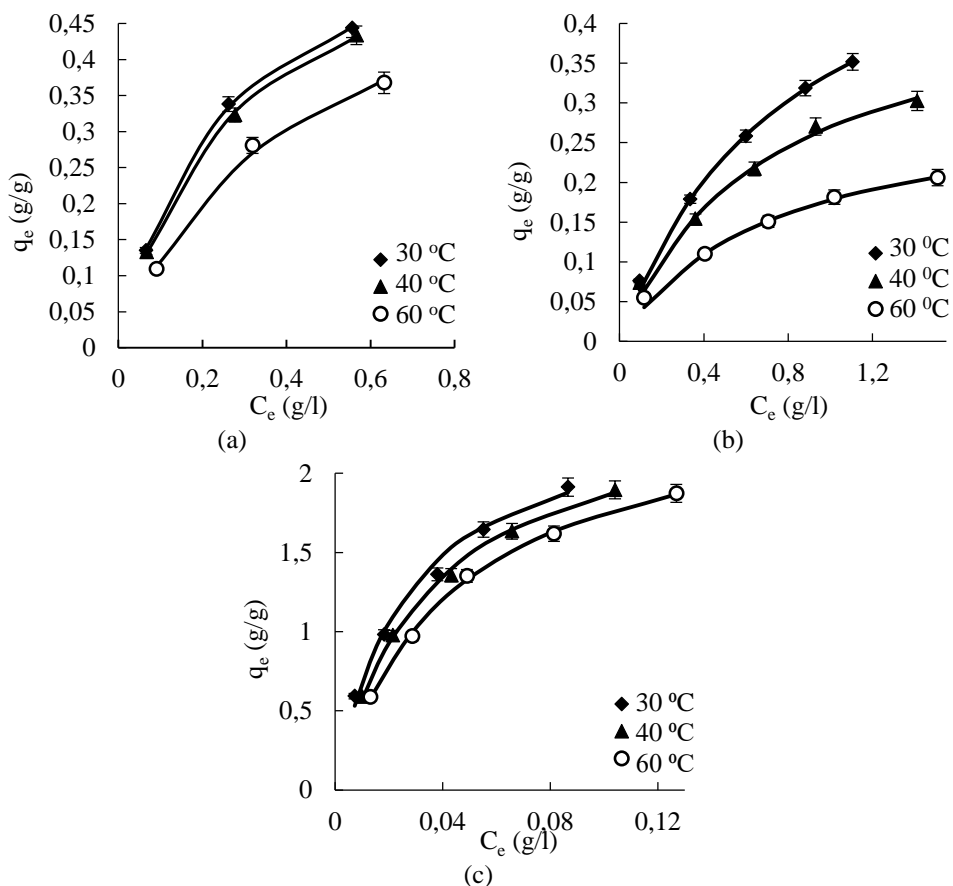
Chitozanas pasižymi geromis plėvelių formavimo savybėmis, o suformuotos plėvelės yra biologiškai skaidžios ir netoksiškos. Chitozano plėvelių funkcinės savybės gali būti padidintos plėvelių formavimo metu įterpiant bioaktyvius junginius, pavyzdžiui, vitaminus, lipidus, mineralus, eterinius aliejus ar fenolinius junginius. Į valgomąją chitozano plėvelę įdėti antioksidantai padidina maisto stabilumą, funkcionalumą ir saugą bei slopina pigmentų ir riebalų oksidaciją [207]. Be to, chitozano plėvelės gali būti praturtintos įvairių augalų ekstraktais, pavyzdžiui, žaliosios arbatos ar vynuogių sėklų [208–210], kurių sudėtyje yra daug fenolinių junginių. Plėvelės sudarytos iš chitozano ir žaliosios arbatos fenolinių junginių pasižymi mažesniu vandens garų laidumu bei didesniu antioksidaciniu efektyvumu [211]. Be to, *Europos komisijos reglamente (ES) Nr. 432/2012* teigiama, kad chitozaną vartojant su maistu, jis gali palaikyti normalią cholesterolio koncentraciją kraujyje [212].

Todėl chitozanas gali būti efektyvi matrica fenoliniams junginiams imobilizuoti, taip sukuriant aktyviųjų komponentų pernašos sistemas maisto pramonei. Šiame darbo etape buvo ištirtas chitozano ir chlorogeno rūgšties bei jos turinčių augalinių ekstraktų kompleksų susidarymas, jų savybės, o sukurtos chitozano ir augalinių ekstraktų dangos buvo pritaikytos kaip vaistažolių talpyklos dangos, pasižyminčios

veikliosiomis savybėmis ir praturtinančios vaistažolių arbatą aktyviomis gamtinėmis medžiagomis.

### 3.7.1. Chlorogeno rūgšties ir augalinių ekstraktų pusiausvyrosios adsorbcijos chitozano milteliais tyrimai

Chitozanas, kurio sudėtyje yra teigiamo krūvio ženklo amino grupių, gali sudaryti joninius kompleksus su neigiamo krūvio ženklo grupių turinčiais mažamolekuliais junginiais [203, 213]. 3.5.1 skyriuje buvo aprašyta, kad AE ir ŽKPE sudėtyje atitinkamai buvo 8,1 % ir 74,6 % fenolinių junginių, tarp kurių bendras chlorogeno rūgšties izomerų kiekis (chlorogeno, neochlorogeno ir kriptochlorogeno rūgštys) atitinkamai sudarė 2,3 % ir 49,5 %. Todėl visų pirma buvo iširta pusiausvyroji CLR, AE ir ŽKPE adsorbcija mažos molekulinės masės chitozano milteliais 30 °C, 40 °C ir 60 °C temperatūrose. Gautoms adsorbcijos izotermėms aprašyti pritaikytas Lengmiūro adsorbcijos modelis. Gautos adsorbcijos izotermės pateiktos 3.24 paveiksle.



**3.24 pav.** CLR (a), AE (b) ir ŽKPE (c) adsorbcijos ChZ milteliais izotermės skirtingose temperatūrose. Taškai atitinka eksperimentinius duomenis, kreivės nubraižytos naudojant Lengmiūro adsorbcijos modelio rodiklius

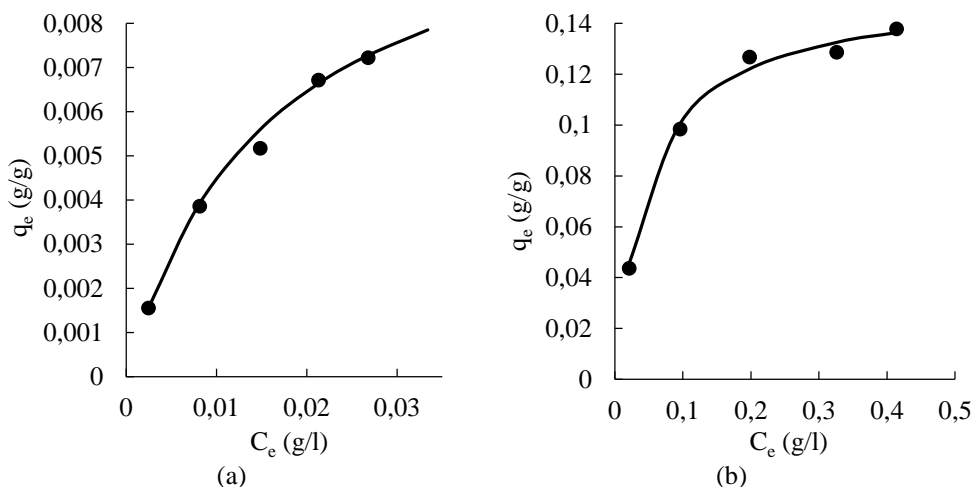
Lengmiūro sorbcinės gebos  $Q_L$  bei pusiausvyros konstantos  $K_L$  vertės kartu su tiesės lygties pasiklivimo lygio  $R^2$  vertėmis pateiktos 3.19 lentelėje.

**3.19 lentelė.** CLR, AE ir ŽKPE adsorbcijos ChZ milteliais izotermių Lengmiūro adsorbcijos modelio rodikliai

$T (^{\circ}C)$	$Q_L$ (g/g)	$K_L$ (1/mol)	$R^2$
<b>CLR adsorbcija</b>			
30	0,63	4,24	0,9995
40	0,62	3,98	0,9994
60	0,60	2,54	0,9924
<b>AE adsorbcija</b>			
30	0,61	1,24	0,9998
40	0,46	1,45	0,9939
60	0,31	1,40	0,9991
<b>ŽKPE adsorbcija</b>			
30	2,45	38,20	0,9914
40	2,49	29,52	0,9984
60	2,51	22,89	0,9990

Kaip matyti iš 3.19 lent. pateiktų duomenų, Lengmiūro adsorbcijos modelis gerai aprašo CLR, AE ir ŽKPE adsorbciją ChZ milteliais ( $R^2 > 0,99$ ), kas patvirtino, kad CLR ir augaliniuose ekstraktų sudėtyje esantys anijoniniai junginiai, dėl elektrostatinės sąveikos buvo adsorbuoti chitozano pirminėmis amino grupėmis ir susidarė kompleksai. Taip pat ištirta adsorbuotų CLR, AE ir ŽKPE kiekio priklausomybė nuo temperatūros. Didėjant adsorbcijos temperatūrai, adsorbuotų CLR ir AE kiekis mažėja, o adsorbuoto ŽKPE kiekis didėja. Be to, reikia paminėti, kad ŽKPE esančių fenolinių junginių ChZ milteliais adsorbuota ~ 4 kartus daugiau nei AE atveju.

Įvertinant adsorbuotų AE ir ŽKPE kieki UV adsorbcijos metodu negalima tiksliai nustatyti, koks CLR izomerų kiekis buvo adsorbuotas, nes tiek CLR, tiek AE ir ŽKPE tirpalų UV adsorbcijos maksimumas yra ties tuo pačiu bangos ilgiu, t. y.  $\lambda_{\max} = 325$  nm. Tiksliam adsorbuotų CLR izomerų kiekiui įvertinti panaudotas ESC-UV-MS/MS metodas. Gautos adsorbcijos izotermės pavaizduotos 3.25 pav. bei apskaičiuoti Lengmiūro adsorbcijos modelio rodikliai pateikti 3.20 lentelėje.



**3.25 pav.** AE (a) ir ŽKPE (b) esančių CLR izomerų adsorbcijos ChZ milteliais izotermės 30 °C temperatūroje. Taškai atitinka eksperimentinius duomenis, kreivės nubraižytos naudojant Lengmiūro adsorbcijos modelio rodiklius

**3.20 lentelė.** AE ir ŽKPE esančių CLR izomerų adsorbcijos ChZ milteliais izotermių Lengmiūro adsorbcijos modelio rodikliai 30 °C temperatūroje

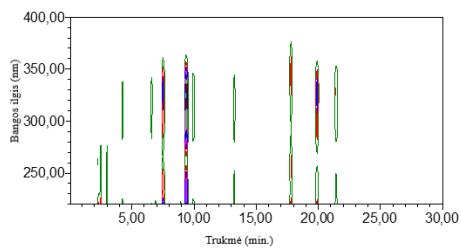
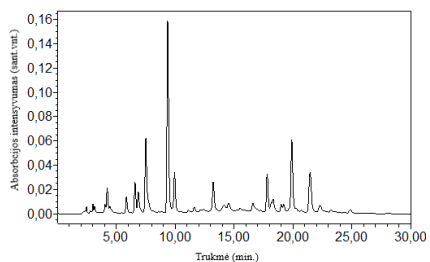
Augalinis ekstraktas	$Q_L$ (g/g)	$K_L$ (l/g)	$R^2$
AE	0,01	62,94	0,9987
ŽKPE	0,15	20,07	0,9957

Palyginus augalinių ekstraktų adsorbcijai apskaičiuotas Lengmiūro sorbcinės gebos  $Q_L$  vertės (žr. 3.19 lent.) su  $Q_L$  vertėmis, gautomis įvertinus iš AE ir ŽKPE vandeninių tirpalų adsorbuotų CLR izomerų kiekį (žr. 3.20 lent.) nustatyta, kad CLR izomerai atitinkamai sudaro tik 1,97 % ir 6,24 % visų adsorbuotų fenolinių junginių. Galima daryti išvadą, kad AE ir ŽKPE adsorbcijos metu į chitozono miltelius yra imobilizuojami ne tik CLR izomerai, bet ir kiti augaliniuose ekstraktuose esantys junginiai. Be to, reikia paminėti, kad vykstant adsorbcijai CLR izomerai ir kiti neidentifikuoti anijoniniai fenoliniai junginiai gali konkuruoti tarpusavyje, o šią konkurenciją sąlygoja erdviniai trukdžiai ir šių junginių giminingumas [159].

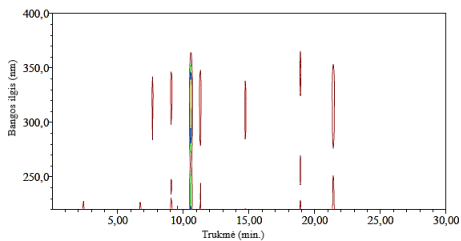
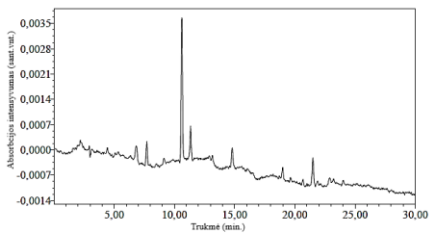
Kadangi AE ir ŽKPE sudėtyje dominuoja chlorogeno, neochlorogeno ir kriptochlorogeno rūgštys, šių junginių imobilizavimui ChZ milteliuose patvirtinti buvo atlikti pradinių AE ir ŽKPE vandeninių tirpalų bei AE ir ŽKPE tirpalų po adsorbcijos ChZ milteliais ESC tyrimai. ESC eliuacijos kreivės, gautos esant 325 nm bangos ilgio UV spindulių detekcijai ir chromatogramų projekcinės apybrėžos 200–400 nm intervale pateiktos 3.26 pav. Kaip matyti, augaliniuose ekstraktuose dominuojanti chlorogeno rūgštis yra eliuuojama po 9,5 min., neochlorogeno rūgštis ~ po 7 min. ir kriptochlorogeno rūgštis ~ po 10 min.

Lyginant pradinių AE ir ŽKPE vandeninių tirpalų chromatogramas su tirpalų po adsorbcijos chromatogramomis bei jų projekcines apybrėžas matyti, kad dalis

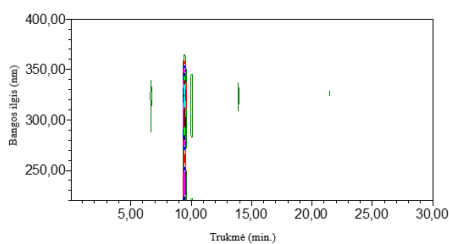
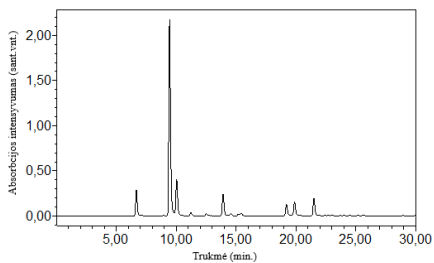
chlorogeno izomerų yra adsorbuojami ChZ milteliais. Apskaičiuota, kad AE adsorbcijos atveju, 0,5 g ChZ miltelių iš AE tirpalo adsorbavo 53,1 % chlorogeno rūgštis, 52,1 % neochlorogeno rūgštis ir 67,4 % kriptochlorogeno rūgštis. Reikia paminėti, kad ŽKPE adsorbcijos metu, 0,5 g ChZ miltelių iš pradinio ŽKPE tirpalo adsorbavo 68,0 % chlorogeno rūgštis, 81,4 % neochlorogeno rūgštis ir 74,3 % kriptochlorogeno rūgštis. Iš 3.26 pav. pateiktų chromatogramų taip pat matyti, kad chitozanu iš pradinių AE ir ŽKPE tirpalų adsorbuojama net tik chlorogeno, neochlorogeno ir kriptochlorogeno rūgštys, bet ir kiti neidentifikuoti fenoliniai junginiai.



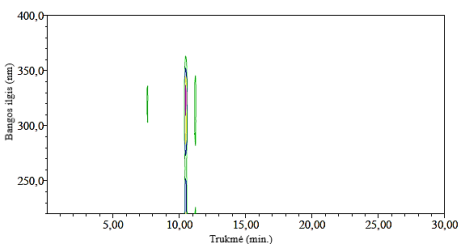
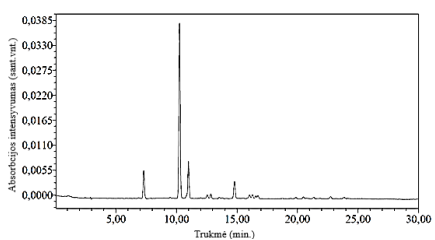
(a)



(b)



(c)



(d)

**3.26 pav.** Augalinių ekstraktų vandeninių tirpalų ESC-UV 325 nm eliucijos kreivės (kairėje) ir chromatogramų projekcinės apybrėžos 200–400 nm intervale (dešinėje): a – AE vandeninis tirpalas; b – AE vandeninis tirpalas po adsorbcijos ChZ; c – ŽKPE vandeninis tirpalas; d – ŽKPE vandeninis tirpalas po adsorbcijos ChZ

### 3.7.2. Chlorogeno rūgšties ir augalinių ekstraktų atpalaidavimo iš chitozano ir chlorogeno bei augalinių ekstraktų kompleksų tyrimai

Sudarytus kompleksus taikant praktiškai yra svarbu žinoti, kaip ChZ milteliais adsorbuoti CLR izomerai ir kiti fenoliniai junginiai yra atpalaiduojami į skirtingas terpes. Atpalaidavimo tyrimams naudoti ChZ/CLR, ChZ/AE ir ChZ/ŽKPE kompleksų milteliai, kurių 1 grame atitinkamai buvo 0,186 g, 0,116 g ir 0,180 g adsorbuotų CLR, AE ir ŽKPE (žr. 2.2.6 sk. metodiką). Kaip atpalaidavimo terpė buvo naudojamas 0,1 M HCl vandeninis tirpalas, distiliuotas vanduo, etanolis, fosfatinis ir acetatinis buferiniai tirpalai (žr. 3.21 lent.). Atliekant eksperimentus naudotas vienodas ChZ/CLR, ChZ/AE ir ChZ/ŽKPE komplekso miltelių kiekis. Tokiu būdu, esant 100 % bioaktyviųjų junginių atpalaidavimui, CLR, AE ir ŽKPE koncentracija atpalaidavimo tirpale atitinkamai būtų 0,313 g/l, 0,208 g/l ir 0,305 g/l. Ši koncentracija įvardyta kaip maksimaliai galima ( $C_{\max \text{ CLR}} = 313 \text{ mg/l}$ ,  $C_{\max \text{ AE}} = 208 \text{ mg/l}$ ,  $C_{\max \text{ ŽKPE}} = 305 \text{ mg/l}$ ).

**3.21 lentelė.** Iš ChZ/CLR, ChZ/AE ir ChZ/ŽKPE kompleksų atpalaiduotas CLR, AE ir ŽKPE kiekis skirtingose atpalaidavimo terpėse per 30 min.

Atpalaidavimo terpė	Atpalaiduotas kiekis, (mg/l) / (%*)		
	CLR	AE	ŽKPE
0,1 M HCl vandeninis tirpalas (pH = 1)	Ištirpo	Ištirpo	Ištirpo
Acetatinis buferinis tirpalas (pH = 4,1)	259 / 82,7	Ištirpo	283 / 92,6
Fosfatinis buferinis tirpalas (pH = 6,8)	275 / 88,0	104 / 50,2	129 / 42,5
Distiliuotas vanduo	14 / 4,5	82 / 6,4	13 / 4,2

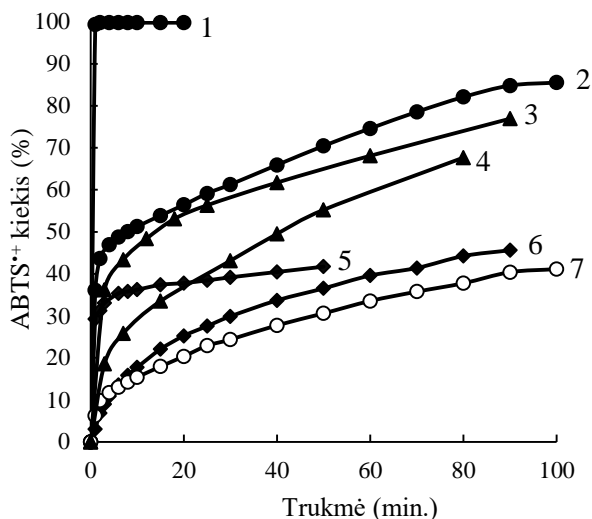
\*nuo  $C_{\max \text{ CLR}} = 313 \text{ mg/l}$ ,  $C_{\max \text{ AE}} = 208 \text{ mg/l}$ ,  $C_{\max \text{ ŽKPE}} = 305 \text{ mg/l}$

Kaip matyti iš 3.21 lent. pateiktų duomenų, tiek CLR, tiek augalinių ekstraktų kompleksų milteliai ištirpo 0,1 M HCl vandeniniame tirpale, nes ChZ lengvai tirpsta praskiestuose rūgštiniuose tirpaluose, kurių pH < 6,0 [214]. Taip pat, dėl acetatinio buferinio tirpalo rūgštinės terpės (pH = 4,1) ištirpo ir ChZ/AE komplekso milteliai. Iš ChZ/CLR ir ChZ/ŽKPE kompleksų miltelių į acetatinį buferinį tirpalą atpalaiduota atitinkamai 82,7 % CLR ir 92,6 % ŽKPE. Nevienodas sudarytų kompleksų tirpumas acetatiniame buferiniame tirpale gali būti susijęs su skirtingu CLR, kaip pagrindinio augalinių ekstraktų komponento, kiekiu sudarytuose kompleksuose. Dėl didelio ChZ adsorbuoto CLR kiekio (0,186 g/g<sub>kompl.</sub>), ChZ/CLR kompleksas netirpsta acetatiniame buferiniame tirpale. Be to, ChZ/ŽKPE kompleksas taip pat yra netirpus, kadangi pradiniame ŽKPE yra didelis kiekis CLR (49,5 %). AE sudėtyje šios rūgšties yra nedaug (2,3 %). Atitinkamai ir sudarytuose kompleksuose yra skirtingas CLR kiekis. Į distiliuotą vandenį po 30 min. CLR, AE ar ŽKPE buvo atpalaiduota nedaug: CLR – 4,5 %, AE – 6,4 %, ŽKPE – 4,2 %. Į fosfatinį buferinį tirpalą (pH = 6,8) CLR, AE ir ŽKPE atitinkamai buvo atpalaiduota 88,0 %, 50,2 % ir 42,5 %. Reikia paminėti, kad CLR daugiau buvo atpalaiduota į fosfatinį buferinį tirpalą, o augaliniai ekstraktai efektyviau buvo atpalaiduoti į acetatinį buferinį tirpalą.



### 3.7.3. Chitozano ir chlorogeno rūgšties bei augalinių ekstraktų kompleksų antioksidacinių savybių įvertinimas

ChZ/CLR, ChZ/AE ir ChZ/ŽKPE kompleksų antioksidacinis poveikis įvertintas ABTS<sup>+</sup> laisvųjų radikalų sujungimo metodu. ChZ/CLR, ChZ/AE ir ChZ/ŽKPE efektyvumas palygintas su CLR, AE ir ŽKPE antioksidaciniu poveikiu. Gauti antioksidacinių savybių tyrimo rezultatai pateikti 3.27 paveiksle.



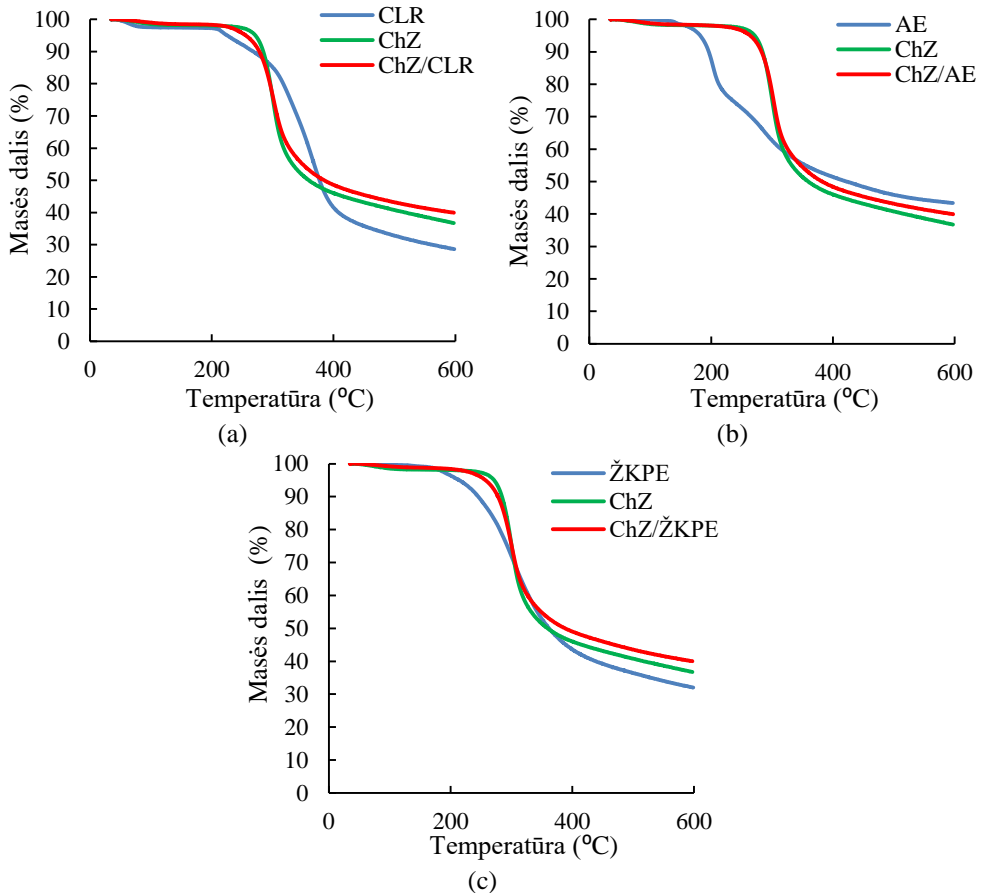
**3.27 pav.** ABTS<sup>+</sup> laisvųjų radikalų sujungimo priklausomybės nuo tyrimo trukmės kreivės: 1 – CLR; 2 – ChZ/CLR; 3 – ŽKPE; 4 – ChZ/ŽKPE; 5 – AE; 6 – ChZ/AE; 7 – ChZ. CLR ir augalinių ekstraktų koncentracija atitinkamuose bandiniuose – 0,0038 g/l

ChZ/CLR atveju ABTS<sup>+</sup> laisvieji radikalai sujungiami daug lėčiau negu CLR (žr. 3.27 pav. 1 ir 2 kr.), t. y. kompleksas pasižymi pailginto veikimo antioksidaciniu poveikiu. Reikia paminėti, kad ir pats chitozanas dėl savo unikalių savybių pasižymi geru antioksidaciniu poveikiu (AOEF ~ 41 %) (žr. 3.27 pav. 7 kr.) ir tai gali sąlygoti gautų kompleksų antioksidacinį veiklumą. Galima pastebėti, kad ChZ ir ChZ/CLR kreivių pobūdis panašus, tačiau ChZ/CLR antioksidacinis poveikis yra didesnis.

Kaip matyti iš 3.27 pav. pateiktų duomenų, kompleksų antioksidacinis efektyvumas priklausė nuo imobilizuotos CLR kiekio, t. y. didėja tokia tvarka: ChZ/AE < ChZ/ŽKPE < ChZ/CLR. Taigi, galima teigti, kad būtent CLR dažniausiai lemia sudarytų kompleksų antioksidacines savybes. Be to, remiantis 3.7.1 skyriuje pateiktais duomenimis žinoma, kad augalinių ekstraktų adsorbcijos ChZ milteliais metu yra imobilizuojami ne tik CLR izomerai, bet ir kiti ekstraktuose esantys fenoliniai junginiai. Taigi, sudarytų kompleksų antioksidacinis aktyvumas taip pat gali skirtis dėl biologiškai aktyviųjų junginių sudėties. ŽKPE ir ChZ/ŽKPE atveju ABTS<sup>+</sup> laisvieji radikalai sujungiami taip pat lėtai (žr. 3.27 pav. 3 ir 4 kr.). ChZ/AE komplekso milteliai pasižymi ne tik pailginto veikimo antioksidaciniu poveikiu, bet ir didesniu antioksidaciniu efektyvumu negu AE (žr. 3.27 pav. 5 ir 6 kr.).

### 3.7.4. Chitozano ir chlorogeno rūgšties bei augalinių ekstraktų kompleksų termogravimetrinė analizė

Remiantis 3.7.3 skyrelyje pateiktais duomenimis, CLR ir augalinių ekstraktų imobilizavimas ChZ matricoje apsaugo veikliuosius fenolinius junginius nuo greitos oksidacinės destrukcijos, todėl yra pailginamas sudarytų kompleksų antioksidacinis poveikis. Be to, CLR, AE ir ŽKPE gali būti atpalaiduojami iš kompleksų žmogaus virškinimo sistemoje. Dėl šių ChZ/CLR, ChZ/AE ir ChZ/ŽKPE kompleksų savybių jie gali būti panaudoti kaip maisto priedų, papildų ar pakavimo medžiagų sudėtinė dalis. Tokių medžiagų gamyboje dažnai naudojami ir terminiai apdorojimai. Todėl yra svarbu įvertinti ChZ/CLR, ChZ/AE ir ChZ/ŽKPE kompleksų terminį stabilumą. CLR, AE, ŽKPE ir jų kompleksų termogramos pavaizduotos 3.28 pav., o terminio skilimo pradžios temperatūros ir masės nuostoliai pateikti 3.22 lentelėje.



**3.28 pav.** ChZ, CLR, AE, ŽKPE ir jų kompleksų termogramos: a – CLR, ChZ, ChZ/CLR; b – AE, ChZ, ChZ/AE, c – ŽKPE, ChZ, ChZ/ŽKPE. Temperatūros kėlimo greitis 10 °C/min., N<sub>2</sub> aplinka

### 3.22 lentelė. CLR, AE ir ŽKPE ir jų kompleksų su ChZ charakteringieji terminės destrukcijos rodikliai

Bandinys	Terminės destrukcijos pradžios temperatūra (°C)	Masės nuostoliai (%)
CLR	209	71
AE	184	56
ŽKPE	177	68
ChZ/CLR	276	60
ChZ/AE	284	60
ChZ/ŽKPE	276	60
ChZ	282	63

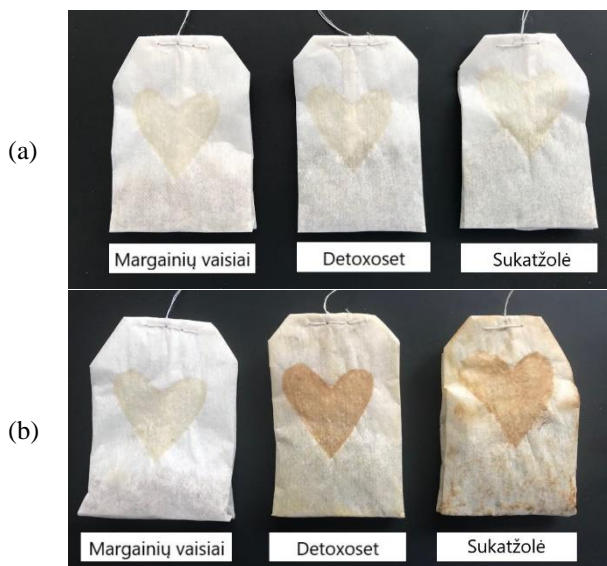
Iš pateiktų duomenų matyti, kad ChZ terminės destrukcijos pradžios temperatūra 282 °C bandinio masei sumažėjant 63 %. Nepaisant nedidelių masės nuostolių skirtumų termininio skilimo pabaigoje, ChZ ir sudarytų kompleksų termogramos iš esmės nesiskiria. ChZ/CLR, ChZ/AE ir ChZ/ŽKPE kompleksų terminė destrukcija atitinkamai prasideda 276 °C, 284 °C ir 276 °C temperatūroje, esant 60 % masės nuostoliams. Matyti, kad sudarytų kompleksų terminės destrukcijos pradžios temperatūra yra artima ChZ terminės destrukcijos pradžios temperatūrai.

Apibendrinant 3.28 pav. ir 3.22 lent. pateiktus duomenis galima daryti išvadą, kad CLR ir augaliniuose ekstraktuose esančių fenolinių junginių imobilizavimas ChZ padidina šių aktyvių junginių terminį stabilumą 67–100 °C.

#### 3.7.5. Biologiškai aktyvių junginių turinčių dangų vaistažolių talpyklai sukūrimas ir tyrimai

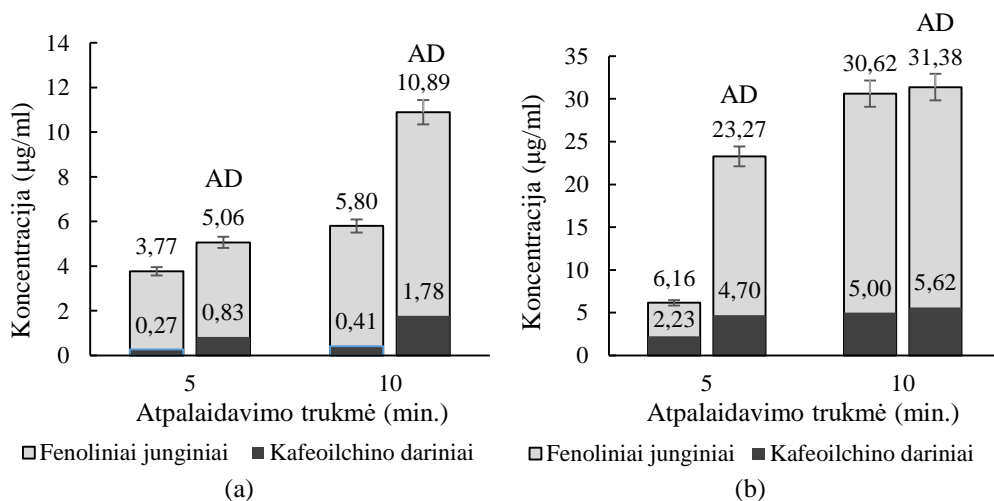
##### 3.7.5.1. Chitozano ir žaliųjų kavos pupelių ekstrakto komplekso dangų sukūrimas ir tyrimai

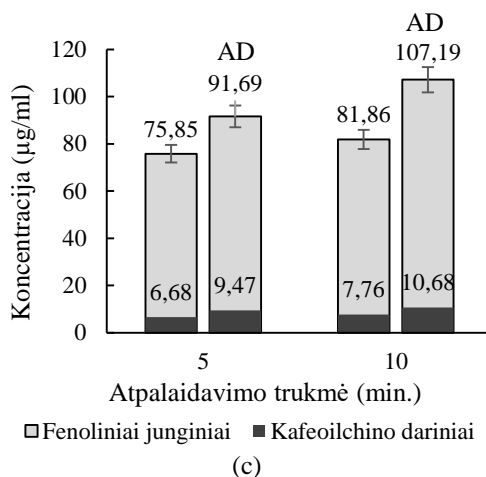
Efektyviosios skysčių chromatografijos tyrimai parodė, kad chitozanas efektyviai imobilizuoja žaliųjų kavos pupelių ekstrakto esančius bioaktyviuosius junginius. Tam tikslui, aktyviajai dangai (AD) formuoti paruoštas 5 % ChZ/ŽKPE komplekso, kurio 1 g ChZ yra 0,1860 g adsorbuotos ŽKPE, vandeninis tirpalas. Šis tirpalas, prieš tai parinkus optimalias formavimo sąlygas, įmonėje UAB „Švenčionių vaistažolės“, naudojant plokščią sietinį šablona, užlietas ant filtro popieriaus „Dyname“ 121/2 juostos (žr. gamybinio išbandymo aktą priede Nr. 1). Suformuotos AD masė – 0,429 g/m<sup>2</sup>. Filtro popieriaus juosta su AD naudota trijų skirtingų rūšių vaistažolėms pakuoti (margainių vaisiai „Detoxoset“, sukatžolė) (žr. 3.29 pav., a).



**3.29 pav.** Vaistažolių talpyklos su chitozono ir žaliųjų kavos pupelių ekstrakto aktyvia danga: a – vaistažolių talpyklos prieš eksperimentą, b – vaistažolių talpyklos po eksperimento

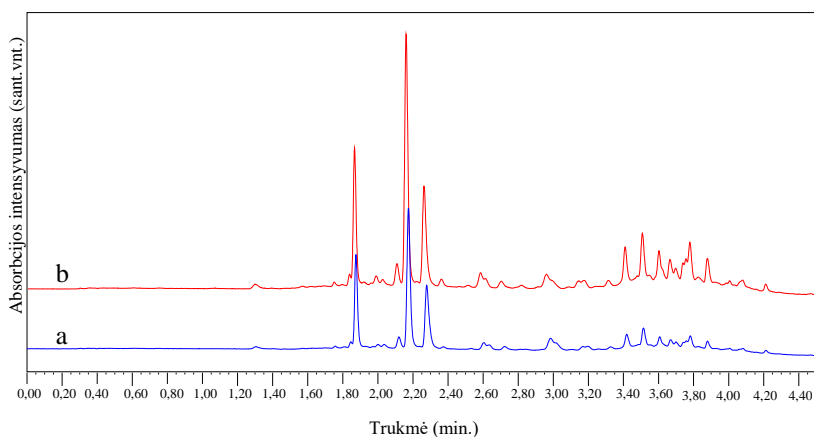
Pagamintos vaistažolių talpyklos užpildos verdančiu vandeniu (žr. 3.29 pav., b) ir naudojant modifikuotą 2,2-azino-bis-3-etilbenziazolin-6-sulfono rūgšties radikalo (ABTS<sup>•+</sup>) metodą buvo įvertintos vandeninių ištraukų antioksidacinės savybės bei efektyviosios skysčių chromatografijos metodu nustatyta bendra fenolinių junginių koncentracija, kafeoilchino rūgšties darinių (CLR izomerų) koncentracija ir kiekybinė sudėtis (žr. 3.30 pav.).





**3.30 pav.** Margainių vaisių (a), „Detoxoset“ (b) ir sukatzolės (c) vaistažolių talpyklų (su AD ir be AD) vandeninėse ištraukose esančių kafeoilchino darinių koncentracijos ir bendros fenolinių junginių koncentracijos priklausomybė nuo eksperimento trukmės

Kaip matyti iš 3.30 pav. pateiktų duomenų, vaistažolės įdėjus į talpyklas su AD, per 5 min. atpalaiduotas bendras fenolinių junginių kiekis iš talpyklų su margainių vaisiais, „Detoxoset“ ir sukatzolės vaistažolėmis atitinkamai padidėjo 25,5 %, 46,7 % ir 17,3 %, o kafeoilchino rūgšties darinių kiekis atitinkamai padidėjo 67,5 %, 52,6 % ir 29,5 %. Tuo tarpu, per 10 min. atpalaiduotas bendras fenolinių junginių kiekis iš margainių vaisių, „Detoxoset“ ir sukatzolės vaistažolių atitinkamai padidėjo 46,7 %, 2,4 % ir 23,6 %, o kafeoilchino rūgšties darinių kiekis atitinkamai padidėjo 76,9 %, 11,0 % ir 27,3 %. Taip pat lyginant vaistažolių mišinio „Detoxoset“, įdėto į vaistažolių talpyklą be AD ir su AD vandeninės ištraukos chromatogramas, matyti ženklūs chromatografinių smailių intensyvumo pokyčiai (žr. 3.31 pav.).



**3.31 pav.** Vaistažolių mišinio „Detoxoset“ mėginių vandeninių ištraukų chromatogramos: a – įdėto į talpyklą be AD, b – įdėto į talpyklą su AD. Bandymo trukmė 10 min. Neochlorogeno rūgšties sulaiikymo trukmė ~ 1,9 min., chlorogeno rūgšties ~ 2,2 min., kriptochlorogeno ~ 2,3 min.

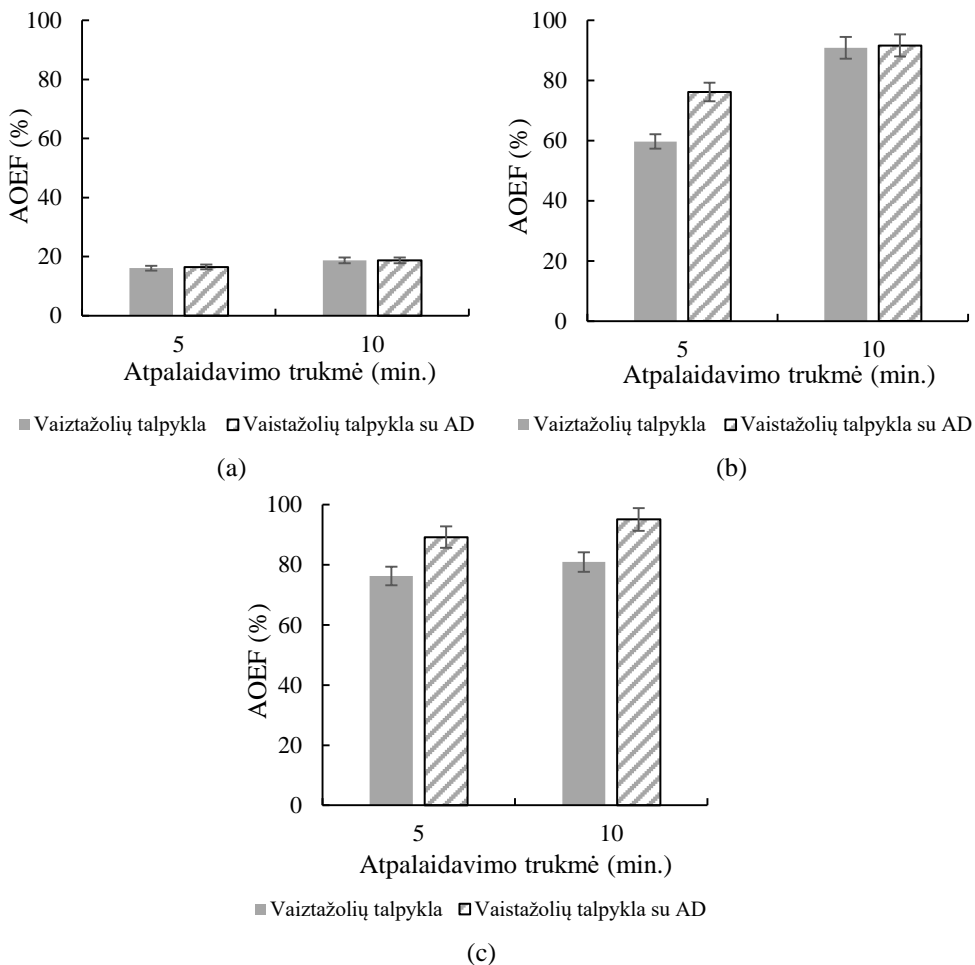
ESC metodu buvo nustatytos į vandenį atpalaiduotų pavienių kafeoilchino rūgšties darinių: neochlorogeno, chlorogeno ir kriptochlorogeno rūgščių koncentracijos (žr. 3.23 lent.). Daugeliu atvejų, kai vaistažolės buvo įdėtos į talpyklas su AD, į vandenį atpalaiduotų pavienių kafeoilchino rūgšties darinių kiekiai žymiai padidėjo: neochlorogeno rūgšties 1,5–2,7 karto, chlorogeno rūgšties 1,3–5,6 karto, o kriptochlorogeno rūgšties 1,5–6,8 karto.

**3.23 lentelė.** Iš margainių vaisių, „Detoxoset“ ir sukatžolės vaistažolių talpyklų (be AD ir su AD) į vandenį atpalaiduotų neochlorogeno, chlorogeno ir kriptochlorogeno rūgščių koncentracijos

Vaistažolės	Atpalaidavimo trukmė (min.)	Įprasta vaistažolių talpykla			Vaistažolių talpykla su ChZ/ŽKPE danga		
		Neochlorogeno rūgštis (µg/ml)	Chlorogeno rūgštis (µg/ml)	Kriptochloroge no rūgštis (µg/ml)	Neochlorogeno rūgštis (µg/ml)	Chlorogeno rūgštis (µg/ml)	Kriptochloroge no rūgštis (µg/ml)
Margainių vaisiai	5	0,15	0,07	0,04	0,33	0,23	0,27
	10	0,21	0,12	0,08	0,57	0,67	0,54
„Detoxoset“	5	0,29	1,62	0,32	0,73	3,12	0,84
	10	0,50	3,90	0,61	0,85	3,80	0,97
Sukatžolė	5	0,87	4,51	1,29	1,31	6,15	2,01
	10	0,98	5,29	1,50	1,45	7,00	2,23

Ištyrus vaistažolių talpyklų su AD vandeninių ištraukų antioksidacinį efektyvumą bei palyginus su vaistažolių talpyklų be AD rezultatais (žr. 3.32 pav.), daugeliu atvejų nustatytas antioksidacinio efektyvumo padidėjimas. Didžiausias

AOEF pokytis po 5 min. nustatytas „Detoxoset“ ir sukatzolės atveju (atitinkamai 23 % ir 13 % po 5 min.). Margainių vaisius įdėjus į talpyklas su AD, antioksidacinis efektyvumas pakito nežymiai (0,5 %).

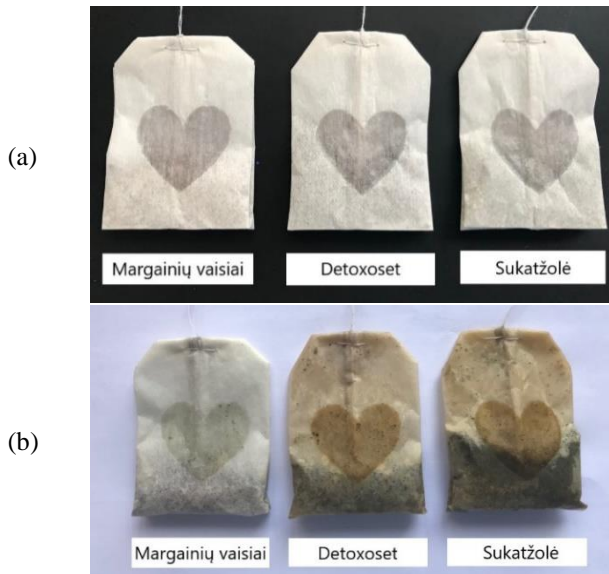


**3.32 pav.** Margainių vaisių (a), „Detoxoset“ (b) ir sukatzolės (c) vaistažolių talpyklų (su AD ir be AD) vandeninių ištraukų antioksidacinio efektyvumo priklausomybė nuo eksperimento trukmės

### 3.7.5.2. Chitozono ir žaliųjų kavos pupelių ekstrakto komplekso bei mėlynių uogų ekstrakto dangų sukūrimas ir tyrimai

Aktyvios dangos formavimui paruoštas 6 % ChZ/ŽKPE komplekso, 1 g ChZ turinčio 0,1860 g adsorbuotos ŽKPE bei mėlynių uogų vandeninio ekstrakto vandeninis tirpalas, kuris, prieš tai parinkus optimalias sąlygas įmonėje UAB „Švenčionių vaistažolės“, naudojant plokščią sietinį šabloną užlietas ant filtro popieriaus „Dynapore“ 121/2 juostos (žr. gamybinio išbandymo aktą priede Nr. 2). Suformuotos AD masė – 1,611 g/m<sup>2</sup>. Filtro popieriaus juosta su AD naudota trijų

skirtingų rūšių vaistažolėms pakuoti (margainių vaisiai, „Detoxoset“, sukatžolė) (žr. 3.33 pav., a).

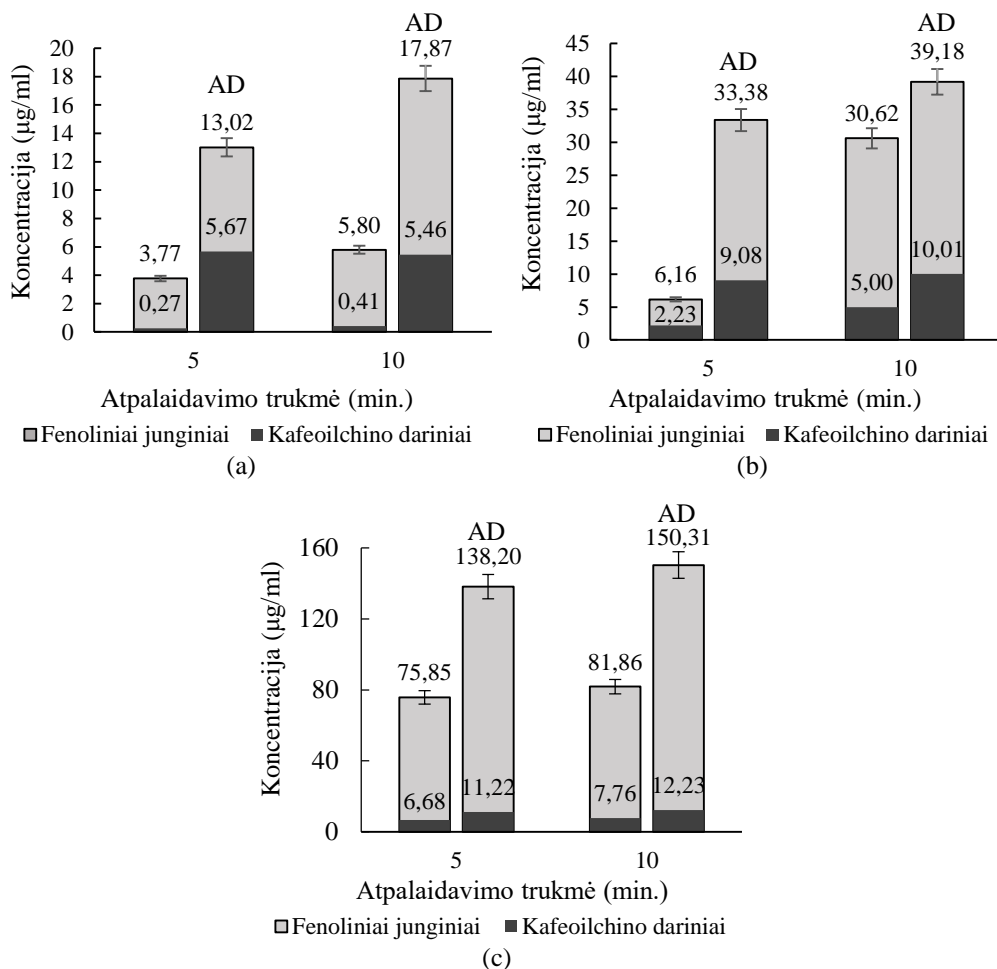


**3.33 pav.** Vaistažolių talpyklos su chitozano ir žaliųjų kavos pupelių ekstrakto bei mėlynių uogų ekstrakto aktyvia danga: a – vaistažolių talpyklos prieš eksperimentą, b – vaistažolių talpyklos po eksperimento

Pagamintos vaistažolių talpyklos užpildos verdančiu vandeniu (žr. 3.33 pav., b) ir naudojant modifikuotą 2,2-azino-bis-3-etilbenziazolin-6-sulfono rūgšties radikalo (ABTS<sup>+</sup>) metodą įvertintos vandeninių ištraukų antioksidacinės savybės bei efektyviosios skysčių chromatografijos metodu nustatyta bendra fenolinių junginių koncentracija, kafeoilchino rūgšties darinių (CLR izomerų) koncentracija ir kiekybinė sudėtis (žr. 3.34 pav.).

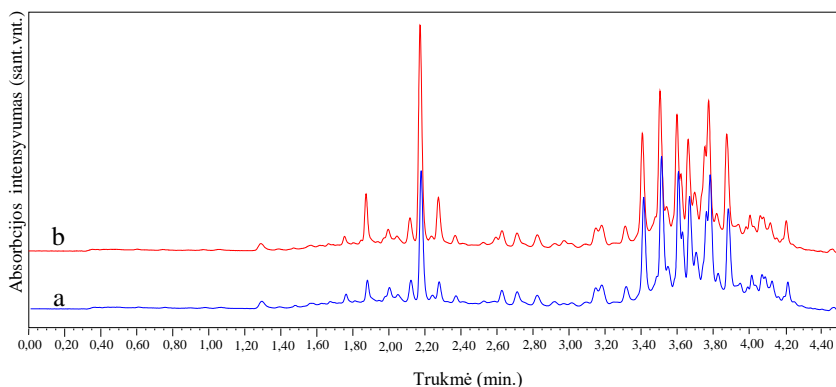
Kaip matyti iš 3.34 pav. pateiktų duomenų, vaistažolės įdėjus į talpyklas su AD, per 5 min. atpalaiduotas bendras fenolinių junginių kiekis iš talpyklų su margainių vaisiais, „Detoxoset“ ir sukatžolės vaistažolėmis atitinkamai padidėjo 71,0 %, 81,5 % ir 45,1 %, o kafeoilchino rūgšties darinių kiekis atitinkamai padidėjo 95,2 %, 75,4 % ir 40,5 %. Reikia paminėti, kad per 10 min. atpalaiduotas bendras fenolinių junginių kiekis iš margainių vaisių, „Detoxoset“ ir sukatžolės vaistažolių atitinkamai padidėjo 67,5 %, 21,8 % ir 45,5 %, o kafeoilchino rūgšties darinių kiekis atitinkamai padidėjo 92,5 %, 50,1 % ir 36,5 %. Be to, AD formavimui naudojant mėlynių ekstraktą, vandeninėse ištraukose antocianinų nustatyta nebuvo, galimai jiems suskilus, nes esant šarminei terpės pH susidaro purpurinės spalvos chinoidinė bazė [215].





**3.34 pav.** Margainių vaisių (a), „Detoxoset“ (b) ir sukatžolės (c) vaistažolių talpyklių (su AD ir be AD) atpalaidavimo tirpaluose esančių kafeoilchino darinių koncentracijos ir bendros fenolinių junginių koncentracijos priklausomybė nuo eksperimento trukmės

Lyginant vaistažolių mišinio „Detoxoset“ vandeninių ištraukų, gautų įdėjus į vaistažolių talpyklą be AD ir su AD chromatogramas, matyti fenolinių junginių charakteringųjų elucijos smailių intensyvumo pokyčiai (žr. 3.35 pav.).



**3.35 pav.** Vaistažolių mišinio „Detoxoset“ mėginių vandeninių ištraukų chromatogramos: a – įdėto į talpyklą be AD, b – įdėto į talpyklą su AD. Bandymo trukmė 10 min. Neochlorogeno rūgšties sulaikymo trukmė ~ 1,9 min., chlorogeno rūgšties ~ 2,2 min., kriptochlorogeno ~ 2,3 min.

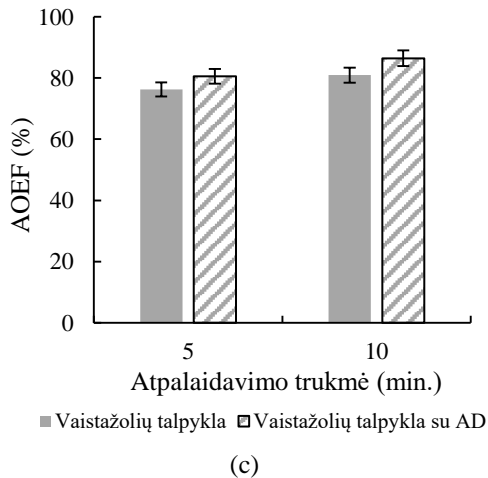
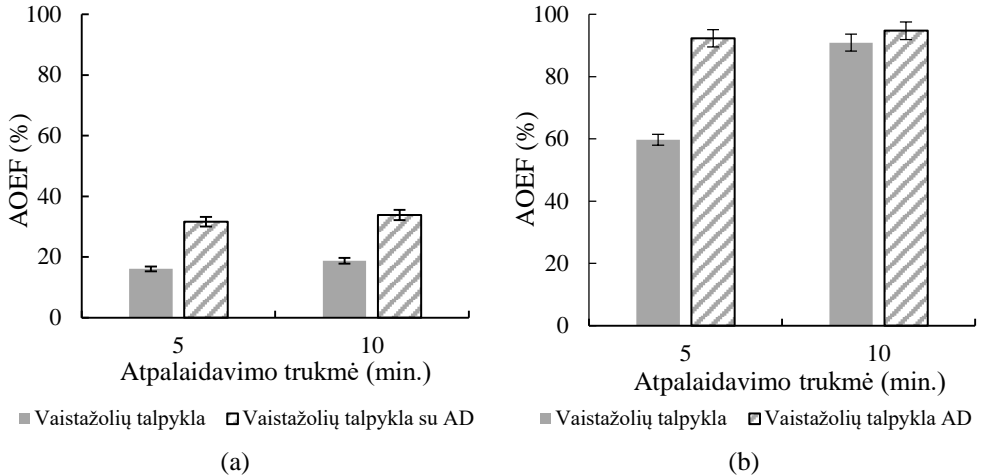
ESC metodu buvo nustatytos į vandenį tyrimo metu atpalaiduotų pavienių kafeoilchino rūgšties darinių: neochlorogeno, chlorogeno ir kriptochlorogeno rūgščių koncentracijos (žr. 3.24 lent.). Daugeliu atvejų, kai vaistažolės buvo įdėtos į talpyklas su AD, į vandenį atpalaiduotų pavienių kafeoilchino rūgšties darinių kiekiai žymiai padidėjo: neochlorogeno rūgšties 2,2–8,1 karto, chlorogeno rūgšties 1,8–47,1 karto, o kriptochlorogeno rūgšties 2,4–28,5 karto.

**3.24 lentelė.** Iš margainių vaisių, „Detoxoset“ ir sukatžolės vaistažolių talpyklų (be AD ir su AD) į vandenį atpalaiduotų neochlorogeno, chlorogeno ir kriptochlorogeno rūgščių koncentracijos

Arbatžolės	Atpalaidavimo trukmė (min.)	Įprasta vaistažolių talpykla			Vaistažolių talpykla su veikliąja danga		
		Neochlorogeno rūgštis (µg/ml)	Chlorogeno rūgštis (µg/ml)	Kriptochlorogeno rūgštis (µg/ml)	Neochlorogeno rūgštis (µg/ml)	Chlorogeno rūgštis (µg/ml)	Kriptochlorogeno rūgštis (µg/ml)
Margainių vaisiai	5	0,15	0,07	0,04	1,22	3,30	1,14
	10	0,21	0,12	0,08	1,34	3,85	1,28
„Detoxoset“	5	0,29	1,62	0,32	1,24	6,48	1,36
	10	0,50	3,90	0,61	1,48	7,04	1,49
Sukatžolė	5	0,87	4,51	1,29	1,91	9,31	-
	10	0,98	5,29	1,50	2,13	10,10	-

Ištyrus vaistažolių talpyklų su AD vandeninių ištraukų antioksidacinį efektyvumą bei palyginus su vaistažolių talpyklų be AD rezultatais (žr. 3.36 pav.), nustatytas antioksidacinio efektyvumo padidėjimas. Didžiausias AOEF pokytis

nustatytas „Detoxoset“ atveju (33 % po 5 min.). Margainių vaisių vandeninės ištraukos atveju AOEF padidėjo 15 %. Sukatžolę įdėjus į talpyklas su AD, antioksidacinis efektyvumas pakito ne taip žymiai (4 %).



**3.36 pav.** Margainių vaisių (a), „Detoxoset“ (b) ir sukatzolės (c) vaistažolių talpyklų (su AD ir be AD) vandeninių ištraukų antioksidacinio efektyvumo priklausomybė nuo eksperimento trukmės

Apibendrinant pateiktus rezultatus galima teigti, kad CLR ir augalinių ekstraktų sudėtyje esantys CLR izomerai dėl elektrostatinės sąveikos yra adsorbuojami ChZ pirminėmis amino grupėmis. Be to, augalinių ekstraktų adsorbcijos ChZ milteliais metu yra adsorbuojami ir kiti ekstraktuose esantys neidentifikuoti fenoliniai junginiai. ChZ/CLR, ChZ/AE ir ChZ/ŽKPE kompleksai pasižymi pailginto veikimo antioksidaciniu poveikiu ir didesniu terminiu stabilumu. Chitozono / žaliųjų kavos pupelių ekstrakto bei chitozono / žaliųjų kavos pupelių ekstrakto / mėlynių uogų ekstrakto dangos gali būti kokybiškai suformuotos ant filtro popieriaus, skirto

vaistažolėms pakuoti. Efektyviosios skysčių chromatografijos metodu įrodyta, kad vaistažolės supakavus į talpyklą su bioaktyviąja danga, po 5 min. vandeninėje ištraukoje 17,3–81,5 % padidėja bendras fenolinių junginių ir 29,5–95,2 % pavienių kafeoilchino rūgšties darinių kiekis. Be to, vaistažolių talpyklų su bioaktyviąja danga vandeninės ištraukos po 5 min. pasižymėjo 0,5–33,2 % didesniu antioksidaciniu efektyvumu.

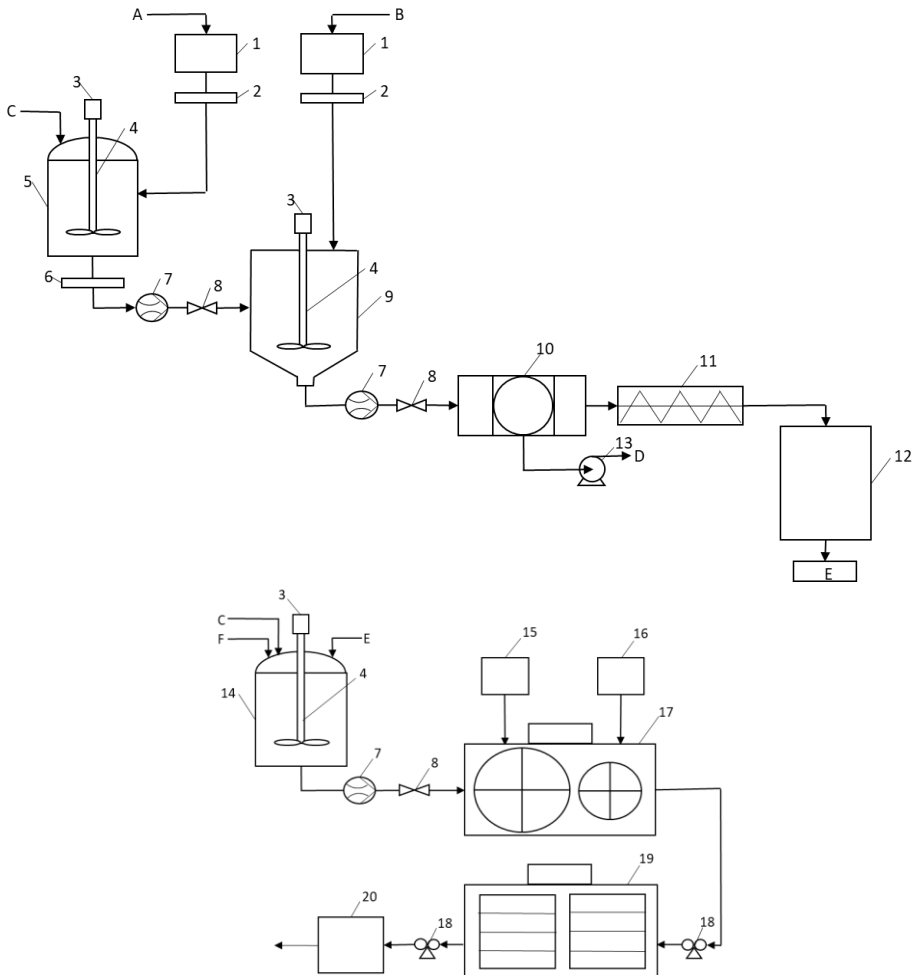
### **3.7.5.3 Chitozano ir žaliųjų kavos pupelių ekstrakto komplekso miltelių ir filtro popieriaus su biologiškai aktyvių junginių danga gamybos technologinis aprašymas**

Apibendrinus gautus eksperimentinius rezultatus buvo parinktos chitozano ir žaliųjų kavos pupelių ekstrakto komplekso (ChZ/ŽKPE) miltelių ir filtro popieriaus su ChZ/ŽKPE danga gamybos sąlygos. Gamybos technologinė schema yra pateikta 3.37 pav. Filtro popieriaus su ChZ/ŽKPE danga gamyba vykdyta dviem etapais. Pirmame etape vykdyta ChZ/ŽKPE komplekso miltelių gamyba, o antrame etape ant filtro popieriaus juostos formuota ChZ/ŽKPE danga.

ChZ/ŽKPE komplekso miltelių gamybos linijoje vykdytos keturios pagrindinės operacijos: ŽKPE tirpalo paruošimas, ŽKPE adsorbicija ChZ, ChZ/ŽKPE komplekso miltelių atskyrimas filtruojant ir džiovinimas. ChZ milteliai ir ŽKPE saugomi bunkeriuose 1 ir dozuojami svoriniais dozatoriais 2. Tam tikras kiekis ChZ (B) tiekiamas į reaktorių 9, o ŽKPE (A) suberiamas į tirpintuvą 5, į kurį įpilamas reikiamas vandens kiekis (C). Gautas ŽKPE tirpalas per tūrinį dozatorių 6 membraniniu siurbliu 7 transportuojamas į periodinio veikimo reaktorių 9, kuriame ŽKPE tirpalas yra adsorbuojamas ChZ milteliais 20–25 °C temperatūroje. Adsorbicijos proceso trukmė 60 min. Po adsorbicijos ChZ/ŽKPE vandeninė suspensija membraniniu siurbliu 7 transportuojama į būgninį vakuumfiltrą 10, kuriame ChZ/ŽKPE komplekso milteliai atskiriami nuo ŽKPE tirpalo. Pašalinta skystoji fazė (D) išcentrinu siurbliu 13 transportuojama į kanalizaciją, o ChZ/ŽKPE milteliai sraigtniu transporteriu 11 tiekiami į pūrus (pseudoverdančio) sluoksnio džiovyklą 12, kurioje išdžiovinami 80–90 °C temperatūroje. Išdžiovinti ChZ/ŽKPE komplekso milteliai transportuojami į produkcijos pakavimo sandėlį arba į bioaktyviosios dangos formavimo liniją.

Antrame gamybos etape ant filtro popieriaus juostos suformuota ChZ/ŽKPE danga. Visų pirma, ChZ/ŽKPE komplekso milteliai tirpintuve 14 yra ištirpinami 1 % acto rūgšties vandeniniame tirpale. Gautas tirpalas membraniniu siurbliu 7 tiekiamas į fleksografinės spaudos mašiną 17. Įrenginyje 15 yra gaminamos spausdinimo formos. Naudojant fleksografinės spaudos technologiją dangai formuoti ant filtro popieriaus yra naudojami spausdinimo velenai. Spausdinimo velenas sudarytas iš tūtos, ant kurios užklijuota polimerinė spausdinimo forma. Žaliavų saugojimo vietoje 16 gamintojo pakuotėse yra laikomi filtrinio popieriaus rulonai. Gautas tirpalas spausdinimo velenu užnešamas ant filtro popieriaus juostos, kuri transportavimo velenais 18 yra tiekama į konvekcinę džiovyklą 19, kurioje džiovinimo agentas perduoda dalį savo šilumos bioaktyviajai dangai, todėl suintensyvėja skysčių garavimo procesas, o susidarę vandens garai su tuo pačiu srautu pašalinami į aplinką. Po to, bioaktyviąja danga padengta pakavimo medžiaga transportavimo velenais 18

tiekiama į pjaustymo įrenginį 20, kuriame mišriuoju pjaustymo būdu pjaustoma skersai ir išilgai vyniojimo kryptčiai. Gaunama siauresnė pakavimo medžiaga nei pradiniame rulone. Pakavimo medžiagos rulonai transportuojami į produkcijos sandėlį.



**3.37 pav.** ChZ/ŽKPE komplekso miltelių ir filtro popieriaus su biologiškai aktyvių junginių danga gamybos technologinė schema: 1 – bunkeris; 2 – svorinis dozatorius; 3 – variklis; 4 – maišyklė; 5 – tirpintuvas; 6 – tūrinis dozatorius; 7 – membraninis siurblys; 8 – sklendė; 9 – reaktorius; 10 – būgninis vakuumfiltras; 11 – sraigtinis transporteris; 12 – puraus (pseudoverdančio) sluoksnio džiovykla; 13 – išcentrinis siurblys; 14 – tirpintuvas; 15 – spausdinimo formų gamyba; 16 – filtro popieriaus saugykla; 17 – fleksografinės spaudos mašina; 18 – transportavimo velenai; 19 – konvekinė džiovykla; 20 – filtro popieriaus pjaustyklė. *A* – ŽKPE, *B* – ChZ, *C* – minkštintas vanduo, *D* – ŽKPE filtratas; *E* – ChZ/ŽKPE komplekso milteliai, *F* – acto rūgštis

## IŠVADOS

1. Vandenyje vykstant elektrostatinei sąveikai tarp tinklinių katijoninių krakmolų tretinių amonio grupių ar ketvirtinių amino grupių ir chlorogeno rūgšties susidaro joniniai kompleksai. Prijungtos chlorogeno rūgšties kiekis priklauso nuo katijoninių grupių prigimties. Ketvirtinių amonio grupių turinčio tinklinio katijoninio krakmolo granulėmis fenolinės rūgšties yra adsorbuojama daugiau.
2. Vanilino, kavos, chlorogeno, rozmarino rūgščių ir ketvirtinių amonio grupių turinčio tinklinio katijoninio kompleksai gauti adsorbuojant fenolines rūgštis iš vandeninių tirpalų tinklinio katijoninio krakmolo mikrogranulėmis pusiausvyros sąlygomis:
  - 2.1 Lengmiūro adsorbcijos modelis patvirtino elektrostatinę sąveiką tarp fenolinių rūgščių karboksigrupių ir tinklinio katijonio krakmolo ketvirtinių amonio grupių. Freundlichio konstantos  $n_F$  bei Dubinino-Radushkevicho adsorbcijos energijos  $E_{DR}$  vertės parodė, kad sąlygos fenolinių rūgščių adsorbcijai ketvirtinių amonio grupių turinčiu tinkliniu katijoninio krakmolu yra palankios ir fenolinės rūgštys yra adsorbuojamos dėl jonų mainų;
  - 2.2 fenolinių rūgščių sorbcinės savybės priklauso nuo karboksigrupių jonizacijos laipsnio. Adsorbuotų fenolinių rūgščių kiekis didėja, mažėjant  $pKa$  vertei ir kinta tokia tvarka: kavos rūgštis < chlorogeno rūgštis < rozmarino rūgštis.
3. Artiškų ir žaliųjų kavos pupelių ekstraktuose esančių fenolinių junginių ir ketvirtinių amonio grupių turinčio tinklinio katijoninio krakmolo ar chitozano kompleksai gauti adsorbuojant augalinių ekstraktų komponentus iš vandeninių tirpalų tinklinio katijoninio krakmolo mikrogranulėmis ar chitozano dalelėmis pusiausvyros sąlygomis:
  - 3.1 Lengmiūro adsorbcijos modelis patvirtino augaliniuose ekstraktuose esančių chlorogeno rūgšties izomerų adsorbciją tinklinio katijoninio krakmolo ketvirtinėmis amonio grupėmis ar chitozano pirminėmis amino grupėmis;
  - 3.2 efektyviosios skysčių chromatografijos metodu įrodyta, kad iš augalinių ekstraktų vandeninių tirpalų adsorbuojami ne tik chlorogeno rūgšties izomerai, bet ir kiti ekstraktuose esantys fenoliniai junginiai, nes artiškų ir žaliųjų kavos pupelių ekstraktų sudėtyje atitinkamai yra 8,1 % ir 74,6 % fenolinių junginių, tarp kurių chlorogeno rūgšties izomerai atitinkamai sudaro 2,3 % ir 49,5 %.
4. Iš sudarytų kompleksų mikrogranulių vanilino, kavos, chlorogeno, rozmarino rūgštys ar artiškų ir žaliųjų kavos pupelių ekstraktuose esantys chlorogeno rūgšties izomerai ir kiti anijoniniai fenoliniai junginiai gali būti laipsniškai atpalaiduojami į skirtingas terpes: į 0,1 M druskos rūgšties (modelinė skrandžio terpė) ir fosfatinį buferinį tirpalą, kurio pH vertė yra 6,8 (modelinė žarnyno terpė), todėl kompleksai pasižymi pailginto veikimo antioksidaciniu poveikiu.

5. Fenolines rūgštis ir augalinių ekstraktų komponentus imobilizavus tinklinio katijoninio krakmolo mikrogranulėse ir chitozано milteliais, jų terminis stabilumas atitinkamai padidėjo 31–99 °C ir 67–100 °C.
6. Sukurtas vaistažolių talpyklos su chitozано ir žaliųjų kavos pupelių ekstrakto danga prototipas pasižymėjo antioksidacinėmis savybėmis:
  - 6.1 efektyviosios skysčių chromatografijos metodu įrodyta, kad margainių vaisius, „Detoxoset“ ir sukatžolės vaistažoles supakavus į talpyklas su bioaktyviaja danga, po 5 min. vaistažolių vandeninėje ištraukoje 17,3–81,5 % padidėja bendras fenolinių junginių ir pavienių chlorogeno rūgšties izomerų kiekiai: neochlorogeno rūgšties 1,5–8,1, chlorogeno rūgšties 1,9–47,1, o kriptochlorogeno rūgšties 0,8–28,5 karto;
  - 6.2 vaistažolių talpyklų su bioaktyviaja danga vandeninių ištraukų po 5 min. antioksidacinis efektyvumas buvo 0,5–33,2 % didesnis nei talpyklų be dangos;
  - 6.3 pasiūlyta chitozано ir žaliųjų kavos pupelių ekstrakto komplekso miltelių ir vaistažolių pakavimo medžiagos su bioaktyviaja danga gamybos technologinė schema.

## LITERATŪRA

1. TAOFIQ, O., A.M. GONZÁLEZ-PARAMÁS, A. MARTINS, M.F. BARREIRO, I.C.F.R. FERREIRA. Development of mushroom-based cosmeceutical formulations with anti-inflammatory, anti-tyrosinase, antioxidant, and antibacterial properties. *Molecules*. 2016, 21(10). Prieiga per doi: 10.3390/molecules21101372
2. NOWAK, A., A. CZYZOWSKA, M. EFENBERGER, L. KRALA. Polyphenolic extracts of cherry (*Prunus cerasus L.*) and blackcurrant (*Ribes nigrum L.*) leaves as natural preservatives in meat products. *Food Microbiology*. 2016, 59, 142–149. Prieiga per doi: 10.1016/j.fm.2016.06.004
3. DE DICASTILLO, C.L., F. BUSTOS, A. GUARDA, M.J. GALOTTO. Cross-linked methyl cellulose films with murta fruit extract for antioxidant and antimicrobial active food packaging. *Food Hydrocolloids*. 2016, 60, 335–344. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.03.020
4. LANDETE, J.M. Updates knowledge about polyphenols: functions, bioavailability, metabolism, and health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2012, 52, 936–948. Prieiga per doi: 10.1080/10408398.2010.513779
5. PINHOA, E., M. GROOTVELD, G. SOARES, M. HENRIQUES. Cyclodextrins as encapsulation agents for plant bioactive compounds. *Carbohydrate Polymers*. 2014, 101, 121–135. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2013.08.078
6. DAI, J., R.J. MUMPER. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 2010, 15(10), 7313–7352. Prieiga per doi: 10.3390/molecules15107313
7. SÁNCHEZ-MALDONADO, A.F., A. SCHIEBER, M.G. GÄNZLE. Structure–function relationships of the antibacterial activity of phenolic acids and their metabolism by lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*. 2011, 111(5), 1176–1184. Prieiga per doi: 10.1111/j.1365-2672.2011.05141.x
8. MUNIN, A., F. EDWARDS-LÉVY. Encapsulation of natural polyphenolic compounds: A review. *Pharmaceutics*. 2011, 3(4), 793–829. Prieiga per doi: 10.3390/pharmaceutics3040793
9. NICHOLS, J.A., S.K. KATIYAR. Skin photoprotection by natural polyphenols: Anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. *Archives of Dermatological Research*. 2010, 302(2), 71–83. Prieiga per doi: 10.1007/s00403-009-1001-3
10. CROZIER, A., I.B. JAGANATH, M.N. CLIFFORD. Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*. 2009, 26(8), 1001–1043. Prieiga per doi: 10.1039/b802662a
11. YANG, L.J., W. CHEN, S.X. MA, Y.T. GAO, R. HUANG, S.J. YAN, et al. Host–guest system of taxifolin and native cyclodextrin or its derivative: Preparation, characterization, inclusion mode, and solubilization. *Carbohydrate Polymers*. 2011, 85(3), 629–637. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2011.03.029
12. MANACH, C., A. SCALBERT, C. MORAND, C. RÉMÉSY, L. JIMÉNEZ. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2004, 79, 727–747. Prieiga per doi: 10.1093/ajcn/79.5.727
13. CUEVA, C., M.V. MORENO-ARRIBAS, P. J. MARTÍN-ALVAREZ, G. BILLS, M. F. VICENTE, A. BASILIO, et al. Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Research in Microbiology*. 2010, 161(5), 372–382. Prieiga per doi: 10.1016/j.resmic.2010.04.006



14. MERKL, R., I. HRADKOVA, V. FILIP, J. SMIDRKAL. Antimicrobial and antioxidant properties of phenolic acids alkyl esters. *Czech Journal of Food Sciences*. 2010, 28(4), 275–279.
15. GÜLÇİN, I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*. 2012, 86, 345–391. Prieiga per doi: 10.1007/s00204-011-0774-2
16. FUKUMOTO, L.R., G. MAZZA. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000, 48, 3597–3604. Prieiga per doi: 10.1021/jf000220w
17. DEWICK, P.M. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*, John Wiley & Sons Ltd, England, 2011, p. 28–29. ISBN 0471496413
18. CUVELIER, M.E., H. RICHARD, C. BERSET. Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: Structure-activity relationships. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 1992, 56, 324–325. Prieiga per doi: 10.1271/bbb.56.324
19. SAPINO, S., M.E. CARLOTTI, G. CARON, E. UGAZIO, R. CAVALLI. In silico design, pho-tostability and biological properties of the complex resveratrol/hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. 2008, 63(1/2), 171–180. Prieiga per doi: 10.1007/s10847-008-9504-7
20. Lim, C., M.A.G. Koffas. Bioavailability and recent advances in the bioactivity of flavonoid and stilbene compounds. *Current Organic Chemistry*. 2010, 14(716), 1727–1751. Prieiga per doi: 10.2174/138527210792927654
21. COWAN, M.M.M. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999, 12(4), 564–582.
22. CREAVENT, B.S., E. CZEGLÉDI, M. DEVEREUX, É.A. ENYEDY, A. FOLTYN-ARFA KIA, D. KARCZ, et al. Biological activity and coordination modes of copper(II) complexes of Schiff base-derived coumarin ligands. *Dalton Transactions*. 2010, 39(45), 10854–10865. Prieiga per doi: 10.1039/c0dt00068j
23. GRAZUL, M., E. BUDZISZ. Biological activity of metal ions complexes of chromones, coumarins and flavones. *Coordination Chemistry Reviews*. 2009, 253(21/22), 2588–2598. Prieiga per doi: 10.1016/j.ccr.2009.06.015
24. RODRIGUEZ, A., T. STRUCKO, S.G. STAHLHUT, M. KRISTENSEN, D.K. SVENSSEN, J. FORSTER, J. NIELSEN, I. BORODINA. Metabolic engineering of yeast for fermentative production of flavonoids. *Bioresource Technology*. 2017, 245(B), 1645–1654. Prieiga per doi: 10.1016/j.biortech.2017.06.043
25. WANG, Y., S. CHEN, O. YU. Metabolic engineering of flavonoids in plants and microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2011, 91(4), 949–956. Prieiga per doi: 10.1007/s00253-011-3449-2
26. TSAO, R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*. 2010, 2(12), 1231–1246. Prieiga per doi: 10.3390/nu2121231
27. RAFFA, D., B. MAGGIO, M. V. RAIMONDI, F. PLESCIA, G. DAIDONE. Recent discoveries of anticancer flavonoids. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017, 142, 213–228. Prieiga per doi: 10.1016/j.ejmech.2017.07.034
28. WANG, T.Y., Q. LI, K.S. BI. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2018, 13(1), 12–23. Prieiga per doi: 10.1016/j.ajps.2017.08.004

29. MATTHEWS, S., I. MILA, A. SCALBERT, M.X. DONNELLY. Extractable and non-extractable poanthocyanidins in barks. *Phytochemistry*. 1997, 45(2), 405–410. Prieiga per doi: 10.1016/S0031-9422(96)00873-4
30. FANG, Z., B. BHANDARI. Encapsulation of polyphenols – a review. *Trends in Food Science and Technology*. 2010, 21(10), 510–523. Prieiga per doi: 10.1016/j.tifs.2010.08.003
31. KARAKAYA, S. Bioavailability of phenolic compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2004, 44, 453–464. Prieiga per doi: 10.1080/10408690490886683
32. PERRON, N.R., J.L. BRUMAGHIM. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2009, 53, 75–100. Prieiga per doi: 10.1007/s12013-009-9043-x
33. GRAVERSEN, H.B., E.M. BECKER, L.H. SKIBSTED, M.L. ANDERSEN. Antioxidant synergism between fruit juice and a-tocopherol. A comparison between high phenolic black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) and high ascorbic blackcurrant (*Ribes nigrum*). *European Food Research and Technology*. 2008, 226(4), 737–743. Prieiga per doi: 10.1007/s00217-007-0585-0
34. HAVSTEEN, B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*. 2002, 96(2/3), 67–202. Prieiga per doi: 10.1016/S0163-7258(02)00298-X
35. LEE, H., A.M. JENNER, C.S. LOW, Y.K. LEE. Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota. *Research in Microbiology*. 2006, 157(9), 876–884. Prieiga per doi: 10.1016/j.resmic.2006.07.004
36. NIJVELDT, R.J., E. NOOD, D.E.C. HOORN, P.G. BOELENS, K. NORREN, P.A.M. LEEUWEN. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2001, 74(4), 418–425. Prieiga per doi: 10.1093/ajcn/74.4.418
37. THARANATHAN, R. N. Starch – value addition by modification. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2005, 45(5), 371–384. Prieiga per doi: 10.1080/10408390590967702
38. KARIM, A.A., B. KAUR, F. ARIFFIN, R. BHAT. Progress in starch modification in the last decade. *Food Hydrocolloids*. 2012, 26(2), 398–404. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodhyd.2011.02.016
39. KAVALIAUSKAITĖ, R. Interaction of Starch With Glycidyltrimethylammonium chloride and the properties of the obtained products. Summary of Doctoral dissertation. 2007. pp. 27
40. OU, S., A. LI, A. YANG. A study on synthesis of starch ferulate and its biological properties. *Food Chemistry*. 2001, 74(1), 91–95. Prieiga per doi: 10.1016/S0308-8146(01)00103-0
41. QIAO, L., Q.M. GU, H.N. CHENG. Enzyme-catalyzed synthesis of hydrophobically modified starch. *Carbohydrate Polymers*. 2006, 66(1), 135–140. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2006.02.033
42. WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION. Method for oxidizing dry starch using ozone. Inventors: KESSELMANS, R.P.W., I.P. BLEEKER. WO/1997/032902. [žiūrėta 2018-01-20]. Prieiga per internetą: <https://encrypted.google.com/patents/WO1997032902A1?cl=tr>

43. AN, H.J., J.M. KING. Using ozonation and amino acids to change pasting properties of rice starch. *Journal of Food Science*. 2009, 74(3), 278–283. Prieiga per doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01109.x
44. CHAN, H.T., R. BHAT, A.A. KARIM. Physicochemical and functional properties of ozone-oxidized starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009, 57(13), 5965–5970. Prieiga per doi: 10.1021/jf9008789
45. ELVERS, B., S. HAWKINS, W. RUSSEY. (1994). Starche and other polysaccharides to surfactants. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. (A25, pp. 817)
46. THIRATHUMTHAVORN, D., S. CHAROENREIN. Thermal and Pasting Properties of Acid-treated Rice Starches. *Starch/Stärke*. 2005, 57(5), 217–222. Prieiga per doi: 10.1002/star.200400332
47. XU, Y.X., V. MILADINOV, M.A. HANNA. Synthesis and characterization of starch acetates with high substitution. *Cereal Chemistry*. 2004, 81, 735–740. Prieiga per doi:10.1094/CCHEM.2004.81.6.735
48. SHOGREN, R.L. Preparation, thermal properties, and extrusion of highamylose starch acetates. *Carbohydrate Polymers*. 1996, 29, 57–62. Prieiga per doi: 10.1016/0144-8617(95)00143-3
49. SHOGREN, R.L. Rapid preparation of starch esters by high temperature/pressure reaction. *Carbohydrate Polymer*. 2003, 52, 319–326. Prieiga per doi: 10.1016/S0144-8617(02)00305-3
50. LOPEZ-RUBIO, A., J.M. CLARKE, B. SCHERER, D. L. TOPPING, E.P. GILBERT. Structural modifications of granular starch upon acylation with short-chain fatty acids. *Food Hydrocolloids*. 2009, 23, 1940–1946. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodhyd.2009.01.003
51. CHI, H., K. XU, X.L. WU, Q. CHEN, D.H. XUE, C. SONG, W. ZHANG, P.X. WANG. Effect of acetylation on the properties of corn starch. *Food Chemistry*. 2008, 106, 923–928. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2007.07.002
52. ABURTO, J., I. ALRIC, S. THIEBAUD, E. BORREDON, D. BIKIARIS, J. PRINOS, C. PANAYIOTOU. Synthesis, characterization, and biodegradability of fatty-acid esters of amylose and starch. *Journal of Applied Polymer Science*. 1999, 74, 1440–1451. Prieiga per doi: 10.1002/(SICI)1097-4628(19991107)74:6<1440::AID-APP17>3.0.CO;2-V
53. FANG, J.M., P.A. FOWLER, C. SAYERS, P.A. WILLIAMS. The chemical modification of a range of starches under aqueous reaction conditions. *Carbohydrate Polymers*. 2004, 55, 283–289. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2003.10.003
54. HUI, R., C. QI-HE, F. MING-LIANG, X. QIONG, H. GUO-QING. Preparation and properties of octenyl succinic anhydride modified potato starch. *Food Chemistry*. 2009, 114, 81–86. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2008.09.019
55. BHOSALE, R., R. SINGHAL. Process optimization for the synthesis of octenyl succinyl derivative of waxy corn and amaranth starches. *Carbohydrate Polymer*. 2006, 66, 521–527. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2006.04.007
56. BAO, J.S., J. XING, D.L. PHILLIPS, H. CORKE. Physical properties of octenyl succinic anhydride modified rice, wheat, and potato starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, 51, 2283–2287. Prieiga per doi: 10.1021/jf020371u
57. SHIH, F.F., K.W. DAIGLE. Gelatinization and pasting properties of rice starch modified with 2-octen-1-ylsuccinic anhydride. *Nahrung/Food*. 2003, 47, 64–67. Prieiga per doi: 10.1002/food.200390015

58. EUROPEAN PATENT APPLICATION. Method for making a cellulose or starch fatty ester by esterification or transesterification. Inventors: VACA-GARCIA, C., M.E. BORREDON, A. GASET. WO 2000050493 A1. [žiūrėta 2018-01-25]. Prieiga per internet: <https://encrypted.google.com/patents/WO2000050493A1?cl=en>
59. DE GRAAF, R.A., G.A. BROEKROELOFS, L.P.B.M. JANSSEN, A.A.C.M. BEENACKERS. The kinetics of the acetylation of elatinized potato starch. *Carbohydrate Polymers*. 1995, 28, 137–144. Prieiga per doi: 10.1016/j.progpolymsci.2010.11.002
60. JUNISTIA, L., A.K. SUGIH, R. MANURUNG, F. PICCHIONI, L. JANSSEN, H.J. HEERES. Experimental and modeling studies on the synthesis and properties of higher fatty esters of corn starch. *Starch/Stärke*. 2009, 61, 69–80. Prieiga per doi: 10.1002/star.200800076
61. MORMANN, W., M. AL-HIGARI. Acylation of starch with vinyl acetate in water. *Starch/Stärke*. 2004, 56, 118–121. Prieiga per doi: 10.1002/star.200300238
62. CHAKRABORTY, S., B. SAHOO, I. TERAOKA, L.M. MILLER, R.A. GROSS. Enzyme catalyzed regioselective modification of starch nanoparticles. *Macromolecules*. 2005, 38(1), 61–68. Prieiga per doi: 10.1021/ma048842w
63. WURZBURG, O. B. Cross-linked starches. Modified starches: properties and uses. CRC Press., Boca Ration Florida, USA, 1986, p. 42–51. ISBN 0-8493-5964-3
64. 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
65. KARTHA, K.P.R., H.C. SRIVASTAVA. Reaction of epichlorohydrin with carbohydrate polymers. Part I. Starch reaction kinetics. *Starch/Stärke*. 1985, 37(8), 270–276. Prieiga per doi: 10.1002/star.19850370806
66. XIE, S.X., Q. LIU, S.W. CUI. (2005). Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications. Chapter 8: Starch modification and applications. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton. ISBN 0-8493-1574-3
67. SHIFTAN, D., F. RAVENELLE, M.A. MATEESCU, R.H. MARCHESSAULT. Change in the V/B polymorph ratio and T1 relaxation of epichlorohydrin crosslinked high amylase starch excipient. *Starch/Stärke*. 2000, 52, 186–195. Prieiga per doi: 10.1002/1521-379X(200007)52:6/7<186::AID-STAR186>3.0.CO;2-8
68. SCHURZ, J., H. KRASING, et al. (1986). Ullmann`s Encyclopedia of Industrial Chemistry. VSH Verlagsgesellschaft, Weinheim. (pp. 375)
69. DELVAL, F., G. CRINI, S. BERTINI, N. MORIN-CRINI, P.M. BADOT, J. VEBREL, G. TORRI. Characterization of crosslinked starch materials with spectroscopic techniques. *Journal of Applied Polymer Science*. 2004, 93, 2650–2663. Prieiga per doi: 10.1002/app.20851
70. KUNIAK, L., R.H. MARCHESSAULT. Study of the cross-linking reaction between epichlorohydrin and starch. *Starch/ Stärke*. 1972, 24, 110–116. Prieiga per doi: 10.1002/star.19720240404
71. KHALIL, M.I., A.A. ALY. Preparation and evaluation of some cationic starch derivatives as flocculants. *Starch/Stärke*. 2001, 53, 84–89. Prieiga per doi: 10.1002/1521-379X(200102)53:2<84::AID-STAR84>3.0.CO;2-N
72. KHALIL, M. I., A. A. ALY. Evaluation of some starch derivatives containing amide groups as flocculants. *Starch/Stärke*. 2001, 53, 323–329. Prieiga per doi: 10.1002/1521-379X(200204)54:3/4<132::AID-STAR132>3.0.CO;2-E

73. ANTHONY, R.J., R.C. SIMS. Optimization of cationic amino starch synthesis using biogenic amines. *Carbohydrate Polymers*. 2013, 98, 1409–1415. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2013.07.043
74. WEI, Y., F. CHENG, H. ZHENG. Synthesis and flocculating properties of cationic starch derivatives. *Carbohydrate Polymers*. 2008, 74, 673–679. Prieiga per doi:10.1016/j.carbpol.2008.04.026
75. ŠIMKOVIC I. Quaternization/crosslinking of starch with choline chloride/epichlorohydrin. *Carbohydrate Polymers*. 1997, 34, 21–23. Prieiga per doi: 10.1016/S0144-8617(97)00092-1
76. NEETHIRAJAN, S., D.S. JAYAS. Nanotechnology for the food and bioprocessing industries. *Food and Bioprocess Technology*. 2011, 4, 39–47. Prieiga per doi: 10.1007/s11947-010-0328-2
77. HUANG, Q., H. YU, Q. RU. Bioavailability and delivery of nutraceuticals using nanotechnology. *The Journal of Food Science*. 2010, 75(1), R50–R57. Prieiga per doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01457.x
78. JAFARI, S.M., E. ASSADPOOR, B. BHANDARI, Y. HE. Nano-particle encapsulation offish oil by spray drying. *Food Research International*. 2008, 41(2), 172–183. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodres.2007.11.002
79. ESFANJANI, A.F., S.M. JAFARI, E. ASSADPOOR, A. MOHAMMADI. Nano-encapsulation of saffron extract through double-layered multiple emulsions of pectin and whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering*. 2015, 165, 149–155. Prieiga per doi: 10.1016/j.jfoodeng.2015.06.022
80. MOHAMMADI, A., S.M. JAFARI, A.F. ESFANJANI, S. AKHAVAN. Application of nano-encapsulated olive leaf extract in controlling the oxidative stability of soybean oil. *Food Chemistry*. 2015, 190, 513–519. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2015.05.115
81. RAEI, M., G. RAJABZADEH, S. ZIBAEI, S.M. JAFARI, A.M. SANI. Nano-encapsulation of isolated lactoferrin from camel milk by calcium alginate and evaluation of its release. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2015, 79, 669–673. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.05.048
82. SHAMSARA, O., Z.K. MUHIDINOV, S.M. JAFARI, J. BOBOKALONOV, A. JONMURODOV, M. TAGHVAEI, M. KUMPUGDEE-VOLLRATH. Effect of ultrasonication, pH and heating on stability of apricot gum–lactoglobuline two layer nanoemulsions. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2015, 81, 1019–1025. Prieiga per doi:10.1016/j.ijbiomac.2015.05.048
83. MOHAMMADI, A., S.M. JAFARI, E. ASSADPOUR, A.F. ESFANJANI. Nano-encapsulation of olive leaf phenolic compounds through WPC–pectin complexes and evaluating their release rate. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016, 82, 816–822. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.10.025
84. MEHRNIA, M.A., S.M. JAFARI, B.S. MAKHMAL-ZADEH, Y. MAGHSOUDLOU. Crocin loaded nano-emulsions: factors affecting emulsion properties in spontaneous emulsification. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016, 84, 261–267. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.12.029
85. ALLEMAN, E., R. GURNY, E. DOEKLER. Drug-loaded nanoparticles – preparation methods and drug targeting issues. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 1993, 39(5), 173–191.

86. COUVREUR, P., C. DUBERNET, F. PUISIEUX. Controlled drug delivery with nanoparticles: current possibilities and future trends. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 1995, 41(1), 2–13.
87. ESFANJANI, A.F., S.M. JAFARI. Biopolymer nano-particles and natural nano-carriers for nano-encapsulation of phenolic compounds. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2016, 146, 532–543. Prieiga per doi: 10.1016/j.colsurfb.2016.06.053
88. JACKANICZ, T.M., H.A. NASH, D.L. WISE, J.B. GREGORY. Polylactic acid as a biodegradable carrier for contraceptive steroids. *Contraception*. 1973, 8(3), 227–234. Prieiga per doi: 10.1016/0010-7824(73)90033-4
89. KREUTER, J. (1994). Colloidal Drug Delivery Systems. Marcel Dekker, Inc., New York. ISBN 0-8247-9214-9
90. FARRUGIA, C.A., M.J. GROVES. Gelatin ehavior in dilute aqueous solution: designing a nanoparticulate formulation. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1999, 51, 643–649. Prieiga per doi: 10.1211/0022357991772925
91. FERNANDEZ-URRUSUNO R., P. CALVO, C. REMUNÁN-LÓPEZ, J.L. VILA-JATO, M.J. ALONSO. Enhancement of nasal absorption of insulin using chitosan nanoparticles. *Pharmaceutical Research*. 1999, 16(10), 1576–1581. Prieiga per doi: 10.1023/A:1018908705446
92. AYNIE, I., C. VAUTHIER, H. CHACUN, E. FATTAL, P. COUVREUR. Spongelike alginate nanoparticles as a new potential system for the delivery of antisense oligonucleotides. *Antisense and Nucleic Acid Drug Development*. 1999, 9(3), 301–312. Prieiga per doi: 10.1089/oli.1.1999.9.301
93. SONG, X., Y. ZHAO, S. HOU, F. XU, R. ZHAO, J. HE, Z. CAI, Y. LI, Q. CHEN. Dual agents loaded PLGA nanoparticles: systematic study of particle size and drug entrapment efficiency. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2008, 69(2), 445–453. Prieiga per doi: 10.1016/j.ejpb.2008.01.013
94. TSAI, Y.M., C.F. CHIEN, L.C. LIN, T.H. TSAI. Curcumin and its nano-formulation: the kinetics of tissue distribution and blood–brain barrier penetration. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011, 416(1), 331–338. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.06.030
95. SHAIKH, J., D. ANKOLA, V. BENIWAL, D. SINGH, M.R. KUMAR. Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-foldwhen compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009, 37(3/4), 223–230. Prieiga per doi: 10.1016/j.ejps.2009.02.019
96. KONECSNI, K., N. LOW, M. NICKERSON. Chitosan–tripolyphosphate submicronparticles as the carrier of entrapped rutin. *Food Chemistry*. 2012, 134(4), 1775–1779. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2012.03.070
97. BOUYER, E., G. MEKHLLOUFI, V. ROSILIO, J.L. GROSSIORD, F. AGNELY. Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012, 436(1/2), 359–378. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijpharm.2012.06.052
98. ARROYO-MAYA, I.J., 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

99. LI, J., X. WANG. Binding of (-)-epigallocatechin-3-gallate with thermally-induced bovine serum albumin/ $\kappa$ -carrageenan particles. *Food Chemistry*. 2015, 168, 566–571. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2014.07.097
100. SHUTAVA, T.G., S.S. BALKUNDI, P. VANGALA, J.J. STEFFAN, R.L. BIGELOW, J.A. CARDELLI, D.P. O'NEAL, Y.M. LVOV. Layer-by-layer-coated gelatin nanoparticles as a vehicle for delivery of natural polyphenols. *ACS Nano*. 2009, 3(7), 1877–1885. Prieiga per doi: 10.1021/nn900451a
101. BORDENAVE, N., B.R. HAMAKER, M.G. FERRUZZI. Nature and consequences of non-covalent interactions between flavonoids and macronutrients in foods. *Food & Function*. 2014, 5, 18–34. Prieiga per doi: 10.1039/C3FO60263J
102. OBIRO W.C., S.S. RAY, M.N. EMMAMBUX. V-amylose structural characteristics, methods of preparation, significance and potential applications. *Food Reviews International*. 2012, 28(4), 412–438. Prieiga per doi: 10.1080/87559129.2012.660718
103. COHEN, R., B. SCHWARTZ, I. PERI, E. SHIMONI. Improving bioavailability and stability of genistein by complexation with high-amylose corn starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011, 59(14), 7932–7938. Prieiga per doi: 10.1021/jf2013277
104. COHEN, R., Y. ORLOVA, M. KOVALEV, Y. UNGAR, E. SHIMONI. Structural and functional properties of amylose complexes with genistein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008, 56(11), 4212–4218. Prieiga per doi: 10.1021/jf800255c
105. YANG, L., B. ZHANG, J. YI, J. LIANG, Y. LIU, L.M. ZHANG. Preparation, characterization, and properties of amylose-ibuprofen inclusion complexes. *Starch/Stärke*. 2013, 65(7/8), 593–602. Prieiga per doi: 10.1002/star.201200161
106. FRIEDMAN, M., H.S. JURGENS. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000, 48(6), 2101–2110. Prieiga per doi: 10.1021/jf990489j
107. HUNG, P.V., N.H. PHAT, N.T.L. PHI. Physicochemical properties and antioxidant capacity of debranched starch-ferulic acid complexes. *Starch/Stärke*. 2013, 65(5/6), 382–389. Prieiga per doi: 10.1002/star.201200168
108. LORENTZ, C., G. PENCREAC'H, S. SOULTANI-VIGNERON, C. RONDEAU-MOURO, M. DE CARVALHO, B. PONTOIRE, F. ERGAN, P. LE BAIL. Coupling lipophilization and amylose complexation to encapsulate chlorogenic acid. *Carbohydrate Polymers*. 2012, 90, 152–158. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2012.05.008
109. LARRAURI, J.A., P. RUPEREZ, F. SAURA-CALIXTO. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1997, 45(4), 1390–1393. Prieiga per doi: 10.1021/jf960282f
110. ZHU, F., Y.J. WANG. Characterization of modified highamylose maize starch-anaphthol complexes and their influence on rheological properties of wheat starch. *Food Chemistry*. 2013, 138(1), 256–262. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2012.09.097
111. CHAI, Y., M. WANG, G. ZHANG. Interaction between amylose and tea polyphenols modulates the postprandial glycemic response to high-amylose maize starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2013, 61(36), 8608–8615. Prieiga per doi: 10.1021/jf402821r

112. WU, Y., Q. LIN, Z. CHEN, H. XIAO. The interaction between tea polyphenols and rice starch during gelatinization. *Food Science and Technology International*. 2011, 17(6), 569–577. Prieiga per doi: 10.1177/1082013211430294
113. TAKAHAMA, U., S. HIROTA. Effects of starch on nitrous acid induced oxidation of kaempferol and inhibition of  $\alpha$ -amylase-catalysed digestion of starch by kaempferol under conditions simulating the stomach and the intestine. *Food Chemistry*. 2013, 141(1), 313–319. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2013.02.037
114. TAKAHAMA, U., R. YAMAUCHI, S. HIROTA. Interactions of starch with a cyanidine-catechin pigment (vignacyanidin) isolated from *Vigna angularis* bean. *Food Chemistry*. 2013, 141(3), 2600–2605. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2013.04.065
115. FRIBERG, S., K. LARSSON, J. SJOBLOM. *Food emulsions* [interaktyvus]. 4th ed. 2004. [žiūrėta 2018-02-12]. Prieiga per books.google.com
116. MCCLEMENTS, D. J. *Food emulsions: Principles, practice, and techniques* [interaktyvus]. 2nd ed. 2005. [žiūrėta 2018-02-12]. Prieiga per books.google.com
117. Functional emulsions. Inventors: M. NAKAJIMA, H. NABETANI, S. ICHIKAWA, Q.Y. XU. IPC: A61K 8/39. US Patent US 6538019 B1. 2003-03-25. [žiūrėta 2018-02-16]. Prieiga per internetą: <https://patents.google.com/patent/US6538019>
118. ALMAJANO, M.P., R. CARBO, J.A. JIMENEZ, M.H. GORDON. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chemistry*. 2008, 108(1), 55–63. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2007.10.040
119. ALMAJANO, M.P., R. CARBO, M.E. DELGADO, M.H. GORDON. Effect of pH on the antimicrobial activity and oxidative stability of oil-in-water emulsions containing caffeic acid. *Journal of Food Science*. 2007, 72(5), C258–C263. Prieiga per doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00387.x
120. DI MATTIA, C.D., G. SACCHETTI, D. MASTROCOLA, P. PITTIA. Effect of phenolic antioxidants on the dispersion state and chemical stability of olive oil O/W emulsions. *Food Research International*. 2009, 42(8), 1163–1170. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodres.2009.05.017
121. GIUNCHEDI, P., U. CONTE. Spray-drying as a preparation method of microparticulate drug delivery systems: An overview. *S.T.P. Pharma Pratiques* 1995, 5(4), 276–290.
122. PATEL, R.P., M.P. PATEL, A.M. SUTHAR. Spray drying technology: an overview. *Indian Journal of Science and Technology*. 2009, 2(10), 44–47. ISSN: 0974-6846
123. GIBBS, B.F., S. KERMASHA, I. ALLI, C.N. MULLIGAN. Encapsulation in the food industry: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 1999, 50(3), 213–224.
124. DESAI, K.G.H., H.J. PARK. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*. 2005, 23(7), 1361–1394. Prieiga per doi: 10.1081/DRT-200063478
125. ERSUS, S., U. YURDAGEL. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. *Journal of Food Engineering*. 2007, 80(3), 805–812. Prieiga per doi: 10.1016/j.jfoodeng.2006.07.009
126. ZHANG, L., D. MOU, Y. DU. Procyanidins: extraction and micro-encapsulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007, 87(12), 2192–2197. Prieiga per doi: 10.1002/jsfa.2899



127. KOSARAJU, S.L., L. D'ATH, A. LAWRENCE. Preparation and characterisation of chitosan microspheres for antioxidant delivery. *Carbohydrate Polymers*. 2006, 64(2), 163–167. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2005.11.027
128. KOSARAJU, S.L., D. LABBETT, M. EMIN, I. KONCZAK, L. LUNDIN. Delivering polyphenols for healthy ageing. *Nutrition & Dietetics*. 2008, 65(S3), S48–S52. Prieiga per doi: 10.1111/j.1747-0080.2008.00261.x
129. DELADINO, L., P.S. ANBINDER, A.S. NAVARRO, M.N. MARTINO. Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. *Carbohydrate Polymers*. 2008, 71(1), 126–134. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2007.05.030
130. NORI, M.P., C.S. FAVARO-TRINDADE, S. MATIAS DE ALENCAR, M. THOMAZINI, J.C. DE CAMARGO BALIEIRO, C.J. CONTRERAS CASTILLO. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. *LWT - Food Science and Technology*. 2011, 44(2), 429–435. Prieiga per doi: 10.1016/j.lwt.2010.09.010
131. DELADINO, L., P.S. ANBINDER, A.S. NAVARRO, M.N. MARTINO. Co-crystallization of yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) and mineral salts within a sucrose matrix. *Journal of Food Engineering*. 2007, 80(2), 573–580. Prieiga per doi: 10.1016/j.jfoodeng.2006.06.016
132. OETJEN, G.W., P. HASELEY. *Freeze-drying* [interaktyvus]. 2nd ed. 2004. [žiūrėta 2018-02-14]. Prieiga per books.google.com
133. DELGADO-VARGAS, F., A.R. JIMENEZ, O. PARDES-LOPEZ. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins and betalains characteristics, biosynthesis, processing and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2000, 40(3), 173–289. Prieiga per doi: 10.1080/10408690091189257
134. LAINE, P., P. KYLLI, M. HEINONEN, K. JOUPPILA. Storage stability of microencapsulated cloudberry (*Rubus chamaemorus*) phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008, 56(23), 11251–11261. Prieiga per doi: 10.1021/jf801868h
135. BERNARDY, N., A.P. ROMIO, E.I. BARCELOS, C. DAL PIZZOL; C.L. DORA, E. LEMOS-SENNA, P.H.H. ARAUJO, C. SAYER. Nanoencapsulation of quercetin via miniemulsion polymerization. *Journal of Biomedical Nanotechnology*. 2010, 6(2), 181–186. Prieiga per doi: 10.1166/jbn.2010.1107
136. JANSSEN, L.J.J.M., K. TE NIJENHUIS. Encapsulation by interfacial polycondensation. I. The capsule production and a model for wall growth. *Journal of Membrane Science*. 1992, 65(1/2), 59–68. Prieiga per doi: 10.1016/0376-7388(92)87053-Z
137. ANDRY, M.C., H. VEZIN, I. DUMISTRACEL, J.L. BERNIER, M.C. LÉVY. Proanthocyanidin microcapsules: Preparation, properties and free radical scavenging activity. *International Journal of Pharmaceutics*. 1998, 171, 217–226. Prieiga per doi: 10.1016/S0378-5173(98)00183-5
138. BENDORAITIENE, J., R. KAVALIAUSKAITE, R. KLIMAVICIUTE, A. ZEMAITAITIS. Peculiarities of starch cationization with glycidyltrimethylammonium chloride. *Starch/Stärke*. 2006, 58(12), 623–631. Prieiga per doi: 10.1002/star.200600541
139. MÜLLER, E., J. HOUBEN, T. WEYL, G. APEL, H. MEIER. Methoden der Organischen Chemie. Band 2. Analytische Methoden. AbeBooks Verkäufer seit 12, 2002.

140. 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
141. FREUNDLICH, H.M.F. Über die adsorption in Lösungen. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*. 1906, 57, 385–470.
142. DUBININ, M.M. Modern theory of voluminal filling of micropores of carbonadsorbent. *Izvestija Akademii Nauk SSSR. Chimija*. 1991, 1, 9–30, in Russian
143. KHAN, A.A., R.P. SINGH. Adsorption thermodynamic of carbofuran on Sn(IV) arsenosilicate in H<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> and Cd<sup>+</sup> forms. *Colloids and Surfaces*. 1987, 24, 33–42.
144. 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
145. 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.
146. KLIMAVICIUTE, R., A. RIAUKA, A. ZEMAITAITIS. The binding of anionic dyes by cross-linked cationic starches. *Journal of Polymer Research*. 2007, 14(1), 67–73. Prieiga per doi: 10.1007/s10965-006-9082-6
147. DELVAL, F., G. CRINI, S. BERTINI, C. FILIATRE, G. TORRI. Preparation, characterization and sorption properties of crosslinked starch-based exchangers. *Carbohydrate Polymers*. 2005, 60(1), 67–75. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2004.11.025
148. VEREGIN, R.P, C.A. FYFE, R.H. MARCHESSAULT, M.G. TAYLOR. Characterization of the crystalline A and B atarch polymorphs and investigation of starch crystallization by high-resolution carbon 13 CP/MAS NMR. *Macromolecules*. 1986, 19(4), 1030–1034. Prieiga per doi: 10.1021/ma00158a016
149. MARCHESSAULT, R.H, M.G. TAYLOR, C.A. FYFE, R.P. VEREGIN. Solid-state <sup>13</sup>C CP/Mas NMR of starches. *Carbohydrate Research*. 1985, 144 (1), C1–C5. Prieiga per doi: 10.1016/0008-6215(85)85019-9
150. DELVAL, F., G. CRINI, N. MORIN, J. VEBREL, S. BERTINI, G. TORRI. The sorption of several type of dye on crosslinked polysaccharide derivatives. *Dyes & Pigments*. 2002, 53(1), 79–92. Prieiga per doi: 10.1016/S0143-7208(02)00004-9
151. SU, Y., H. DU, Y. HOU, Y. XU, J. WANG, L. WANG, S. ZHAO, S. XIONG. Characterization of cationic starch flocculants synthesized by dry process with ball milling activating method. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016, 87, 34–40. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.11.093
152. KILLINGER, W.E., D. MURRY, G.R. HATFIELD, T. HASSIER. Determination of the degree of cationicity in cationic starches by solid-state <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. *Starch*. 1995, 47(8), 311–314. Prieiga per doi: 10.1002/star.19950470806
153. SIMKOVICH, I., J. A. LASZLO, A. R. THOMSPSON. Preparation of a weakly basic ion exchanger by crosslinking starch with epichlorohydrin in the presence of NH<sub>4</sub>OH. *Carbohydrate Polymers*. 1996, 30 (1), 25–30. Prieiga per doi: 10.1016/S0144-8617(96)00060-4
154. RENAULT, F., N. MORIN-CRINI, F. GIMBERT, P.M. BADOT, G. CRINI. Cationized starch-based materials as a new ion-exchanger adsorbent for removal of C.I. Acid Blue 25 from aqueous solutions. *Bioresource Technology*. 2008, 99(16), 7573–7786. Prieiga per doi: 10.1016/j.biortech.2008.02.011

155. KLIMAVICIUTE, R., J. BENDORAITIENE, E. LEKNIUTE, A. ZEMAITAITIS. Non-stoichiometric complexes of cationic starch and 4-sulfophtalic acid and their flocculation efficiency. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2014, 457, 180–188. Prieiga per doi: 10.1016/j.colsurfa.2014.05.074
156. LIU, R.H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. *The Journal of Nutrition*. 2004, 134(12), 3479S-3485S. Prieiga per doi: 10.1093/jn/134.12.3479S
157. PERRONE, D., A. FARAHA, C.M. DONANGELOA, T. DE PAULIS, P. R. MARTIN. Comprehensive analysis of major and minor chlorogenic acids and lactones in economically relevant Brazilia coffee cultivars. *Food Chemistry*. 2008, 106(2), 859–867. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2007.06.053
158. KABIR, F., S. KATAYAMA, N. TANJI, S. NAKAMURA. Antimicrobial effects of chlorogenic acid and related compounds. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 2014, 57(3), 359–365. Prieiga per doi: 10.1007/s13765-014-4056-6
159. KAMMERER, J., J. BOSCHET, D.R. KAMMERER, R. CARLE. Enrichment and fractionation of major apple flavonoids, phenolic acids and dihydrochalcones using anion exchange resins. *LWT - Food Science and Technology*. 2011, 44 (4), 1079–1087. Prieiga per doi: 10.1016/j.lwt.2010.10.008
160. SIMANAVICIUTE, D., R. KLIMAVICIUTE, R. RUTKAITE. Equilibrium adsorption of caffeic, chlorogenic and rosmarinic acids on cationic cross-linked starch with quaternary ammonium groups. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017, 95, 788–795. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.12.006
161. HAMDAOUI, 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
162. ERAVUCHIRA, P.J., R.M. EL-ABASSY, S. DESHPANDE, M.F. MATEI, S. MISHRA, P. TANDON, N. KUHNERT, A. MATERNY. Raman spectroscopic characterization of different regioisomers of monoacyl and diacyl chlorogenic acid. *Vibrational Spectroscopy*. 2012, 61, 10–16. Prieiga per doi: 10.1016/j.vibspec.2012.02.009
163. BUCHHAMMER, H.M., G. PETZOLD, K. LUNKWITZ. Salt effect on formation and properties of interpolyelectrolyte complexes and their interactions with silica particles. *Langmuir*. 1999, 15(12), 4306–4310. Prieiga per doi: 10.1021/la980992a
164. SHAHIDI, F., NACZK M. *Food phenolics, sources, chemistry, effects, applications*. Lancaster, PA: Technomic Publishing Co. Inc, 1995.
165. SINGH, J.C.H., R.M. KAKALIJ, R.P. KSHIRSAGAR, B.H. KUMAR, S.S.B. KOMAKULA, P.V. DIWAN. Cognitive effects of vanillic acid against streptozotocin-induced neurodegeneration in mice. *Pharmaceutical Biology*. 2015, 53(5), 630–636. Prieiga per doi: 10.3109/13880209.2014.935866
166. SREEDHAR, R.V., K. ROOHIE, L. VENKATACHALAM, M.S. NARAYAN, N. BHAGYALAKSHMI. Specific pretreatments reduce curing period of vanilla (*Vanilla planifolia*) beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007, 55(8), 2947–2955. Prieiga per doi: 10.1021/jf063523k

167. KIM, S.J., M.C. KIM, J.Y. UM, S.H. HONG. The beneficial effect of vanillic acid on ulcerative colitis. *Molecules*. 2010, 15(10), 7208–7217. Prieiga per doi: 10.3390/molecules15107208
168. ZHENG, W., S.Y. WANG. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001, 49(11), 5165–5170. Prieiga per doi: 10.1021/jf010697n
169. NOUBIGH, A., M. ABDERRABBA. Solid–liquid phase equilibrium and thermodynamic properties of vanillic acid in different pure solvents. *Journal of Molecular Liquids*. 2016, 223, 261–266. Prieiga per doi: 10.1016/j.molliq.2016.07.004
170. DELAQUIS, P., K. STANICH, P. TOIVONEN. Effect of pH on the inhibition of *Listeria* spp. by vanillin and vanillic acid. *Journal of Food Protection*. 2005, 68(7), 1472–1476. Prieiga per doi: 10.4315/0362-028X-68.7.1472
171. VINOTHIYA, K., N. ASHOKKUMAR. Modulatory effect of vanillic acid on antioxidant status in high fat diet-induced changes in diabetic hypertensive rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017, 87, 640–652. Prieiga per doi: 10.1016/j.biopha.2016.12.134
172. KIM, M.C., S.J. KIM, D.S. KIM, Y.D. JEON, S.J. PARK, H.S. LEE, J.Y. UM, S.H. HONG. Vanillic acid inhibits inflammatory mediators by suppressing NF- $\kappa$ B in lipopolysaccharide-stimulated mouse peritoneal macrophages. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 2011, 33(3), 525–532. Prieiga per doi: 10.3109/08923973.2010.547500
173. OZKORUCUKLU, S. P., J. L. BELTRAN, G. FONRODONA, D. BARRON, G. ALSANCAK, J. BARBOSA. Determination of dissociation constants of some hydroxylated benzoic and cinnamic acids in water from mobility and spectroscopic data obtained by CE-DAD. *Journal of Chemical & Engineering Data*. 2009, 54(3), 807–811. Prieiga per doi: 10.1021/je800595x
174. NATELLA, F., M. NARDINI, M. DI FELICE, C. SCACCINI. Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants; structure-activity relation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999, 47(4), 1453–1459. Prieiga per doi: 10.1021/jf980737w
175. CHEN, J.H., C.T. HO. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1997, 45(7), 2374–2378. Prieiga per doi: 10.1021/jf970055t
176. DANAF, N.A., R.A. MELHEM, K.I. ASSAF, W.M. NAU. Photophysical properties of neutral and dissociated forms of rosmarinic acid. *Journal of Luminescence*. 2016, 175, 50–56. Prieiga per doi: 10.1016/j.jlumin.2016.02.011
177. XING, Y., H. PENG, M. ZHANG, X. LI, W. ZENG, X. YANG. Caffeic acid product from the highly copper-tolerant plant *Elshaltzia splendens* post-phytoremediation: its extraction, purification, and identification. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*. 2012, 13(6), 487–493. Prieiga per doi: 10.1631/jzus.B1100298
178. ŠWISŁOCKA, R. Spectroscopic (FT-IR, FT-Raman UV absorption,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR) and theoretical (in B3LYP/6-311++G\*\* level) studies on alkali metal salts of caffeic acid. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2013, 100, 21–30. Prieiga per doi: 10.1016/j.saa.2012.01.048
179. STEHFEST, K., M. BOESE, G. KERNS, A. PIRY, C. WILHELM. Fourier transform infrared spectroscopy as a new tool to determine rosmarinic acid in situ. *Journal of Plant Physiology*. 2004, 161(2), 151–156. Prieiga per doi: 10.1078/0176-1617-01099

180. BUNGHEZ, F., M.A. ROTAR, R.M. POP, F. ROMANCIUC, F. CSERNATONI, F. FETEA, Z. DIACONEASA, C. SOCACIU. Comparative phenolic fingerprint and LC-ESI + QTOF-MS composition of oregano and rosemary hydrophilic extracts in relation to their antibacterial effect. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*. 2015, 72(1), 33–40. Prieiga per doi: 10.15835/buasvmcn-fst:10996
181. MARIAPPAN, G., N. SUNDARAGANESAN, S. MONOHARAN. Experimental and theoretical spectroscopic studies of anticancer drug rosmarinic acid using HF and density functional theory. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2012, 97, 340–351. Prieiga per doi: 10.1016/j.saa.2012.06.011
182. WEI, F., M. TANOKURA. Chapter 17-Organic compounds in green coffee beans, in: *Coffee in Health and Disease Prevention*. Academic Press, 2015, pp. 149–162. Prieiga per doi: 10.1016/B978-0-12-409517-5.00017-6
183. ROBARDS, K. Strategies for determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetable. *Journal of chromatography A*. 2003, 1000(1/2), 657–691. prieiga per doi: 10.1016/S0021-9673(03)00058-X
184. CECCARELLI, N., M. CURADI, P. PICCIARELLI, L. MARTELLONI, C. SBRANA, M. GIOVANNETTI. Globe artichoke as functional food. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*. 2010, 3(3), 197–201. Prieiga per doi: 10.1007/s12349-010-0021-z
185. CLIFFORD, M.N. Chlorogenic acid – their complex nature and routine determination in coffee beans. *Food Chemistry*. 1979, 4(1), 63–71. Prieiga per doi: 10.1016/0308-8146(79)90031-1
186. NAIDU, M.M., G. SULOCHANAMMA, S.R. SAMPATHU, P. SRINIVAS. Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee. *Food Chemistry*. 2008, 107(1), 377–384. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodchem.2007.08.056
187. WANG, M., J.E. SIMON, I.F. AVILES, K. HE, Q.Y. ZHENG, Y. TADMOR. Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke (*Cynara scolymus L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, 51(3), 601–608. Prieiga per doi: 10.1021/jf020792b
188. DOS SANTOS, M.D., M.C. ALMEIDA, N.P. LOPES, G.E.P. DE SOUZA. Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the natural polyphenol chlorogenic acid. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2006, 29, 2236–2240. Prieiga per doi: 10.1248/bpb.29.2236
189. MCDougall, B., P.J. KING, B.W. WU, Z. HOSTOMSKY, M.G. REINECKE, W.E. ROBINSON. Dicafeoylquinic and dicafeoyltartaric acids were selective inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 integrase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1998, 42(1), 140–146.
190. ALONSO-SALCES, R.M., C. GUILLOU, L.A. BERRUETA. Liquid chromatography coupled with ultraviolet absorbance detection, electrospray ionization, collisioninduced dissociation and tandem mass spectrometry on a triple quadrupole for the on-line characterization of polyphenols and methylxanthines in green coffee beans. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2009, 23, 363–383. Prieiga per doi: 10.1002/rcm.3884
191. SIMANAVICIUTE, D., D. LIUDVINAVICIUTE, R. KLIMAVICIUTE, R. RUTKAITE. Cross-linked cationic starch derivatives for immobilization of chlorogenic acid. *European Polymer Journal*. 2017, 93, 833–842. Prieiga per doi: 10.1016/j.eurpolymj.2017.02.022

192. SANTOS, N.A., A.M.T.M. CORDEIRO , S.S. DAMASCENO, R.T. AGUIAR, R. ROSENHAIM, J.R.C. FILHO, I.M.G. SANTOS , A.S. MAIA, A.G. SOUZA. Commercial antioxidants and thermal stability evaluations. *Fuel*. 2012, 97, 638–643. Prieiga per doi: 10.1016/j.fuel.2012.01.074
193. KULIK, T.V., N.O. LIPKOVSKA, V.M. BARVINCHENKO, B.B. PAYANYTSYA, O.A. KAZAKOVA, O.O. DUDIK, A. MENYHÁRD, K. LÁSZLÓ. Thermal transformation of bioactive caffeic acid on fumed silica seen by UV–Vis spectroscopy, thermogravimetric analysis, temperature programmed desorption mass spectrometry and quantum chemical methods. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2016, 470, 132–141. Prieiga per doi: 10.1016/j.jcis.2016.02.039
194. PILLAI, C.K.S., W. PAUL, C.P. SHARMA. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science*. 2009, 34(7), 641–678. Prieiga per doi: 10.1016/j.progpolymsci.2009.04.001
195. SHUKLA, S.K., A.K. MISHRA, O.A. AROTIBA, B.B. MAMBA. Chitosan-based nanomaterials: A state-of-the-art review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2013, 59, 46–58. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.04.043
196. AIDER, M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *LWT-Food Science and Technology*. 2010, 43(6), 837–842. Prieiga per doi: 10.1016/j.lwt.2010.01.021
197. NGO, D.H., T.S. VO, D.N. NGO, K.H. KANG, J.Y. JE, H.N.D. PHAM, H.G. BYUN, S.K. KIM. Biological effects of chitosan and its derivatives. *Food Hydrocolloids*. 2015, 51, 200–216. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.05.023
198. RINAUDO, M. Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in Polymer Science*. 2006, 31(7), 603–632. Prieiga per doi: 10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001
199. SUH, J.K.F., H.W. MATTHEW. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: A review. *Biomaterials*. 2000, 21(24), 2589–2598. Prieiga per doi: 10.1016/S0142-9612(00)00126-5
200. VAKILI, M., M. RAFATULLAH, B. SALAMATINIA, A.Z. ABDULLAH, M.H. IBRAHIM, K.B. TAN, Z. GHOLAMI, P. AMOUZGAR. Application of chitosan and its derivatives as adsorbents for dye removal from water and wastewater: A review. *Carbohydrate Polymers*. 2014, 113, 115–130. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2014.07.007
201. MCCLEMENTS, D. J. Encapsulation, protection, and release of hydrophilic active components: Potential and limitations of colloidal delivery systems. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2015, 219, 27–53. Prieiga per doi: 10.1016/j.cis.2015.02.002
202. LI, Z., H. JIANG, C. XU, L. GU. A review: Using nanoparticles to enhance absorption and bioavailability of phenolic phytochemicals. *Food Hydrocolloids*. 2015, 43, 153–164. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodhyd.2014.05.010
203. LUO, Y., WANG Q. 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
204. SHAMOV, M.V., S.YU. BRATSKAYA, V.A. AVRAMENKO. Interaction of carboxylic acids with chitosan: effect of pK and hydrocarbon chain length. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2002, 249(2), 316–321. Prieiga per doi: 10.1006/jcis.2002.8248

205. LIU, J., H. PU, S. LIU, J. KAN, C. JIN. Synthesis, characterization, bioactivity and potential application of phenolic acid grafted chitosan: A review. *Carbohydrate Polymers*. 2017, 174, 999–1017. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2017.07.014
206. WEI, Z., Y. GAO. Evaluation of structural and functional properties of chitosan/chlorogenic acid complexes. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016, 86, 376–382. Prieiga per doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.01.084
207. VARMA, A. J., S. V. DESHPANDE, J. F. KENNEDY. Metal complexation by chitosan and its derivatives: a review. *Carbohydrate Polymers*. 2004, 55(1), 77–93. Prieiga per doi: 10.1016/j.carbpol.2003.08.005
208. KUMAR, M.N.R.V. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*. 2000, 46(1), 1–27. Prieiga per doi: 10.1016/S1381-5148(00)00038-9
209. SPAGNA, G., P.G. PIFFERI, C. RANGONI, F. MATTIVI, G. NICOLINI, R. PALMONARI. The stabilization of white wines by adsorption of phenolic compounds on chitin and chitosan. *Food Research International*. 1996, 29(3/4), 241–248. Prieiga per doi: 10.1016/0963-9969(96)00025-7
210. MORADI, M., H. TAJIK, S.M.R. ROHANI, A.R. OROMIEHIE, H. MALEKINEJAD, J. ALIAKBARLU, M. HADIAN. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. *LWT-Food Science and Technology*. 2012, 46(2), 477–484. Prieiga per doi: 10.1016/j.lwt.2011.11.020
211. WANG, L., Y. DONG, H. MEN, J. TONG, J. ZHOU. Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols. *Food Hydrocolloids*. 2013, 32(1), 35–41. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodhyd.2012.11.034
212. REGULATION (ES) No 432/2012 (16/05/2012). Prieiga per internetą: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/LT/ALL/?uri=CELEX%3A32012R0432>
213. WONG, Y.C., Y.S. SZETO, W.H. CHEUNG, G. MCKAY. Adsorption of acid dyes on chitosan – equilibrium isotherm analysis. *Process Biochemistry*. 2004, 39(6), 693–702. Prieiga per doi: 10.1016/S0032-9592(03)00152-3
214. TOAN, N.V., T.T. HANH. Application of chitosan solutions for rice production in Vietnam. *African Journal of Biotechnology*. 2013, 12(4), 382–384. Prieiga per doi: 10.5897/AJB12.2884
215. 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

## MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ DISERTACIJOS TEMA SĄRAŠAS

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

1. **Simanavičiūtė, Deimantė**; Klimavičiūtė, Rima; Rutkaitė, Ramunė. Equilibrium adsorption of caffeic, chlorogenic and rosmarinic acids on cationic cross-linked starch with quaternary ammonium groups // *International Journal of Biological Macromolecules*. Amsterdam: Elsevier. ISSN 0141-8130. 2017, vol. 95, p. 788-795. [IF(E): 3,671 (2016)]
2. **Simanavičiūtė, Deimantė**; Liudvinavičiūtė, Dovilė; Klimavičiūtė, Rima; Rutkaitė, Ramunė. Cross-linked cationic starch derivatives for immobilization of chlorogenic acid // *European Polymer Journal*. Oxford: Elsevier. ISSN 0014-3057. 2017, vol. 93, p. 833-842. [IF(E): 3,531 (2016)]

### **Kitų tarptautinių duomenų bazių leidiniuose paskelbti straipsniai**

1. **Simanavičiūtė, Deimantė**. Krakmolo cheminis ir fizikinis modifikavimas: apžvalga. Physical and chemical modification of the starch: a review // *Cheminių technologija*. Kaunas : KTU. ISSN 1392-1231. 2015, t. 66, Nr. 1, p. 45-54.

### **Kituose recenzuojamuose mokslo leidiniuose paskelbti straipsniai**

1. **Simanavičiūtė, Deimantė**; Vinciuonas, Ramūnas; Klimavičiūtė, Rima. Adsorption of methyl orange on cationic crosslinked starches with tertiary amino groups // *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.], 2015. ISBN 9786094594618. p. 332-334.

### **Konferencijų pranešimų medžiagoje paskelbtos tezės**

1. **Simanavičiūtė, Deimantė**; Klimavičiūtė, Rima; Rutkaitė, Ramunė. Adsorption of vanillic acid on cationic crosslinked starches // *Baltic Polymer Symposium 2015 : Sigulda, Latvia, September 16-18 : programme and proceedings / Riga Technical University Institute of Polymer Materials*. Riga : Riga Technical University Institute of Polymer Materials, 2015. ISBN 9789934542121. p. 112.
2. **Simanavičiūtė, Deimantė**; Liudvinavičiūtė, Dovilė; Klimavičiūtė, Rima; Rutkaitė, Ramunė. Cationic starch derivatives for immobilization of bioactive phenolic acids // *BiPoCo 2016 : 3rd international conference "Bio-Based Polymers and Composites, August 28 - September 1, 2016, Szeged, Hungary : abstract book*. [Budapest] : [BiPoCo]. 2016, p. 222-223.
3. **Simanavičiūtė, Deimantė**; Rutkaitė, Ramunė; Klimavičiūtė, Rima. Immobilization of phenolic acids from oregano extract on cationic starches // *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. 89.



4. **Simanavičiūtė, Deimantė**; Rutkaitė, Ramunė; Klimavičiūtė, Rima; Jakštas, Valdas; Ivanauskas, Liudas. Green coffee bean extract immobilization on cationic starches // *Frontiers in Polymer Science in association with the journal Polymer [elektroninis išteklius]* : 17-19 May, 2017, Seville, Spain / organised by Elsevier. [S.l.] : [s.n.]. 2017, p. 44.
5. **Simanavičiūtė, Deimantė**; Rutkaitė, Ramunė; Klimavičiūtė, Rima; Jakštas, Valdas; Ivanauskas, Liudas. Immobilization of artichoke extract on cross-linked cationic starches // *Chemistry and Chemical Technology 2017 : proceedings of the international conference, April 28th, 2017, Kaunas*. Kaunas : Kauno technologijos universitetas. ISSN 2538-7359. 2017, p. 52.
6. **Simanavičiūtė, Deimantė**; Rutkaitė, Ramunė; Klimavičiūtė, Rima; Jakštas, Valdas; Ivanauskas, Liudas. Investigation of interactions between chitosan and caffeoylquinic acid derivatives of artichoke extract // *Open Readings 2018: 61<sup>st</sup> international conference for students of physics and natural sciences, March 20-23, 2018, Vilnius, Lithuania : programme and abstracts*. [S.l.] : [s.n.]. 2018, p. 254.
7. 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 išteklius]*. [S.l.] : [s.n.]. 2017, p. 1.
8. **Simanavičiūtė, Deimantė**; Klimavičiūtė, Rima; Rutkaitė, Ramunė. Adsorption of chlorogenic acid on cationic crosslinked starch with quaternary amino groups // *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.], 2016. ISBN 9786099551135. p. 237.

## **KITOS PUBLIKACIJOS**

1. Navikaitė, Vesta; **Simanavičiūtė, Deimantė**; Klimavičiūtė, Rima; Jakštas, Valdas; Ivanauskas, Liudas. Interaction between  $\kappa$ - and  $\iota$ -carrageenan and anthocyanins from *Vaccinium myrtillus* // *Carbohydrate Polymers*. Oxford: Elsevier. ISSN 0144-8617. 2016, vol. 148, p. 36-44.

## PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju mokslinio darbo vadovei doc. dr. Ramunei Rutkaitei už disertacijos temos idėją, pagalbą rengiant disertaciją bei publikacijas ir rūpestį doktorantūros studijų metu. Dėkoju doc. dr. Rimai Klimavičiūtei už vertingas mokslines konsultacijas ir skatinimą tobulėti. Taip pat norėčiau padėkoti doc. dr. Joanai Bendoraitienei, dr. Vestai Navikaitei-Šnipaitienei, dr. Pauliui Pavelui 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 Tarptautinių mokslo renginių fondui už finansinę paramą.

Šilčiausius padėkos žodžius skiriu savo šeimai bei draugams.

Deimantė  
2018, Kaunas

# PRIEDAI

## Priedas Nr. 1 – Gamybinio išbandymo aktas Nr. 1

UAB „Švenčionių vaistažolės“

### GAMYBINIO IŠBANDYMO AKTAS NR. 1

#### Aktyvios vaistažolių talpyklos su žaliųjų kavos pupelių ekstrakto ir chitozano danga prototipo technologijos išbandymas

2018-03-19

#### 1. Pagrindimas

Šio gamybinio išbandymo pagrindimas yra LMT Mokslininkų grupių projekto MIP-055/2015 6 uždavinio uždutis: sukurti ir išbandyti aktyvių savybių pakuočių maisto produktams ir vaistažolėms prototipus.

#### 2. Įvadas

UAB “Panoden” pagrindinė veikla – plastikinių pakuočių gamyba. Įmonė, siekdama padidinti konkurencingumą, nuolat kurtia naujus produktus ir modernizuoja gamybos technologiją. Ypač svarbus įmonės artimiausio laikotarpio uždavinys yra produktų tobulinimas, siekiant suteikti vaistažolėms papildomas veikliąsias savybes. Vienas iš galimų inovacinių produktų – aktyvių savybių vaistažolių talpyklos, pasižyminčios veikliosiomis savybėmis ir praturtinančios vaistažolių arbatą aktyviomis gamtinėmis medžiagomis. Šiuo metu Lietuvoje nėra viena įmonė tokių talpyklų negamina.

#### 3. Tikslas

Gamybinio bandymo sąlygomis įvertinti žaliųjų kavos pupelių ekstrakto ir chitozano dangos ant vaistažolių pakavimo medžiagos formavimo galimybes ir įvertinti aktyvių savybių vaistažolių talpyklos veikliąsias savybes.

#### 4. Gamybinio bandymo atlikimas

Bandymai atlikti 2018 m kovo 19 d. UAB „Švenčionių vaistažolės“. Bandymuose dalyvavo gamybinių išbandymų aktą pasirašę UAB „Švenčionių vaistažolės“ (UAB „Acorus Calamus“), LSMU ir KTU atstovai.

Žaliųjų kavos pupelių ekstrakto ir chitozano danga naudojant plokščią sietinį šablona buvo padengta ant filtrinio popieriaus, skirto vaistažolėms pakuoti „Dynapore“ juostos, kuri naudota trijų rūšių vaistažolių (margainių vaisiams, Detosoxet vaistažolių mišiniui, sukatzolei) talpykloms pagaminti. Bandymų metu buvo suformuoti eksperimentiniai bandiniai su skirtingomis vaistažolėmis, pagaminta po 30 vnt. kiekvienos rūšies vaistažolių talpyklų.

#### Naudotos medžiagos:

Dangos kompozicijai paruošti naudotos medžiagos

Chitozanas (ChZ) (mažos molekulinės masės, milteliai, partijos nr. STB42613, gamintojas:

Sigma-Aldrich, Vokietija)

Žaliųjų kavos pupelių ekstraktas (ŽKPE) (sausas, milteliai, partijos nr. CAZD150725,

gamintojas: „ZD Biological“, Kinija)

Acto rūgštis (an. gr., gamintojas „Eurochemicals“)

Distiliuotas vanduo

#### Pakavimo medžiaga

Filtrinis popierius skirtas vaistažolėms pakuoti „Dynapore“ 121/2 (gamintojas: „Glatfelter“, Vokietija)

Pakavimo medžiagos charakteristikos pateiktos 1 lentelėje.

1 lentelė. Pakavimo medžiagos charakteristikos

Pakavimo medžiaga	nuo karščio susilydantis filtro popierius „Dynapore“ 121/2
Charakteristikos	Popieriaus tankis 21,5 g/m <sup>2</sup> ; baltos spalvos; filtro popierius yra rulonuose
Popieriaus plotis, mm	240
Rulono aprašymas	Rulono įvorės diametras 76 mm, didžiausias leidžiamas rulono išorinis diametras – 435 mm.
Sandėliavimo sąlygos	Sandėliuojama sausoje, švarioje, gerai vėdinamoje patalpoje. Filtro popieriaus rulonai turi būti sudėti ant padėklų ir apvynioti plėvele. Ant įpakavimo turi būti užklijuota etiketė, kurioje užrašomas serijos numeris, identifikacijos kodas, kiekis, data ir parašas.
Transportavimo sąlygos	Transportuojama dengtose, švariose transporto priemonėse, apsaugant nuo sudrėkimo, kvapų, mechaninių pažeidimų.

#### Vaistažolės

Margainių vaisiai („UAB „Švenčionių vaistažolės“, partijos nr. 1381710)

Detoxoset vaistažolių mišinys (UAB „Švenčionių vaistažolės“, partijos nr. 391710)

Sukatžolė (UAB „Švenčionių vaistažolės“, partijos nr. 1431610)

#### Analizei naudotos medžiagos

Acetonitrilas, metanolis, skruzdžių rūgštis, fosforo rūgštis ir standartai buvo naudoti chromatografinio grynumo klasės ir įsigyti iš Sigma-Aldrich GmbH. Analitiniams tikslams naudotas dejonizuotas išgrynintas vanduo buvo gaminamas laboratorijoje naudojant gryninimo sistemą Millipore Simplicity (Bilerika, JAV).

2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfono rūgšties (ABTS) reagentas (an. gr., gamintojas Sigma-Aldrich, Vokietija)

Kalio persulfatas (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) (an.gr., gamintojas „Penta“)

#### Įrenginiai ir prietaisai:

Dangos kompozicijos paruošimo ir savybių kiekybinių rodiklių įvertinimo prietaisai:

Drėgnomatis MRS 120-3 (KERN);

Magnetinė maišyklė IKA RO15;

Bendra laboratorijos įranga.

Chromatografinė įranga ir tyrimo sąlygos: Ypatingo efektyvumo skysčių chromatografiniai skirstymai buvo atliekami naudojant chromatografinę sistemą Acquity H-class UPLC system (Waters, JAV). Skirstymui buvo naudota kolonėlė Acquity BEH column (2,1×50mm, 1,7 μm). Gradientinei eliucijai buvo naudojami tokie judrios fazės komponentai: 0,1% skruzdžių rūgšties vandeninis tirpalas (tirpalas A) ir acetonitrilas (tirpalas B). Judrios fazės tekės greitis buvo 0,4 ml/min. Gradientinis judrios fazės komponentų sudėties kitimas buvo formuojamas sekančiomis proporcijomis: pradžioje – 2% tirpalo B, 0,5-2,0 min. – 15% tirpalo B, 4,0-5,5 min. – 50% tirpalo B, 5,5 min-6,5 min. 100% tirpalo B. Naudotas 1 μl injekcijos tūris. Eliuato šviesos absorbcinių savybių stebėjimas buvo vykdomas Acquity eLambda PDA detektoriumi. Kiekybiniam nustatymui naudotas išorinio standarto metodas.

Masių spektrometrinis detektorius Xevo TQD (Waters, USA) buvo naudojamas smalių tapatumo patvirtinimui. Naudotas neigiamas elektropurkštuvinės jonizacijos režimas. Kapiliaro įtampa buvo 1,5 kV, jonizacijos šaltinio temperatūra 150°C, išgarinimo temperatūra: 500°C, išgarinimo dujų srautas 1000l/h, kūgio dujų srautas: 25l/h.

Antioksidacinio efektyvumo įvertinimo sąlygos: Desorbcijos tirpalų, gautų naudojant talpyklas be aktyvios dangos ir talpyklas su aktyvia danga, antioksidacinės savybės įvertintos naudojant modifikuotą 2,2-azino-bis-3-etilbenziazolin-6-sulfono rūgšties radikalo (ABTS\*) metodą. 1 ml desorbcijos tirpalo užpilta 74 ml ABTS\* tirpalo, gauto sumaišius 7 mM ABTS reagento ir 2,45 mM K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> tirpalus santykiu 1:1. Gautas mišinys maišytas magnetine maišykle 7 min ir išmatuota 734 nm monochromatinio spindulio sugertis gautu mišiniu.

Antioksidacinis efektyvumas (AOEF) apskaičiuojamas pagal formulę:

$$AOEF = \frac{A_K - A_B}{A_K} \cdot 100 \%;$$

čia: A<sub>K</sub> – šviesos sugertis pradiniu ABTS\* tirpalu; A<sub>B</sub> – šviesos sugertis ABTS\* tirpalu su tiriamuoju bandiniu.

#### Gamybinė įranga

Vaistažolių pakavimo įrenginys MD20-KP1 (IMA S.p.A. R.I. TEAMAC Division, Italija)

Įrenginio darbiniai parametrai ir charakteristikos:

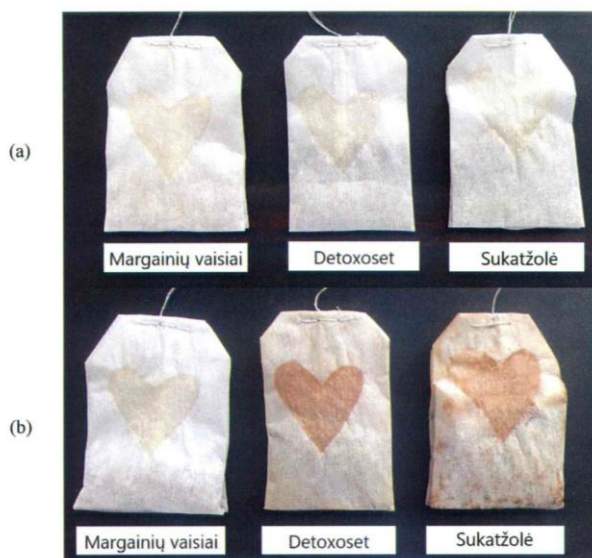
- Greitis: iki 200 maišelių/min;
- Maišelių tūris: daugiausiai 14,2 cm<sup>3</sup>;
- Galingumas; 12 kW;
- Suslėgtas oras: 250 NI/min (0,6 Mpa/6 barų).

#### **Gamybinio bandymo eiga**

Bandymai atlikti 2018 m. kovo 19 d. Bandymų pradžia - 11:00, pabaiga – 17:00.

Dangos kompozicija buvo paruošta gamybinėje laboratorijoje. Mažos molekulinės masės chitozano (ChZ) kompleksai su žaliųjų kavos pupelių ekstraktu (ŽKPE) gauti 1 g absoliučiai sausų ChZ miltelių užpilant 250 ml 1 g/l ŽKPE vandeniniu tirpalu ir 60 min maišant magnetine maišykle 20±1 °C temperatūroje. Po adsorbcijos, mišinys nufiltruotas naudojant stiklo filtrą, filtrate nustatyta likusi ŽKPE koncentracija, ir apskaičiuotas ChZ adsorbuotas ŽKPE kiekis. Gauti kompleksų milteliai praplauti distiliuotu vandeniu ir džiovinti kambario temperatūroje.

Aktyvios dangos (AD) formavimui paruoštas 5 % ChZ/ŽKPE tirpalas, turintis 0,1860 g/g adsorbuoto ŽKPE. Tuo tikslu atitinkamas kiekis absoliučiai sausų komplekso miltelių ištirpintas 1 % acto rūgšties vandeniniame tirpale. AD tirpalas užlietas ant filtro popieriaus „Dynapore“ 121/2 juostos (0,429 g/m<sup>2</sup>), naudojant plokščią sietinį šabloną. Filtro popieriaus juosta su AD išdžiovinta ir naudota trijų skirtingų rūšių vaistažolėms pakuoti. Į filtro popierių su AD buvo supakuota po 2 g margainių vaisių, Detoxoset ir sukatžolės arbatžolių (1 pav. a). Šios vaistažolių talpyklos užpildytos 150 ml verdančio vandens. Po 5 ir 10 min (1 pav. b) buvo paimta 5 ml desorbcijos tirpalo kokybinei ir kiekybinei kafeoilchino darinių sudėčiai ir bendram fenolinių junginių kiekiui nustatyti, bei 1 ml antioksidaciniam efektyvumui įvertinti. Analogiškas bandymas atliktas su vaistažolių talpyklomis be AD.



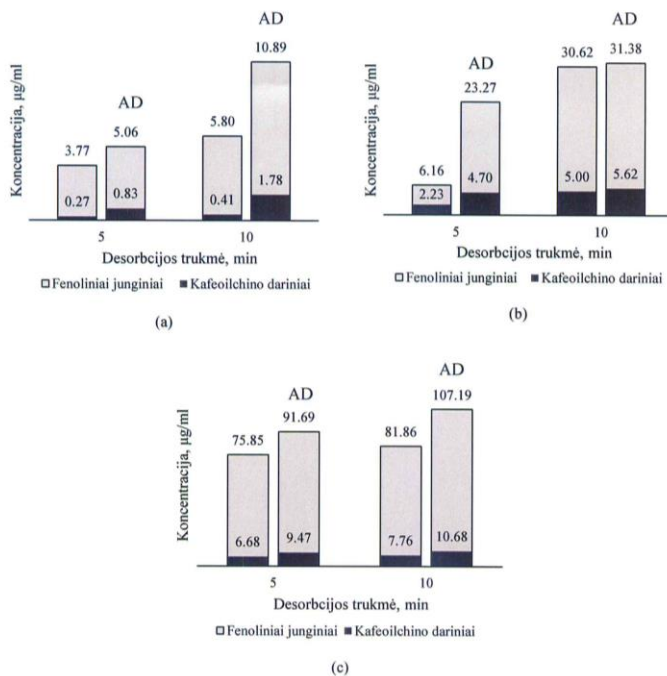
**1 pav.** Vaistažolių talpyklos su žaliųjų kavos pupelių ekstrakto ir chitozango danga (AD) prieš (a) ir po (b) desorbcijos eksperimento

Efektyviosios skysčių chromatografijos metodu įvertinta vaistažolių talpyklų (su AD ir be jos) desorbcijos tirpalų kiekybinė kafeoilchino darinių ir bendra fenolinių junginių koncentracija (2 pav.).

Nustatyta, kad vaistažolės patalpinus į talpyklas su AD, bendras fenolinių junginių kiekis per 5 min. atpalaiduotas iš margainių vaisių, Detoxoset ir sukatžolės vaistažolių atitinkamai padidėjo 25,5; 46,7 ir 17,3 %. Tuo tarpu kafeoilchino darinių kiekis per 5 min. atpalaiduotas iš margainių vaisių, Detoxoset ir sukatžolės vaistažolių atitinkamai padidėjo 67,5; 52,6 ir 29,5 %.

Vaistažolės patalpinus į talpyklas su AD, bendras fenolinių junginių kiekis per 10 min. atpalaiduotas iš margainių vaisių, Detoxoset ir sukatžolės vaistažolių atitinkamai padidėjo 46,7; 2,4 ir 23,6 %. Tuo tarpu iš margainių vaisių, Detoxoset ir sukatžolės vaistažolių atpalaiduotas kafeoilchino darinių kiekis per 10 min. atitinkamai padidėjo 76,9; 11,0 ir 27,3 %.

Efektyviosios skysčių chromatografijos metodu taip pat buvo nustatytos į desorbcijos tirpalą tyrimo metu atpalaiduotų pavienių kafeoilchino darinių: neochlorogeno, chlorogeno ir kriptochlorogeno rūgščių koncentracijos (žr. 2 lentelę). Daugeliu atvejų, kai vaistažolės buvo patalpinintos į talpyklas su aktyvia danga (AD), į desorbcijos tirpalą atpalaiduotų pavienių kafeoilchino darinių (neochlorogeno, chlorogeno ir kriptochlorogeno rūgščių) kiekiai žymiai padidėjo. Nustatyta, kad neochlorogeno rūgšties kiekis padidėjo nuo 1,5 iki 2,7 karto; chlorogeno rūgšties nuo 1,3 iki 5,6 karto, o kriptochlorogeno rūgšties nuo 1,5 iki 6,8 karto.

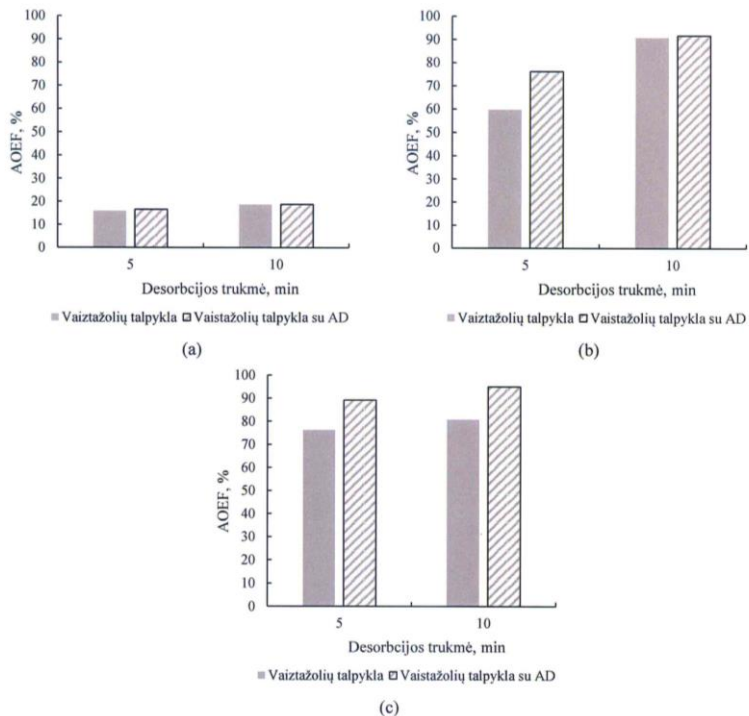


**2 pav.** Margainių vaisių (a), Detoxoset (b) ir sukatzolės (c) vaistažolių talpyklių (su AD ir be AD) desorbcijos tirpaluose esančių kafeoilchino darinių koncentracijos ir bendros fenolinių junginių koncentracijos priklausomybė nuo eksperimento trukmės

**2 lentelė.** Iš vaistažolių talpyklių (be AD ir su AD) su margainių vaisiais, Detoxoset ir sukatžolė į desorbcijos tirpalą atpaaiduotų neochlorogeno, chlorogeno ir kriptochlorogeno rūgščių koncentracijos

Vaistažolės	Desorbcijos trukmė, min	Įprasta vaistažolių talpykla				Vaistažolių talpykla su ŽKPE/ChZ danga			
		Neochlorogeno rūgštis, µg/ml	Chlorogeno rūgštis, µg/ml	Kriptochlorogeno rūgštis, µg/ml	Neochlorogeno rūgštis, µg/ml	Chlorogeno rūgštis, µg/ml	Kriptochlorogeno rūgštis, µg/ml	Chlorogeno rūgštis, µg/ml	Kriptochlorogeno rūgštis, µg/ml
Margainių vaisiai	5	0,15	0,07	0,04	0,33	0,23	0,27	0,23	0,27
	10	0,21	0,12	0,08	0,57	0,67	0,54	0,67	0,54
Detoxoset	5	0,29	1,62	0,32	0,73	3,12	0,84	3,12	0,84
	10	0,50	3,90	0,61	0,85	3,80	0,97	3,80	0,97
Sukatžolė	5	0,87	4,51	1,29	1,31	6,15	2,01	6,15	2,01
	10	0,98	5,29	1,50	1,45	7,00	2,23	7,00	2,23





**3 pav.** Margainių vaisių (a), Detoxoset (b) ir sukatžolės (c) vaistažolių talpyklų (su AD ir be AD) desorbcijos tirpalų antioksidacinio efektyvumo pokyčių priklausomybė nuo desorbcijos trukmės

Ištyrus vaistažolių talpyklų su AD desorbcijos tirpalų antioksidacinį efektyvumą, lyginant su vaistažolių talpyklų be AD rezultatais (3 pav.), daugeliu atvejų stebimas antioksidacinio efektyvumo padidėjimas. Didžiausias AOEf pokytis nustatytas sukatžolės atveju. Tuo tarpu margainių vaisių patalpinus į talpyklas su AD, antioksidacinis efektyvumas pakito nežymiai.

## 5. Išvados

1. Atlikti bandymai parodė, kad žaliųjų kavos pupelių ekstrakto ir chitozono danga gali būti kokybiškai suformuota ant filtro popieriaus, skirto vaistažolėms pakuoti.
2. Suformavus trijų rūšių vaistažolių (margainių vaisių, Detoxoset, sukatžolės) talpyklas su žaliųjų kavos pupelių ekstrakto ir chitozono danga, ištirta gautų vandeninių desorbcijos tirpalų kiekybinė sudėtis ir antioksidacinis efektyvumas:
  - 2.1 Lyginant desorbcijos tirpalus, gautus naudojant talpyklas be aktyvios dangos ir talpyklas su aktyvia danga, nustatyta, kad talpyklų su aktyvia danga atpalaiduotų bendrą fenolinių junginių ir pavienių kafeoilchino darinių kiekius žymiai padidėjo.
  - 2.2 Lyginant desorbcijos tirpalus, gautus naudojant talpyklas be aktyvios dangos ir talpyklas su aktyvia danga, nustatyta, kad daugeliu atvejų talpyklų su aktyvia danga desorbcijos tirpalai pasižymėjo didesniu antioksidaciniu efektyvumu.

UAB „Švenčionių vaistažolės“  
(UAB „Acorus Calamus“) atstovai:

KTU atstovai:

LSMU atstovai:

Direktorius  
E. Pocevičius



Vyresnioji mokslo darbuotoja  
dr. R. Rutkaitė



Doktorantė  
D. Simanavičiūtė



Prof. V. Jakštas



## Priedas Nr. 2 – Gamybinio išbandymo aktas Nr. 2

UAB „Švenčionių vaistažolės“

### GAMYBINIO IŠBANDYMO AKTAS NR. 2

**Aktyvios vaistažolių talpyklos su mėlynių uogų, žaliųjų kavos pupelių ekstraktų ir chitozono danga prototipo technologijos išbandymas**

2018-03-22

#### 1. Pagrindimas

Šio gamybinio išbandymo pagrindimas yra LMT Mokslininkų grupių projekto MIP-055/2015 6 uždavinio užduotis: sukurti ir išbandyti aktyvių savybių pakuočių maisto produktams ir vaistažolėms prototipus.

#### 2. Įvadas

UAB „Panoden“ pagrindinė veikla – plastikinių pakuočių gamyba. Įmonė, siekdama padidinti konkurencingumą, nuolat kurtia naujus produktus ir modernizuoja gamybos technologiją. Ypač svarbus įmonės artimiausio laikotarpio uždavinys yra produktų tobulinimas, siekiant suteikti vaistažolėms papildomas veikliąsias savybes. Vienas iš galimų inovacinių produktų – aktyvių savybių vaistažolių talpyklos, pasižyminčios veikliosiomis savybėmis ir praturtinančios vaistažolių arbatą aktyviomis gamtinėmis medžiagomis. Šiuo metu Lietuvoje nėra viena įmonė tokių talpyklų negamina.

#### 3. Tikslas

Gamybinio bandymo sąlygomis įvertinti mėlynių uogų, žaliųjų kavos pupelių ekstrakto ir chitozono dangos ant vaistažolių pakavimo medžiagos formavimo galimybes ir įvertinti aktyvių savybių vaistažolių talpyklos veikliąsias savybes.

#### 4. Gamybinio bandymo atlikimas

Bandymai atlikti 2018 m kovo 22 d. UAB „Švenčionių vaistažolės“. Bandymuose dalyvavo gamybinių išbandymų aktą pasirašę UAB „Švenčionių vaistažolės“ (UAB „Acorus Calamus“), LSMU ir KTU atstovai.

Mėlynių uogų, žaliųjų kavos pupelių ekstraktų ir chitozono dangą naudojant plokščią sietinį šabloną buvo padengta ant filtrinio popieriaus skirto vaistažolėms pakuoti „Dynapore“ juostos, kuri panaudota trijų rūšių vaistažolių (margainių vaisiams, Detoxoset vaistažolių mišiniui, sukatzolei) talpykloms pagaminti. Bandymų metu buvo suformuoti eksperimentiniai bandiniai su skirtingomis vaistažolėmis, pagaminta po 30 vnt. kiekvienos rūšies vaistažolių talpyklų.

#### Naudotos medžiagos:

##### Dangos kompozicijai paruošti naudotos medžiagos

Chitozanas (ChZ) (mažos molekulinės masės, milteliai, partijos nr. STB42613, gamintojas:

Sigma-Aldrich, Vokietija)

Žaliųjų kavos pupelių ekstraktas (ŽKPE) (sausas, milteliai, partijos nr. CAZD150725,

gamintojas: „ZD Biological“, Kinija)

Mėlynių uogų vandeninis ekstraktas (paruoštas naudojant šaldytas 2014 ir 2015 m. derliaus

mėlynių uogas (*Vaccinium myrtillus* L.) „Gardu“, fasuotas UAB „Vėtrija“, kilmės šalis

Baltarusija)

Acto rūgštis (an. gr., gamintojas „Eurochemicals“)  
Distiliuotas vanduo

Pakavimo medžiaga

Filtrinis popierius skirtas vaistažolėms pakuoti „Dynapore“ 121/2 (gamintojas: „Glatfelter“, Vokietija)

Pakavimo medžiagos charakteristikos pateiktos 1 lentelėje.

1 lentelė. Pakavimo medžiagos charakteristikos

Pakavimo medžiaga	nuo karščio susilydantis filtro popierius „Dynapore“ 121/2
Charakteristikos	Popieriaus tankis 21,5 g/m <sup>2</sup> ; baltos spalvos; filtro popierius yra rulonuose
Popieriaus plotis, mm	240
Rulono aprašymas	Rulono įvorės diametras 76 mm, didžiausias leidžiamas rulono išorinis diametras – 435 mm.
Sandėliavimo sąlygos	Sandėliuojama sausoje, švarioje, gerai vėdinamoje patalpoje. Filtro popieriaus rulonai turi būti sudėti ant padėklų ir apvynioti plėvele. Ant įpakavimo turi būti užklijuota etiketė, kurioje užrašomas serijos numeris, identifikacijos kodas, kiekis, data ir parašas.
Transportavimo sąlygos	Transportuojama dengtose, švariose transporto priemonėse, apsaugant nuo sudrėkimo, kvapų, mechaninių pažeidimų.

Vaistažolės

Margainių vaisiai („UAB „Švenčionių vaistažolės“, partijos nr. 1381710)

Detoxoset vaistažolių mišinys (UAB „Švenčionių vaistažolės“, partijos nr. 391710)

Sukatžolė (UAB „Švenčionių vaistažolės“, partijos nr. 1431610)

Analizei naudotos medžiagos

Acetonitrilas, metanolis, skruzdžių rūgštis, fosforo rūgštis ir standartai buvo naudoti chromatografinio grynumo klasės ir įsigyti iš Sigma-Aldrich GmbH. Analitiniams tikslams naudotas dejonizuotas išgrynintas vanduo buvo gaminamas laboratorijoje naudojant gryninimo sistemą Millipore Simplicity (Bilerika, JAV).

2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfono rūgšties (ABTS) reagentas (an. gr., gamintojas Sigma-Aldrich, Vokietija)

Kalio persulfatas (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) (an.gr., gamintojas „Penta“)

**Įrenginiai ir prietaisai:**

Dangos kompozicijos paruošimo ir savybių kiekybinių rodiklių įvertinimo prietaisai:

Drėgnomatis MRS 120-3 (KERN);

Magnetinė maišyklė IKA RO15;

Bendra laboratorijos įranga.

Chromatografinė įranga ir tyrimo sąlygos: Ypatingo efektyvumo skysčių chromatografiniai skirstymai buvo atliekami naudojant chromatografinę sistemą Acquity H-class UPLC system (Waters, JAV). Skirstymui buvo naudota kolonėlė Acquity BEH column (2,1×50mm, 1,7 μm). Gradientinei elucija buvo naudojami tokie judrios fazės komponentai: 0,1% skruzdžių rūgšties vadeninis tirpalas (tirpalas A) ir acetonitrilas (tirpalas B). Judrios fazės tekėmės greitis buvo 0,4 ml/min. Gradientinis judrios fazės komponentų sudėties kitimas buvo formuojamas sekančiomis proporcijomis: pradžioje – 2% tirpalo B, 0,5-2,0 min. – 15% tirpalo B, 4,0-5,5 min. – 50% tirpalo B, 5,5 min-6,5 min. 100% tirpalo B. Naudotas 1 μl injekcijos tūris.

Eliuato šviesos absorbcinių savybių stebėjimas buvo vykdomas Acquity eLambda PDA detektoriumi. Kiekybiniam nustatymui naudotas išorinio standarto metodas. Masių spektrometrinis detektorius Xevo TQD (Waters, USA) buvo naudojamas smailių tapatumo patvirtinimui. Naudotas neigiamas elektropurkštuvinės jonizacijos režimas. Kapiliaro įtampa buvo 1,5 kV, jonizacijos šaltinio temperatūra 150°C, išgarinimo temperatūra: 500°C, išgarinimo dujų srautas 1000 l/h, kūgio dujų srautas: 25l/h.

Antioksidacinio efektyvumo įvertinimo sąlygos: Desorbcijos tirpalų, gautų naudojant talpyklas be aktyvios dangos ir talpyklas su aktyvia danga, antioksidacinės savybės įvertintos naudojant modifikuotą 2,2-azino-bis-3-etilbenziazolin-6-sulfono rūgšties radikalo (ABTS\*) metodą. 1 ml desorbcijos tirpalo užpilta 74 ml ABTS\* tirpalo, gauto sumaišius 7 mM ABTS reagento ir 2,45 mM K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> tirpalus santykiu 1:1. Gautas mišinys maišytas magnetine maišykle 7 min ir išmatuota 734 nm monochromatinio spindulio sugertis gautu mišiniu.

Antioksidacinis efektyvumas (AOEF) apskaičiuojamas pagal formulę:

$$AOEF = \frac{A_R - A_B}{A_R} \cdot 100 \%$$

čia: A<sub>R</sub> – šviesos sugertis pradinio ABTS\* tirpalu; A<sub>B</sub> – šviesos sugertis ABTS\* tirpalu su tiriamuoju bandiniu.

#### Gamybinė įranga

Vaistažolių pakavimo įrenginys MD20-KP1 (IMA S.p.A. R.I. TEAMAC Division, Italija)

Įrenginio darbiniai parametrai ir charakteristikos:

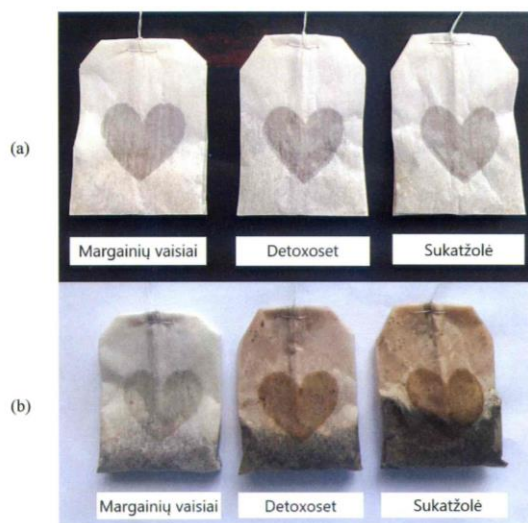
- Greitis: iki 200 maišelių/min;
- Maišelių tūris: daugiausiai 14,2 cm<sup>3</sup>;
- Galingumas: 12 kW;
- Suslėgtas oras: 250 NI/min (0,6 Mpa/6 barų).

#### **Gamybinio bandymo eiga**

Bandymai atlikti 2018 m. kovo 22 d. Bandymų pradžia - 12:00, pabaiga – 17:00.

Dangos kompozicija buvo paruošta gamybinėje laboratorijoje. Mažos molekulinės masės chitozono (ChZ) kompleksai su žaliųjų kavos pupelių ekstraktu (ŽKPE) gauti 1 g absoliučiai sausų ChZ miltelių užpilant 250 ml 1 g/l ŽKPE vandeniniu tirpalu ir 60 min maišant magnetine maišykle 20±1 °C temperatūroje. Po adsorbcijos, mišinys nufiltruotas naudojant stiklo filtrą, filtrate nustatyta likusi ŽKPE koncentracija, ir apskaičiuotas ChZ adsorbuotas ŽKPE kiekis. Gauti kompleksų milteliai praplauti distiliuotu vandeniu ir džiovinti kambario temperatūroje.

Aktyvios dangos (AD) formavimui paruoštas 6 % ChZ/ŽKPE tirpalas, turintis 0,1860 g/g adsorbuoto ŽKPE. Tuo tikslu atitinkamas kiekis absoliučiai sausų komplekso miltelių ištirpintas 1 % acto rūgtyje ir į tirpalą įpilta mėlynių uogų vandeninio ekstrakto, norint dangai suteikti spalvą ir/ar pagerinti veikliąsias savybes. AD tirpalas užlietas ant filtro popieriaus „Dynapore“ 121/2 juostos (1,611 g/m<sup>2</sup>), naudojant plokščią sietinį šablona. Filtro popieriaus juosta su AD išdžiovinta ir naudota trijų skirtingų rūšių vaistažolėms pakuoti. Į filtro popierių su AD buvo supakuota po 2 g margainių vaisių, Detoxoset ir sukatžolių žolės arbatžolių (1 pav. a). Tokios vaistažolių talpyklos užpildos 150 ml verdančio vandens. Po 5 ir 10 min (1 pav. b) buvo paimta 5 ml desorbcijos tirpalo kokybinei ir kiekybinei kafeoilchino darinių sudėčiai ir bendram fenolinių junginių kiekiui nustatyti, bei 1 ml antioksidaciniam efektyvumui įvertinti. Analogiškas bandymas atliktas su vaistažolių talpyklomis be AD.



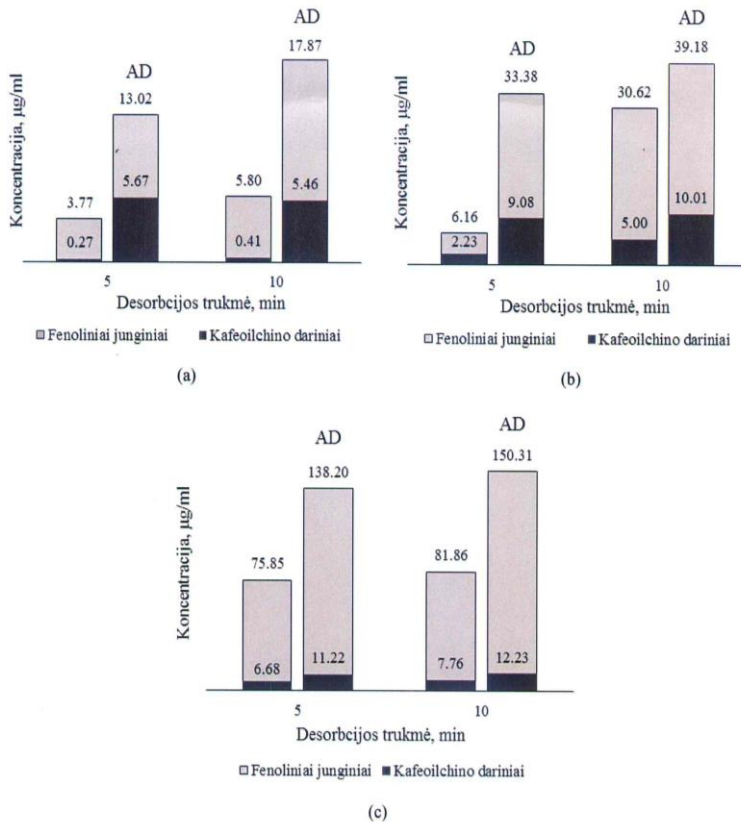
**1 pav.** Vaistažolių talpyklos su mėlynių ekstrakto, žaliųjų kavos pupelių ekstraktų ir chitozono danga (AD) prieš (a) ir po (b) desorbcijos eksperimento

Efektyviosios skysčių chromatografijos metodu įvertinta vaistažolių talpyklų (su AD ir be jos) desorbcijos tirpalų kiekybinė kafeoilchino darinių ir bendra fenolinių junginių koncentracija (2 pav.).

Nustatyta, kad vaistažolės patalpinus į talpyklas su AD, bendras fenolinių junginių kiekis per 5 min atpalaiduotas iš margainių vaisių, Detoxoset ir sukatžolės vaistažolių atitinkamai padidėjo 71,0; 81,5 ir 45,1 %. Tuo tarpu kafeoilchino darinių kiekis per 5 min atpalaiduotas iš margainių vaisių, Detoxoset ir sukatžolės vaistažolių atitinkamai padidėjo 95,2; 75,4 ir 40,5 %.

Vaistažolės patalpinus į talpyklas su AD, bendras fenolinių junginių kiekis per 10 min atpalaiduotas iš margainių vaisių, Detoxoset ir sukatžolės vaistažolių atitinkamai padidėjo 67,5; 21,8 ir 45,5 %. Tuo tarpu iš margainių vaisių, Detoxoset ir sukatžolės vaistažolių atpalaiduotas kafeoilchino darinių kiekis per 10 min atitinkamai padidėjo 92,5; 50,1 ir 36,5 %. Be to, naudojant AD formavimui mėlynių ekstraktą antocianinų desorbcijos tirpaluose nustatyta nebuvo.

Efektyviosios skysčių chromatografijos metodu taip pat buvo nustatytos į desorbcijos tirpalą tyrimo metu atpalaiduotų pavienių kafeoilchino darinių: neochlorogeno, chlorogeno ir kriptochlorogeno rūgščių koncentracijos (žr. 2 lentelę.). Daugeliu atvejų, kai vaistažolės buvo patalpinus į talpyklas su aktyvia danga (AD), į desorbcijos tirpalą atpalaiduotų pavienių kafeoilchino darinių (neochlorogeno, chlorogeno ir kriptochlorogeno rūgščių) kiekiai žymiai padidėjo. Nustatyta, kad neochlorogeno rūgšties kiekis padidėjo nuo 2,2 iki 8,1 karto; chlorogeno rūgšties – nuo 1,8 iki 47,1 karto, o kriptochlorogeno rūgšties nuo 2,4 iki 28,5 karto.

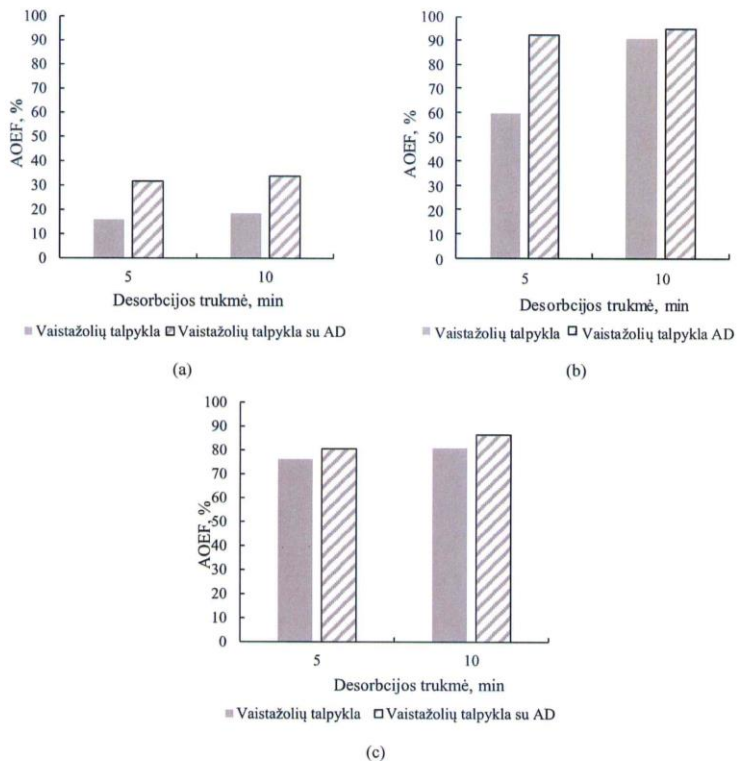


2 pav. Margainių vaisių (a), Detoxoset (b) ir sukatžolės (c) vaistažolių talpyklių (su AD ir be AD) desorbcijos tirpaluose esančių kafeoilchino darinių koncentracijos ir bendros fenolinių junginių koncentracijos priklausomybė nuo eksperimento trukmės

**2 lentelė.** Iš vaistažolių talpyklų (be AD ir su AD) su margainių vaisiais, Detoxoset ir sukatzolė į desorbcijos tirpalą atpalaiduotų neochlorogeno, chlorogeno ir kriptochlorogeno rūgščių koncentracijos

Arbatžolės	Desorbcijos trukmė, min	Įprasta vaistažolių talpykla			Vaistažolių talpykla su aktyvia danga		
		Neochlorogeno rūgštis, µg/ml	Chlorogeno rūgštis, µg/ml	Kriptochlorogeno rūgštis, µg/ml	Neochlorogeno rūgštis, µg/ml	Chlorogeno rūgštis, µg/ml	Kriptochlorogeno rūgštis, µg/ml
Margainių vaisiai	5	0,15	0,07	0,04	1,22	3,30	1,14
	10	0,21	0,12	0,08	1,34	3,85	1,28
Detoxoset	5	0,29	1,62	0,32	1,24	6,48	1,36
	10	0,50	3,90	0,61	1,48	7,04	1,49
Sukatzolės žolė	5	0,87	4,51	1,29	1,91	9,31	-
	10	0,98	5,29	1,50	2,13	10,10	-





**3 pav.** Margainių vaisių (a), Detoxoset (b) ir sukatžolės (c) vaistažolių talpyklų (su AD ir be AD) desorbcijos tirpalų antioksidacinio efektyvumo pokyčių priklausomybė nuo desorbcijos trukmės

Ištyrus vaistažolių talpyklų su AD desorbcijos tirpalų antioksidacinį efektyvumą, lyginant su vaistažolių talpyklų be AD rezultatais (3 pav.), daugeliu atvejų stebimas antioksidacinio efektyvumo padidėjimas. Didžiausias AOEF pokytis nustatytas margainių vaisių atveju. Tuo tarpu sukatžolę patalpinus į talpyklas su AD, antioksidacinis efektyvumas pakito ne taip žymiai.

## 5. Išvados

1. Atlikti bandymai parodė, kad mėlynių uogų, žaliųjų kavos pupelių ekstraktų ir chitozano danga gali būti kokybiškai suformuota ant filtrinio popieriaus, skirto vaistažolėms pakuoti.

2. Suformavus trijų rūšių vaistažolių (margainių vaisių, Detoxoset, sukatžolės) talpyklas su žaliųjų kavos pupelių ekstrakto ir chitozano danga, ištirta gautų vandeninių desorbcijos tirpalų kiekybinė sudėtis ir antioksidacinis efektyvumas:

2.1 Lyginant desorbcijos tirpalus, gautus naudojant talpyklas be aktyvios dangos ir talpyklas su aktyvia danga, nustatyta, kad talpyklų su aktyvia danga atpalaiduotų bendrų fenolinių junginių ir pavienių kafeoilchino darinių kiekis žymiai padidėjo. Antocianinų desorbcijos tirpaluose nustatyta nebuvo.

2.2 Lyginant desorbcijos tirpalus, gautus naudojant talpyklas be aktyvios dangos ir talpyklas su aktyvia danga, nustatyta, kad daugeliu atvejų talpyklų su aktyvia danga desorbcijos tirpalai pasižymėjo didesniu antioksidaciniu efektyvumu.

UAB „Švenčionių vaistažolės“  
(UAB „Acorus Calamus“) atstovai:

KTU atstovai:

LSMU atstovai:

Direktorius  
E. Pocevičius



Vyresnioji mokslo darbuotoja  
dr. R. Rutkaitė

Doktorantė  
D. Simanavičiūtė

Prof. V. Jakštas



SL344. 2018-10-26, 17,25 leidyb. apsk. I. Tiražas 12 egz. Užsakymas 297.  
Išleido Kauno technologijos universitetas, K. Donelaičio g. 73, 44249 Kaunas  
Spausdino leidyklos „Technologija“ spaustuvė, Studentų g. 54, 51424 Kaunas