



**Kauno technologijos universitetas**

Cheminės technologijos fakultetas

# **Eterinių aliejų imobilizavimas hidrofobiškai modifikuotame krakmole ir jų taikymas veikliosiose pakuotėse**

Baigiamasis magistro projektas

---

**Simona Sukackaitė**

Projekto autorė

**Lekt. dr. Vesta Navikaitė-Šnipaitienė**

Vadovė

---

**Kaunas, 2020**



**Kauno technologijos universitetas**

Cheminės technologijos fakultetas

# **Eterinių aliejų imobilizavimas hidrofobiškai modifikuotame krakmole ir jų taikymas veikliosiose pakuotėse**

Baigiamasis magistro projektas

Pramoninė biotechnologija (6211FX010)

---

**Simona Sukackaitė**

Projekto autorė

**Lekt. dr. Vesta Navikaitė-  
Šnipaitienė**

Vadovė

**Doc. dr. Ramunė Rutkaitė**

Recenzentė

---

**Kaunas, 2020**



**Kauno technologijos universitetas**

Cheminės technologijos fakultetas

Simona Sukackaitė

## **Eterinių aliejų imobilizavimas hidrofobiškai modifikuotame krakmole ir jų taikymas veikliosiose pakuotėse**

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad mano, Simonos Sukackaitės, baigiamasis projektas tema „Eterinių aliejų imobilizavimas hidrofobiškai modifikuotame krakmole ir jų taikymas veikliosiose pakuotėse“ yra parašytas visiškai savarankiškai ir visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

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

Simona Sukackaitė

---

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

---

(parašas)

Sukackaitė, Simona. „Eterinių aliejų imobilizavimas hidrofobiškai modifikuotame krakmole ir jų taikymas veikliosiose pakuotėse“. Magistro baigiamasis projektas / vadovė lekt. dr. Vesta Navikaitė-Šnipaitienė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): Biotechnologijos, Technologijų mokslai.

Reikšminiai žodžiai: veikliosios pakuotės; eteriniai aliejai; krakmolo oktenilsukcinatas; natūralūs antioksidantai.

Kaunas, 2020. 56 p.

### Santrauka

Šiame darbe buvo tiriamos eterinių aliejų, imobilizuotų hidrofobiškai modifikuotame krakmole, savybės bei jų taikymas veikliosiose pakuotėse. Tyrimo metu buvo naudoti eugenolio, cinamono bei čiobrelių eteriniai aliejai ir dviejų tipų komerciniai oktenilsukcino rūgšties anhidridu modifikuoti vaškinių kukurūzų krakmolai. Buvo paruoštos 5 % ir 20 % hidrofobiškai modifikuoto krakmolo ir 5, 10, 15 % eterinio aliejaus turinčios emulsijos bei tiriamos šių emulsijų savybės – pH, klampa, dalelių dydis, dzeta potencialas, stabilumas, antioksidacinės savybės. Taip pat iš gautų emulsijų buvo formuojamos veikliosios dangos, tiriamos hidrofobiškai modifikuotame krakmole purkštuvinio džiovinimo metodu įkapsuliuoto eugenolio savybės – antioksidacinis aktyvumas, atsipalaidavimas etanolyje. Purkštuvinio džiovinimo būdu gautiems eugenolio turintiems milteliams buvo atlikti Furje transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopijos ir skenuojamosios elektroninės mikroskopijos tyrimai.

Nustatyta, kad didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu ( $94,4 \pm 4,72$  %) pasižymėjo emulsija, savo sudėtyje turinti 15 % eugenolio ir 20 % hidrofobiškai modifikuoto krakmolo. Emulsijos, savo sudėtyje turinčios cinamono eterinio aliejaus, nepasižymėjo antioksidaciniu aktyvumu, todėl būtų netikslinga jas, kaip natūralius antioksidantus, naudoti veikliųjų pakuočių gamyboje. Analizuojant emulsijų dalelių dydžio rezultatus, buvo nustatyta, kad emulsijų dalelių dydis priklausė tiek nuo eterinio aliejaus rūšies, tiek nuo jo kiekio emulsijoje.

Veikliosios dangos buvo išlietos ant popieriaus. Priklausomai nuo hidrofobiškai modifikuoto krakmolo tipo, buvo gautos  $0,7 \text{ mg/cm}^2$  ir  $1,43 \text{ mg/cm}^2$  sausų emulsijos medžiagų turinčios dangos. Kadangi buvo nustatyta, jog didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymi hidrofobiškai modifikuoto krakmolo ir eterinių aliejų emulsijos, savo sudėtyje turinčios didžiausią eterinio aliejaus koncentraciją, dangų gamybai buvo naudotos emulsijos, turinčios 15 % eterinio aliejaus. Po 14 dienų išmatavus dangų antioksidacinį aktyvumą buvo nustatyta, jog didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo danga, savo sudėtyje turinti eugenolio (antioksidacinis aktyvumas iki  $90,11 \pm 4,5$  %), kiek mažesniu - čiobrelių eterinio aliejaus turinčios dangos (antioksidacinis aktyvumas iki  $40,07 \pm 2,0$  %). Cinamono eterinio aliejaus turinčios dangos antioksidaciniu aktyvumu nepasižymėjo.

Darbe nustatyta, jog purkštuvinio džiovinimo metodu hidrofobiškai modifikuotame krakmole imobilizuotas eugenolis nepraranda savo antioksidacinio aktyvumo ir gali būti atpalaiduotas etanolyje. Tyrimo metu nustatyta, jog per 60 minučių į etanolio terpę atpalaiduojama 35 % eugenolio nuo teoriškai galimo.

Sukackaitė, Simona. Immobilization of Essential Oils in Hydrophobically Modified Starch and their Application in Active Packaging. Master's Final Degree Project / supervisor lect. dr. Vesta Navikaitė-Šnipaitienė; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Study field and area (study field group): Biotechnology, Technological Sciences.

Keywords: active packaging; essential oil; starch octenylsuccinate; natural antioxidants.

Kaunas, 2020. 56 p.

### Summary

In this work, the properties of essential oils immobilized in hydrophobically modified starch and their application in active packaging were investigated. Eugenol, cinnamon, thyme essential oils and two types of commercial octenyl succinic anhydride-modified waxy corn starches were used in this study. Emulsions containing 5 % or 20 % of hydrophobically modified starch and 5, 10 or 15 % of essential oil were produced and the properties of these emulsions - pH, viscosity, particle size, zeta potential, stability, antioxidant properties - were investigated. The emulsions were poured on paper to form active coatings. The antioxidant activity and release in ethanol of eugenol, encapsulated in hydrophobically modified starch by spray-drying, were also investigated. Fourier transform infrared spectroscopy and scanning electron microscopy were also applied to eugenol encapsulated in hydrophobically modified starch.

The emulsion containing 15 % of eugenol and 20 % of hydrophobically modified starch was found to have the highest antioxidant activity ( $94,4 \pm 4,72$  %). Emulsions containing cinnamon essential oil did not have antioxidant activity, so it would not be significant to use these emulsions as natural antioxidants in the manufacture of active packaging. Analyzing the particle size results of the emulsions, it can be seen that the particle size of the emulsions depended on both - the type of essential oil and its amount in the emulsion.

The active coatings were made on paper. Depending on the type of hydrophobically modified starch,  $0.7 \text{ mg/cm}^2$  and  $1.43 \text{ mg/cm}^2$  coatings containing dry substances of emulsions were obtained. Since hydrophobically modified starch and essential oil emulsions with the highest concentration of essential oil were found to have the highest antioxidant activity, emulsions containing 15 % essential oil were used for the production of active coatings. It was found that the coating containing eugenol had the highest antioxidant activity ( $90,11 \pm 4,5$  %) after 14 days. The coating, which was prepared from an emulsion containing thyme essential oil, also had a relatively high antioxidant activity ( $40,07 \pm 2,0$  %). Coatings containing cinnamon essential oil did not have antioxidant activity.

It has also been found that eugenol, immobilized in hydrophobically modified starch by spray-drying, does not lose its antioxidant activity and can be released in ethanol. The study showed that 35 % of eugenol from the theoretical possible amount was released in ethanol medium over 60 minutes.

## Turinys

<b>Santrumpų ir terminų sąrašas .....</b>	<b>8</b>
<b>Įvadas.....</b>	<b>9</b>
<b>1. Literatūros apžvalga .....</b>	<b>10</b>
1.1. Eteriniai aliejai ir jų savybės .....	10
1.1.1. Eterinių aliejų antimikrobinės savybės.....	11
1.1.2. Eterinių aliejų antioksidacinės savybės .....	12
1.2. Eterinių aliejų imobilizavimo būdai .....	13
1.2.1. Homogenizacija .....	13
1.2.2. Purkštuvinis džiovinimas.....	14
1.3. Emulsijų tipai ir gavimas.....	15
1.3.1. Daugiasluoksnė emulsija .....	15
1.3.2. Gelinė emulsija.....	15
1.3.3. Sudėtinė emulsija.....	16
1.3.4. Kietomis dalelėmis stabilizuota emulsija .....	16
1.3.5. Savaimė susidarančios emulsijos .....	16
1.4. Emulsijų savybės ir stabilumas .....	16
1.4.1. Emulsijos dalelių dydis.....	16
1.4.2. Reologinės savybės .....	17
1.4.3. pH poveikis.....	17
1.5. Biopolimerų ir eterinių aliejų panaudojimas maisto pakuotėms .....	17
1.5.1. Eteriniai aliejai – inovatyvių maisto pakuočių dalis.....	19
1.6. Projekto temos ir uždavinių pagrindimas .....	19
<b>2. Medžiagos ir tyrimų metodai .....</b>	<b>20</b>
2.1. Naudotos medžiagos.....	20
2.2. Tyrimų metodai .....	21
2.2.1. Eterinių aliejų ir hidrofobiškai modifikuoto krakmolo emulsijų paruošimas .....	21
2.2.2. Emulsijų klampos nustatymas .....	22
2.2.3. Dalelių dydžio ir dzeta potencialo nustatymas .....	22
2.2.4. Antioksidacinių savybių tyrimai.....	23
2.2.5. Emulsijų stabilumo tyrimai .....	23
2.2.6. pH matavimai .....	24
2.2.7. Veikliųjų dangų gavimas ir tyrimai .....	24
2.2.8. Eugenolio imobilizavimas modifikuotame krakmole purkštuvinio džiovinimo būdu .....	24
2.2.9. Skenuojamoji elektroninė mikroskopija.....	26
2.2.10. Furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopija.....	27
2.2.11. Eugenolio atpalaidavimo ir antioksidacinių savybių tyrimai .....	28
2.2.12. Sausų medžiagų masės nustatymas .....	29
2.2.13. Rezultatų tikslumo ir patikimumo įvertinimas .....	29
2.2.14. Statistinė duomenų analizė .....	29
<b>3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.....</b>	<b>30</b>
3.1. Hidrofobiškai modifikuoto krakmolo ir eterinių aliejų emulsijų gavimas ir tyrimai .....	30
3.1.1. Hidrofobiškai modifikuoto krakmolo ir eterinių aliejų emulsijų charakteristikos .....	31
3.1.2. Hidrofobiškai modifikuoto krakmolo ir eterinių aliejų emulsijų stabilumo tyrimai .....	33
3.1.2.1. Emulsijų stabilumo įvertinimas pagal dalelių dydžio pokyčius.....	33

3.1.2.2. Emulsijų stabilumo įvertinimas pagal jų išsisluoksniavimą.....	37
3.1.3. Hidrofobiškai modifikuoto krakmolo ir eterinių aliejų emulsijų antioksidacinių savybių tyrimai.....	38
3.2. Eterinių aliejų turinčių veikliųjų dangų gavimas ir tyrimai.....	43
3.3. Eugenolio imobilizavimas hidrofobiškai modifikuotame purkštuvinio džiovinimo būdu ir tyrimai .....	44
3.3.1. Purkštuvinio džiovinimo būdu gautų OSA-CK-EU miltelių skenuojamoji elektroninė mikroskopija .....	44
3.3.2. Purkštuvinio džiovinimo būdu gautų OSA-CK-EU miltelių FT-IR tyrimai .....	45
3.3.3. Eugenolio atpalaidavimo iš OSA-CK-EU miltelių tyrimai.....	46
3.3.4. OSA-CK-EU miltelių antioksidacinių savybių tyrimai.....	47
<b>4. Rekomendacijų dalis .....</b>	<b>48</b>
<b>Išvados .....</b>	<b>50</b>
<b>Literatūros sąrašas .....</b>	<b>51</b>

## Santrumpų ir terminų sąrašas

### Santrumpos:

AE – antioksidacinis efektyvumas

CA – cinamono eterinis aliejus

CM – koloidiniai „malūnai“

ČI – čiobrelių eterinis aliejus

DPPH metodas - 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilo metodas

EA – eterinis aliejus

EU – eugenolis

FT-IR – Furje transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopija

HPH – aukšto slėgio vožtuvinis homogenizavimas

HPMC – hidroksipropilmetilceliuliozė

LDPE – mažo tankio polietilenas

OSA-CK – komercinio oktenilsukcino rūgšties anhidridu modifikuoto vaškinių kukurūzų krakmolo rūšis

OSA-EK – komercinio oktenilsukcino rūgšties anhidridu modifikuoto vaškinių kukurūzų krakmolo rūšis



## Įvadas

Šiomis dienomis vartotojai pradeda vis daugiau dėmesio kreipti į maisto pakuočių saugumą bei kaip ilgai produktas šiose pakuotėse gali išlikti šviežias, ar jos gali būti perdirbamos. Cheminės medžiagos, naudojamos maisto pakuotėms kaip konservantai, gali sukelti žalingų padarinių žmogaus sveikatai. Didžioji dauguma komercinių antioksidantų yra labai mažos molekulinės masės. Dėl šios priežasties jie lengvai migruoja iš vienos terpės į kitą, patenka į maistą. Tai gali sukelti organoleptinius pokyčius bei turėti įtakos toksiškumo atsiradimui [1].

Siekiant surasti naujus ir nekenksmingus vartotojams maisto konservantus, mokslininkai atlieka daugybę tyrimų [2]. Eteriniai aliejai pasižymi antioksidaciniu poveikiu ir yra natūralios kilmės bei pripažinti saugiais, naudojant juos sąlyčiui su maistu [3]. Tam, kad šie aliejai galėtų būti naudojami maisto pakuočių gamybai, svarbu ištirti jų panaudojimo galimybes. Tam, jog būtų išlaikytas eterinio aliejaus antioksidacinis aktyvumas bei natūralus „konservantas“ kuo ilgiau išliktų stabilus, yra atliekama eterinio aliejaus imobilizacija biopolimere – hidrofobiškai modifikuotame krakmole.

Nors daugybė mokslininkų tiria biopolimerų ir eterinių aliejų kompozicijų panaudojimą maisto pakuočių gamybai, ši sritis yra dar pakankamai nauja ir būtina optimizuoti tiek eterinio aliejaus imobilizavimo procesą, tiek pačių kompozicijų kūrimą, eterinio aliejaus ir biopolimero suderinamumą.

Vienas iš sudėtingiausių uždavinių kuriant natūralius priedus, naudojamus maisto pakuotėms, yra surasti tokį eterinio aliejaus ir biopolimero derinį, kuris pasižymėtų stabilumu ir išlaikytų savo antioksidacinį efektyvumą. Dėl šios priežasties pravartu ištirti keletą skirtingų eterinio aliejaus ir hidrofobiškai modifikuoto krakmolo emulsijų – taip galima įvertinti tiek polimero, tiek ir eterinio aliejaus tinkamumą natūralių konservantų kūrimui.

Šiame darbe čiobrelių, cinamono ir eugenolio eteriniai aliejai buvo imobilizuoti dviejuose skirtingais būdais hidrofobiškai modifikuotuose krakmoluose siekiant ištirti šių kompozicijų savybes ir įvertinti potencialias jų panaudojimo veikliųjų pakuočių kūrime, galimybes.

**Tyrimo tikslas** – imobilizuoti eterinius aliejus hidrofobiškai modifikuotame krakmole ir ištirti gautų kompozicijų savybes bei įvertinti jų pritaikymo galimybes veikliųjų pakuočių kūrime

### **Tyrimo uždaviniai:**

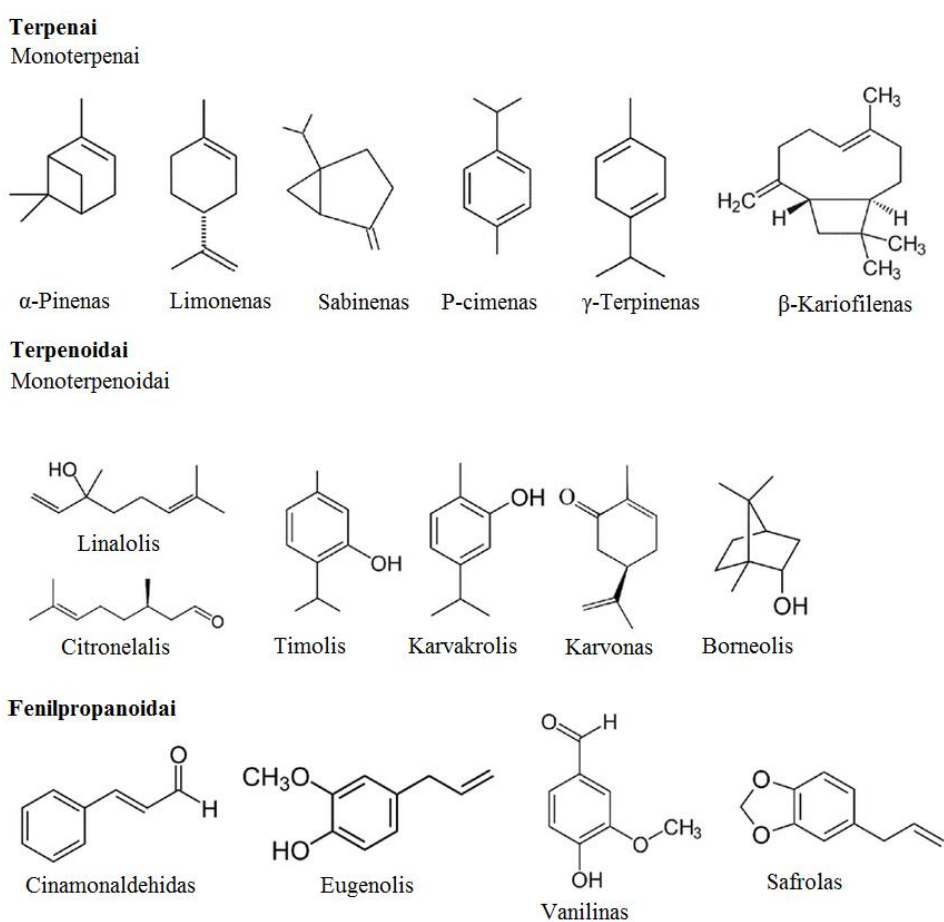
1. paruošti įvairios sudėties eterinių aliejų ir hidrofobiškai modifikuoto krakmolo turinčias emulsijas;
2. nustatyti eterinių aliejų ir hidrofobiškai modifikuoto krakmolo turinčių emulsijų bendrąsias charakteristikas;
3. ištirti eterinių aliejų ir hidrofobiškai modifikuoto krakmolo turinčių emulsijų stabilumą ir antioksidacines savybes;
4. paruošti eterinių aliejų turinčias veikliąsias dangas pakuotėms ir ištirti jų antioksidacinį aktyvumą;
5. parinkti optimalų eterinį aliejų, imobilizuoti jį hidrofobiškai modifikuotame krakmole purkštuvinio džiovinimo būdu ir ištirti gautos medžiagos savybes.

## 1. Literatūros apžvalga

### 1.1. Eteriniai aliejai ir jų savybės

Eteriniai aliejai – tai augalų išskiriami antriniai metabolitai. Tai yra aromatiniai aliejiniai skysčiai, sudaryti iš lipofilinių bei lakiųjų junginių ir išgaunami iš skirtingų augalų dalių (lapų, žievės, pumpurų, žiedų, sėklų). Eteriniai aliejai gali būti ekstrahuojami iš augalų dalių keliais būdais. Vienas iš populiariausių būdų – garų distiliacija. Šis metodas dažnai naudojamas - ypač komercinio masto gamyboje [4].

Eteriniai aliejai yra sudėtinis tiek polinių, tiek nepolinių natūralių junginių mišinys [5]. Paprastai, eterinių aliejų sudedamosios dalys yra terpenai, aromatiniai junginiai (aldehidai, alkoholiai, fenoliai, metoksi- dariniai) ir terpenoidai [6]. Pagrindiniai eterinių aliejų junginiai gali būti suskirstyti į tris pagrindines grupes: terpenus, terpenoidus (turinčius deguonies) ir fenilpropanoidus (žr. 1.1 pav.).



1.1 pav. Eterinius aliejus sudarančių junginių cheminė struktūra [7]

Terpenai – labiausiai paplitusi cheminių junginių klasė, esanti eteriniuose aliejuose. Diterpenai ( $C_{20}$ ), triterpenai ( $C_{30}$ ) ir tetraterpenai ( $C_{40}$ ) egzistuoja eteriniuose aliejuose labai mažomis koncentracijomis [8]. Eteriniuose aliejuose daugiausiai yra monoterpenų ( $C_{10}H_{16}$ ) ir seskviterpenų ( $C_{15}H_{24}$ ). Nors seskviterpenų molekulės yra didesnės, jų struktūra ir funkcinės savybės yra panašios į monoterpenų. Diterpenų, triterpenų bei tetraterpenų molekulinė masė yra didesnė nei monoterpenų bei seskviterpenų, tačiau eteriniuose aliejuose jų randama tik labai mažos koncentracijos [6]. Eterinių aliejų junginiai, turintys deguonies, vadinami terpenoidais (pvz., timolis, karvakrolis). O fenilpropanoidams priskiriami cinamonaldehidas, eugenolis, vanilinas ir kiti.

Apibendrinant galima teigti, jog - eteriniai aliejai yra įvairių cheminių junginių mišinys, susidarantis skirtingose augalo dalyse (priklausomai nuo augalo rūšies), pasižymintis savitu aromatu, antimikrobinėmis, antioksidacinėmis savybėmis bei naudojamas daugelyje sričių: medicinoje, maisto, kosmetikos ir parfumerijos pramonėje.

### 1.1.1. Eterinių aliejų antimikrobinės savybės

Nuo senovės iš augalų išgaunami eteriniai aliejai yra naudojami kaip natūralūs priedai maisto pramonėje. Veikliųjų komponentų aktyvumas skiriasi priklausomai nuo augalų šaltinio, cheminės sudėties, ekstrakcijos metodo ir kt.. Tačiau unikalus eterinių aliejų kvapas, susijęs su lakiaisiais komponentais, gali apriboti jų panaudojimą kai kuriuose maisto produktuose, nes gali pakeisti tipišką arba norimą išgauti maisto produkto kvapą.

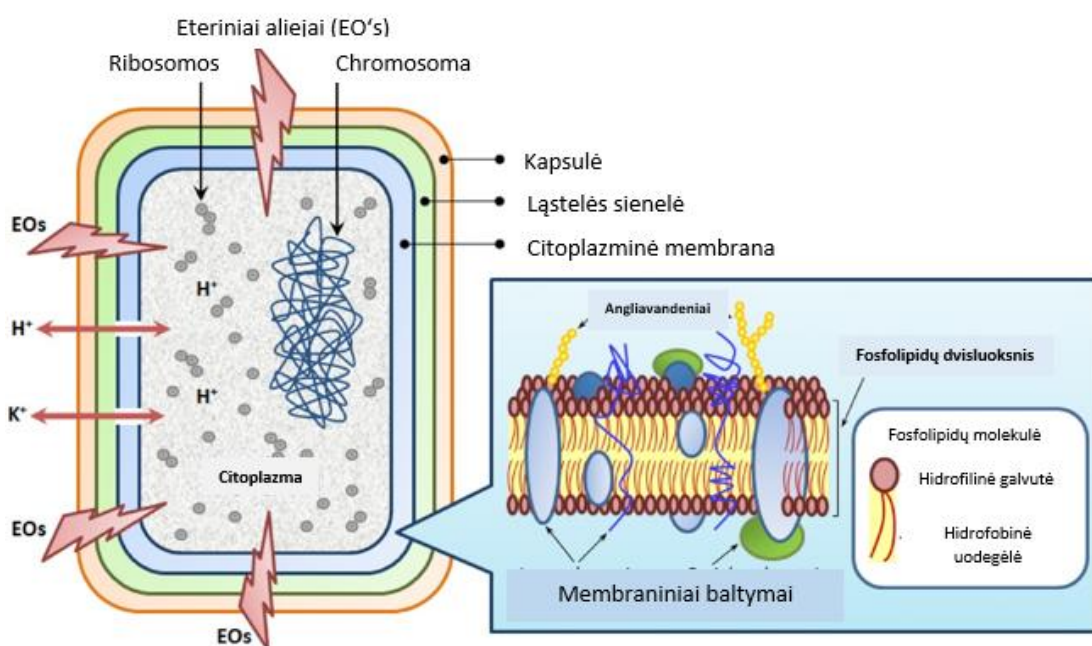
Žinoma, kad eteriniai aliejai turi antimikrobinėmis bei antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčių junginių, dėl ko jie naudojami kaip maisto produktų priedai [9]. Eteriniai aliejai taip pat gali būti naudojami kaip veikliosios medžiagos gaminant maisto pakuotes.

**1.1 lentelė.** Pagrindiniai eteriniai aliejai ir jų komponentai, naudojami maisto pakuočių tyrimams

Eterinis aliejus	Lotyniškas pavadinimas	Pagrindiniai komponentai	Sudėtis (%)	Literatūros šaltinis
Cinamono	<i>Cinnamomum zeylandicum</i>	Trans- cinamaldehydas Eugenolis	46–75 5–10	[10]
Raudonėlio	<i>Origanum vulgare</i>	Karvakrolis Timolis $\gamma$ -Terpinenas $\rho$ -Cimenas	0–80 0–64 2–52 0–52	[11]
Rozmarinų	<i>Rosmarinus officinalis</i>	$\alpha$ -Pinenas Bornilo acetatas Kamparas 1,8- Cineolis	2–25 0–17 2–14 3 – 89	[12]
Gvazdikėlių	<i>Syzygium aromaticum</i>	Eugenolis Eugenolo acetatas	75–85 8–15	[13]
Čiobrelių	<i>Thymus vulgaris</i>	Timolis Karvakrolis $\gamma$ -Terpinenas $\rho$ -Cimenas	10–64 2–30 2–31 10–56	[14]

Yra ištirta, jog eteriniai aliejai gali apsaugoti maisto produktus nuo patogeninių ar gedimą sukeliančių mikroorganizmų [15]. Iš keleto eterinių aliejų buvo išskirtas karvakrolis, kuris yra pagrindinis

raudonėlių (lot. *Origanum vulgare*) bei čiobrelėlių (lot. *Thymus vulgaris*) [16] eterinių aliejų komponentas. Karvakolis pasižymi dideliu antimikrobiniu efektyvumu prieš gram-teigiamas bei gram-neigiamas bakterijas [17]. Karvakolis ardo gram-neigiamų bakterijų išorinę membraną, taip atpalaiduodamas lipopolisacharidus ir padidindamas citoplazminės membranos pralaidumą ATP [18]. Karvakolis taip pat sąveikauja ir su gram-teigiamų bakterijų išorinėmis membranomis – keičia katjonų ( $H^+$ ;  $K^+$ ) membraninį pralaidumą [19]. Lipofiliniai lipoteichinių rūgščių galai gram-teigiamų bakterijų ląstelių membranose palengvina hidrofobinių eterinių aliejų junginių įsiskverbimą (1.2 pav.), todėl gram-teigiamoms bakterijoms pastebimas didesnis eterinių aliejų antimikrobinis poveikis, nei gram-neigiamoms [20]. Fenolinių junginių struktūroje esanti hidroksilo grupė suteikia antimikrobinį aktyvumą ir jo santykinė padėtis yra labai svarbi šių natūralių komponentų veiksmingumui [19].



1.2 pav. Eterinio aliejaus poveikio bakterijų ląstelei schema [19]

Rozmarino eterinis aliejus (*R. Officinalis*) neigiamai veikia tiek gram-teigiamas (*Staphylococcus aureus* ir *Bacillus subtilis*), tiek gram-neigiamas (*Escherichia coli* ir *Klebsiella pneumoniae*) bakterijas [21]. Pagrindinės rozmarinų eterinio aliejaus sudedamosios dalys yra monoterpėnai, tokie kaip  $\alpha$ -pinenas,  $\beta$ -pinenas, mircenas 1,8-cineolis, borneolis, kamparas ir verbenonas [22]. Šie komponentai stipriai pažeidžia bakterijų membranos vientisumą.

Buvo nustatyta, jog *E. Coli* bei *Salmonella typhimurium* toleravo morkų sėklų, greipfrutų, citrinų, svogūnų bei petražolių eterinius aliejus. Gram- neigiamų bakterijų atsparumas eteriniams aliejams gali būti siejamas su jų dvigubo sluoksnio ląstelių membranos sudėtingumu [23].

### 1.1.2. Eterinių aliejų antioksidacinės savybės

Keletas eterinius aliejus sudarančių junginių, tokių kaip eugenolis, timolis ar karvakolis pasižymi struktūra, labai panašia į antioksidacinių junginių – fenolių struktūrą. Fenoliai yra organiniai junginiai, turintys tiesiogiai prijungtą prie anglies atomo hidroksilo grupę. Hidroksilo grupės vandenilio atomas gali būti perduotas laisviems radikalams, taip užkertant kelią kitų junginių oksidacijai [24]. Fenolinių junginių antioksidacinis efektyvumas labiausiai priklauso nuo jų gebėjimo

veikti kaip vandenilio donoru, redukuojančiu agentu ir metalo chelatoriumi. Antioksidantų aktyvumas taip pat priklauso nuo eterinių aliejų šaltinio [25].

Eteriniai aliejai turi keletą antioksidacinio veikimo būdų, pvz., grandinės inicijavimo prevencija, laisvųjų radikalų šalinimo priemonės, redukuojančios medžiagos, tolesnės vandenilio gavybos prevencija, reaktyvios formos deguonies susidarymo stabdymas ir pereinamojo metalo jonų katalizatorių surišimas [26]. Remiantis tuo, eteriniai aliejai gali būti naudojami kaip natūralūs antioksidantai siekiant išvengti lipidų oksidacijos maisto sistemose.

Eugenolis, fenilpropanoidas, yra šviesiai geltonos spalvos aliejus, turintis aštrų aromatą, kurio molekulinė masė yra 164,2 g / mol. Šis aliejus yra tirpus organiniuose tirpikliuose ir specialiai išgaunamas iš gvazdikėlių aliejaus, muskato riešuto, cinamono, baziliko ir lauro lapų. Eugenolis pagerina įvairių vaistų įsiskverbimą į odą. Jis taip pat naudojamas žemės ūkyje, siekiant apsaugoti maisto produktus nuo mikroorganizmų, tokių kaip *Listeria monocytogenes* ir *Lactobacillus*. Eksperimentiniais duomenimis buvo patvirtinta, jog eugenolis pasižymi antioksidaciniu veikimu ir laisvųjų radikalų šalinimu [27]. Izoegenolis stabdo geležies ir deguonies chelatų, kurie skatina lipidų peroksidaciją, susidarymą [28].

Eugenolis pasižymi ne tik antioksidaciniu, bet ir antimikrobiniu veikimu. Tyrimais įrodyta, jog eugenolis gali būti naudojamas kaip maisto priedas, nes slopina bakterijų augimą ir kai kurių bakterijų (pvz. *S. aureus*) egzotoksinų gamybą [29].

## **1.2. Eterinių aliejų imobilizavimo būdai**

### **1.2.1. Homogenizacija**

Vieni plačiausiai naudojamų metodų, skirtų nanoemulsijoms gauti, yra paremti mechaninių įtaisų, sukuriančių stiprias ardančias jėgas, veikimu. Yra keletas žinomų emulsijų homogenizavimo metodų – aukšto slėgio vožtuviniai homogenizatoriai (HPH), ultragarsiniai homogenizatoriai (USH), aukšto slėgio mikrofluidiniai homogenizatoriai (MFH). Greito maišymo emulsifikatoriai veikia pagal panašius principus, tačiau jie dažniausiai nėra tinkami naudoti kaip vieninteliai nanoemulsijų kūrimo prietaisai. Naudojant vien šiuos maišytuvus emulsijos lašeliai dažniausiai nepasiekia tinkamos nanodimensijos. Svarbus aspektas, į kurį reikėtų atsižvelgti naudojant anksčiau minėtus metodus yra tai, jog didelis kiekis energijos proceso metu yra paverčiamas šiluma. Tai turi įtakos emulsijos temperatūrai – ji proceso metu kyla. Siekiant to išvengti, dažnai taikant tokius procesus kaip homogenizacija, kartu naudojama ir aušinimo sistema [30].

Aukšto slėgio vožtuvinis homogenizavimas (HPH) yra vienas iš plačiausiai naudojamų nanoemulsifikavimo metodų laboratorijose ir pramonėje. Tai labai universalus metodas, tačiau jis taip pat turi keletą trūkumų: emulsijos ruošimo metu sunaudojami labai dideli energijos kiekiai bei galimas emulsijos temperatūros padidėjimas. HPH prietaisų veikimo principas – stūmoklinis siurblys makroemulsiją stumia per siaurą vožtuvą, esantį pasroviui. Dėl emulsijos praėjimo per vožtuvą intensyvi turbulencija ir hidraulinės jėgos suskaldo makroemulsijos lašelius. Ši procedūra kartojama tol, kol gaunama nanoemulsija. Taikant tokį metodą yra trys pagrindiniai kintamieji, kuriuos galima optimizuoti: veikiantis slėgis, perėjimų per vožtuvą skaičius bei sistemos temperatūra. Maksimalus darbinis HPH slėgis yra apie 350–400 MPa. Yprastas HPH slėgis – apie 50–100 Mpa. Paprastai dėl didelio slėgio susidaro mažesni lašeliai [31].

Ultragarsiniai homogenizatoriai taip pat yra labai veiksmingi kuriant nanoemulsijas. Naudojant šiuos homogenizavimo prietaisus pramonėje neretai iškyla problemų dėl jų projektavimo. Tačiau naudojant

šiuos prietaisus laboratorijoje, galima pastebėti daug privalumų, tokių kaip: nesudėtingas veikimo mechanizmas, mažos išlaidos, puikus energijos vartojimo efektyvumas. Optimizavus visas sąlygas ultragarsiniu homogenizatoriumi galima gauti itin stabilias emulsijas. Taip pat proceso metu sunaudojamas minimalus emulgatorių kiekis, bei išlieka labai maža mikrobinio užteršimo rizika perdurbant [32]. Kalbant apie proceso trūkumus, verta paminėti, jog naudojant ultragarsą gali vykti kavitacijos sukelti skilimo procesai, kurie gali turėti neigiamos įtakos labiliems junginiams [33]. Taip pat dėl ultragarso zondo sukurtos kavitacijos padidėja metalo jonų išsiskyrimo į emulsiją rizika [34].

USH įrenginiuose naudojamas ultragarsinis zondas panardinamas į anksčiau paruoštą makroemulsiją. Zondas emulsijoje sukuria intensyvius mechaninius virpesius. Šie ultragarsiniai mechaniniai virpesiai gali būti generuojami mechaniškai arba elektra ir sukelia akustinę kavitacijos poveikį – tai nulemia mikroburbulų susidarymą ir sproginimą šalia ultragarso zondo. Taip sukuriama didelės šlyties jėgos ir turbulencija. Šis reiškinys lemia nanoemulsijos susidarymą. Svarbiausi proceso parametrai yra ultragarso bangų dažnis / amplitudė, galia bei proceso laikas. Taip pat didelę įtaką procesui turi tokie kintamieji kaip: ištirpusių dujų koncentracija, hidrostatinis slėgis, temperatūra bei aparatų konfigūracija [32].

Aukšto slėgio mikrofluidiniai homogenizatoriai (MFH) – iš esmės labai panašūs į HPH homogenizatorius. Jie abu naudoja aukšto slėgio siurbli, paprastai esant iki 30 °C temperatūrai ir iki 120 MPa slėgiui. Tačiau MFH aparato struktūra smarkiai skiriasi. Anksčiau susidariusi rupi emulsija yra pumpuojama per sąveikos kamerą, susidedančią iš dviejų srauto kanalų, vadinamų mikrokanalais, kurie išdėstyti taip, jog du srautai dideliu greičiu veiktų vienas kitą [35]. Susidariusios šlyties jėgos sukuria greitą emulsijos dalelių suskaidymą. Procedūra kartojama tol, kol pasiekama reikiama emulsijos dimensija.

Koloidiniai „malūnai“ (CM) – mechanizmas, naudojamas kietų suspensijų, esančių skystoje terpėje, dalelėms sumažinti emulsinimo procesuose. Didelio greičio rotorius, besisukantis iki 18000 aps/min. greičiu, sukelia stiprią hidraulinę šlyties jėgą, kuri ardo išsklaidytą fazę. Didesnės šlyties jėgos paprastai nulemia mažesnių emulsijos lašelių susidarymą, iki 1 mikrometro [36]. CM suskaidyti lašeliai retai pasiekia nanoskalę, todėl šis metodas laikomas „grubios“ emulsifikacijos priemone, lyginant su kitais nanoemulsifikacijos metodais.

### **1.2.2. Purkštuvinis džiovinimas**

Purkštuvinis džiovinimas – tai vienas iš plačiausiai maisto pramonėje naudojamų įkapsuliavimo būdų. Šis metodas leidžia pašalinti drėgmę, bei sumažinti vandens aktyvumą. Taip pat šiuo metodu yra užtikrinamas produktų mikrobiologinis stabilumas, galima išvengti cheminio bei biologinio skilimo pavojaus, sumažinamos produkto laikymo bei transportavimo išlaidos. Visada yra galimybė prireikus akimirksniu ištirpinti produktą [37].

Eterinių aliejų mikrokapsulę naudojant purkštuvinį džiovinimą galima sukurti trimis pagrindiniais etapais. Pasirinkus mikrokapsulės „sienelių“ medžiagų rūšis, kurios bus naudojamos eterinio aliejaus apsaugai, pirmasis žingsnis – šios medžiagos dispersija tinkamame tirpiklyje [38]. Taigi, turi būti žinomas mikrokapsulės apvalkalo bei šerdies medžiagų tirpumas. Dėl hidrofobinių eterinio aliejaus savybių, eterinio aliejaus mikrokapsulės sienelėms naudojama hidrofilinės medžiagos.

Antrame purkštuvinio džiovinimo etape į „sieninės“ medžiagos dispersiją turi būti pridedama šerdinės medžiagos (eterinio aliejaus) tam, kad greitai maišant susidarytų šiurkšti dispersija arba emulsija [39]. Pagrindinę „šerdinę“ medžiagą galima tiesiogiai arba po ištirpinimo tinkamame tirpiklyje įpilti į apsauginės medžiagos dispersiją. Prieš tai eterinis aliejus yra tirpinamas, taip sumažėja jo klampumas ir eterinis aliejus lengviau dengiasi ant mikrokapsulės sienelių.

Trečiajame etape paruošta dispersija įsiurbiamą į purkštuvinės džiovyklės džiovinimo kamerą. Eterinių aliejų įkapsuliacijos purkštuvinio džiovinimo metu paprastai naudojamas oro srovės srautas ir gaunamos apvalios sferinės dalelės [38]. Dažniausiai naudojamos dujos – oras, arba kiek rečiau – inertinės dujos, pavyzdžiui azotas.

Labai svarbus veiksnys, turintis įtakos mikrokapsulių, gautų naudojant purkštuvinę džiovyklę susidarymui ir efektyvumui, yra naudojamos emulsijos stabilumas [40]. Kitas svarbus dalykas yra mikrokapsulės sienelių medžiagos pasirinkimas. Šios medžiagos turi užkirsti kelią mikrokapsulės pokyčiams dėl oksidacijos, cheminių medžiagų ar lakiųjų junginių ir maksimaliai padidinti eterinio aliejaus sulaikymą po džiovinimo [41].

Šiuo metu purkštuvinio džiovinimo metodas intensyviai nagrinėjamas tyrėjų dėl jo privalumų: mažų gamybos sąnaudų, galimos didelio masto gamybos nepertraukiamu režimu, didelės galimų kapsulinių matricių įvairovės, gero lakiųjų medžiagų sulaikymo bei gero kapsulių stabilumo [42].

### **1.3. Emulsijų tipai ir gavimas**

Emulsijos susidarymui reikalingi trys pagrindiniai komponentai – aliejus, vanduo, bei tinkamas emulsiklis, kuris gali būti mažos molekulinės masės paviršinio aktyvumo medžiaga, baltymas, peptidas arba lipidas [43]. Emulsija retai susidaro savaime, tam reikalinga energija, kurią panaudojus galima emulsinti šių trijų komponentų derinį.

#### **1.3.1. Daugiasluoksnė emulsija**

Daugiasluoksnė emulsija yra emulsija, kurioje lašeliai yra apsupti dviem ar daugiau sluoksnių. Paprastai tokia emulsija paruošiama naudojant „sluoksnis po sluoksnio“ metodą (LBL). LBL technika paprastai susideda iš dviejų sluoksnio adsorbcijos pakopų: pakrautas emulsiklis pirmiausia nusėda ant lašelių paviršiaus. Tada prieš tai adsorbuotas sluoksnis traukia priešingai įkrautą emulsiklį ar polimerą. Kadangi daugiasluoksnę sąsają labiausiai formuoja elektrostatinės jėgos, įrodyta, kad būdai, galintys modifikuoti šias jėgas, pavyzdžiui, pH reguliavimas, joninio stiprio modifikavimas, keičia paviršinio sluoksnio struktūras (pvz., sluoksnio storis, kompaktiškumas, krūvio tankis) [44].

Daugiasluoksnės emulsijos, lyginant su kitų tipų emulsijomis, pasižymi geresniu stabilumu keičiantis pH vertėms, temperatūrai, išorinių jonų poveikiui [44]. Šios emulsijos taip pat efektyviau saugo maistines medžiagas nuo skilimo ir gerina maistinių medžiagų adsorbciją. Daugiasluoksnės emulsijos gali būti suprojektuotos taip, kad skirtingai reaguotų į aplinkos veiksnius ir tokiu būdu sukuriama galimybė efektyviai kontroliuoti į emulsiją įterptų aktyviųjų junginių tiekimą [44, 45].

#### **1.3.2. Gelinė emulsija**

Gelinėje emulsijoje aliejaus lašeliai yra įsiterpę gelio dalelėse, kurios veikia kaip barjeras, lėtinantis įterptų aktyviųjų junginių perdavimą ir difuziją. Gelinę emulsijų paruošimas įprastai apima du etapus: pirmuoju etapu emulsija gaunama homogenizuojant; antra – emulsija sumaišoma su

biopolimero tirpalu, kuris gelėja reguliuojant pH, druskos koncentraciją, temperatūrą, pridėdant fermento ar veikiant mechaninėmis jėgomis [46]. Kadangi lipofiliniai komponentai yra izoliuojami nuo išorinės aplinkos, jie paprastai pasižymi geresniu cheminiu stabilumu. Įmanoma gauti gelio struktūras, pritaikytas skirtingai reaguojant į aplinkos poveikius kontroliuoti aktyvių ingredientų išsiskyrimą.

### **1.3.3. Sudėtinė emulsija**

Sudėtinės emulsijos dispersinės fazės lašeliuose yra dar mažesnių dispersinių lašelių, pavyzdžiui vanduo – aliejus - vandenyje arba aliejus – vanduo - aliejuje emulsijos. Sudėtinė emulsija turi skirtingus sluoksnius, esančius tiek aliejaus - vandens, tiek vandens - aliejaus sąsajoje. Sudėtinės emulsijos paprastai paruošiamos naudojant dviejų pakopų homogenizacijos metodą: pirmiausia paruošiama vidinė emulsija, kuri vėliau išskiriama į išorinę vandens arba aliejaus fazę [47].

Sudėtinėje emulsijoje yra dvi vandens (arba aliejaus) sferos, kurios prailgina junginių, įterptų į vidinę dispersinę fazę, difuzijos trukmę. Dėl to sumažėja aktyviosios medžiagos išsiskyrimo greitis ir padidėja jos efektyvumas. Be to, tampa įmanoma efektyviai kontroliuoti hidrofilinių bei lipofilinių junginių išsiskyrimą vienoje sistemoje.

### **1.3.4. Kietomis dalelėmis stabilizuota emulsija**

Paprastai kietomis dalelėmis stabilizuotų emulsijų fizikinės ir cheminės savybės yra panašios kaip įprastų emulsijų, tačiau šių emulsijų sąsaja yra mechaniškai stipresnė [48]. Tai padeda apsaugoti emulsijos lašelius nuo susilieimo. Gaminant šias emulsijas yra plačiai naudojami įvairūs silicio dioksido tipai, taip pat, maisto pramonėje yra naudojami celiuliozės nanokristalai, chitino nanokristalai bei krakmolo dalelės [49].

Kadangi kietomis dalelėmis stabilizuotos emulsijos pasižymi itin geru fiziniu stabilumu, jos puikiai tinka naudoti druskų [50], riebalų rūgščių [51], retinolio [52] pernešimui.

### **1.3.5. Savaimė susidaranti emulsijos**

Daugelis emulsiklių, ypač smulkiosios molekulinės paviršiaus aktyviosios medžiagos gali ne tik suformuoti paviršinį filtrą ant lašelių, bet ir savaimė susiformuoti į micles ir kitokios struktūros darinius [53], kurie vėliau ir stabilizuoja emulsijas.

Emulsiklio micelės gali iš esmės pakeisti vandens junginių pasiskirstymo koeficientus, nes gali šiuos junginius ištirpinti hidrofobinėse srityse [54]. Monogliceridai yra aliejuje tirpūs emulsikliai. Sąlytyje su vandeniu arba aliejumi, jie gali savaimė persistruktūrizuoti į sluoksniuotą, kubinę ar šešiakampę fazes. Tyrimais įrodyta, jog savaimė susidaranti emulsijos gali apsaugoti ir itin jautrius komponentus [55].

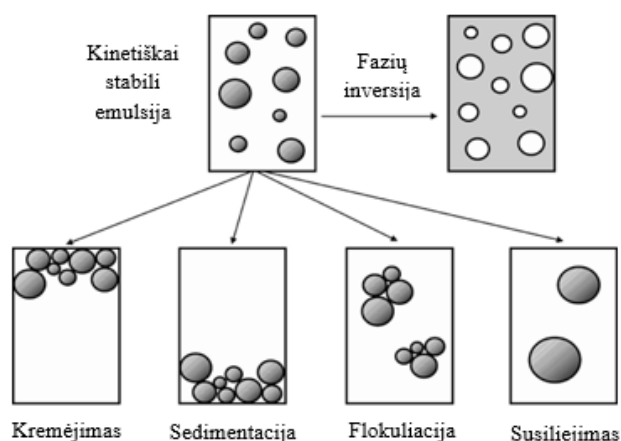
## **1.4. Emulsijų savybės ir stabilumas**

### **1.4.1. Emulsijos dalelių dydis**

Demulsifikacijos procesai paprastai apibūdinami keliais pagrindiniais etapais, įskaitant flokuliaciją, koalescenciją ir sedimentaciją. Tiesą sakant, bet koks demulsifikavimas bus sudėtingas šių žingsnių derinys. Demulsifikacijai įtakos turi daugybė veiksnių, o siekiant palengvinti tyrimą, emulsijos



stabilumas laikomas priklausomu nuo flokuliacijos ir sulipimo laipsnio [56]. Kuo didesnis emulsijos lašelių sulipimo laipsnis, tuo didesnis dalelių dydis, tai – emulsijos stabilumo matas.



1.3 pav. Emulsijos nestabilumo pavyzdžiai [57]

#### 1.4.2. Reologinės savybės

Reologinės savybės nagrinėjamos siekiant apibūdinti medžiagų deformaciją ir takumą. Stokso ir Einšteino lygtis rodo, jog difuzija yra neigiamai proporcinga klampumui – todėl galima teigti, jog padidėjęs klampumas sumažins vandens sklaidą skirtingose fazėse. Emulsijų sistemose, kurių sudėtyje yra pektino, buvo pastebėtas lėtesnis vandens išsiskyrimas [58]. Į emulsijas dažnai yra dedami tirštikliai tam, kad būtų padidinta emulsijos klampa ir būtų išvengta emulsijos lašelių susilieimo bei padidintas jos stabilumas [59]. Buvo pastebėta, kad pektinas ir krakmolas turi santykinai silpnesnę poveikį junginių išsiskyrimui, lyginant su želatina. Manoma, jog taip yra dėl ne tokios kompaktiškos pektino bei krakmolo gelinio tinklo struktūros [60]. Kalcio alginatas taip pat labai gerai veikia kaip emulsijų tirštiklis. Esant didesnei kalcio jonų koncentracijai emulsijoje sąlyginai didėja sistemos gelio patvarumas ir mažėja vandens junginių išsiskyrimas [61].

Verta paminėti, kad ne visi tirštikliai teigiamai veikia emulsijų stabilumą. Kadangi tirštikliai labai skiriasi savo cheminėmis bei fizikinėmis savybėmis, jie taip pat gali skirtingai paveikti emulsijas, kai kurie jų – netgi sumažinti emulsijos stabilumą [62].

#### 1.4.3. pH poveikis

Dar vienas kintamasis, turintis įtakos emulsijų stabilumui yra pH vertė. Nuo pH labai priklauso naudojamų emulsiklių savybės – pasikeitus pH galima iš esmės pakeisti emulsiklių ir vandens junginių sąveiką. Pavyzdžiui, kiaušinio tryniu arba krakmolo – natrio oktenilsukcinatu stabilizuotose emulsijose nuo 3,0 iki 9,0 padidėjęs pH lemia diacetilo sulaikymą – tai įvyksta dėl stipresnės diacetilo ir stabilizatorių sąveikos per vandenilinius ryšius [63].

Kadangi pH gali įvairiai paveikti junginius, naudojamus emulsijų sistemoms sudaryti (pavyzdžiui, denatūruoti baltymus), reikia labai nuodugniai ištirti kiekvieną sistemos komponentą ir pH pokyčio jam daromą įtaką.

#### 1.5. Biopolimerų ir eterinių aliejų panaudojimas maisto pakuotėms

Pagrindinis mikroemulsijos privalumas yra jos termodinaminis stabilumas, kuris gali būti pasiektas

labai mažomis energijos sąnaudomis. Termodinaminis stabilumas kuriant maisto pakuotes bei naudojant EA ir biopolimero emulsiją yra labai svarbus tam, jog išlaikyti antimikrobinį bei antioksidacinį aktyvumą.

Veikliosios medžiagos ir biopolimero kapsulių sudarymas paremtas technika, kurios metu maži veikliųjų medžiagų lašeliai arba dalelės yra padengtos polimerinėmis itin mažomis kapsulėmis [64]. „Kapsuliavimas“ gali būti klasifikuojamas pagal dalelių dydį: mikro-kapsulių dalelės yra nuo 1 iki 1000 nm dydžio ir gali būti sudarytos iš natūralių arba sintetinių medžiagų. Nanodalelės yra nuo 1 iki 100 nm dydžio ir šiuo metu naudojamos įvairiose srityse, pvz.- maisto pramonėje.

Polimeras arba nanokapsulė veikia kaip apsauginė plėvelė, izoliuojanti vidinę „šerdį“ (šiuo atveju eterinį aliejų). Labai svarbus tokio komplekso gamybos aspektas pasirinkti tinkamą karkasą – biopolimerą, priklausomai nuo veikliosios medžiagos fizikinių ir cheminių savybių bei numatomo panaudojimo. Eterinių aliejų imobilizavimui naudojami ne tik sintetiniai, bet ir natūralūs junginiai: krakmolas, celiuliozė, chitozanas, kazeinas, albuminas, želatina, riebalų rūgštys, vaškas, parafinas, alginatas, karageninas [65].

Polisacharidai, naudojami sąlytyje su maistu paprastai sukelia reologinių savybių pokyčius – tai dažnai paskatina gelinio tinklo susidarymą ir vandens junginių sulaikymą. Polisacharidai, dėl jų biosuderinamumo ir biologinio skaidomumo yra dažnai naudojami kaip aktyvaus junginio nešikliai gaminant maisto pakuotes.

Krakmolas ir jo dariniai pastaruoju metu tapo labiausiai tyrinėjamomis polimerinėmis medžiagomis, kai kalbama apie natūralius aktyvius nešiklius. Krakmolo molekulėje gausu hidroksilo grupių, todėl šios molekulės – hidrofiliškos. Nepaisant to, krakmolo tirpumas šaltame vandenyje yra gana prastas. Taip yra dėl labai lengvo vandenilinių jungčių susidarymo tarp hidroksilo grupių. Hidrofobinis modifikavimas dažniausiai atliekamas esterinimo reakcijos metu, kuri ne tik sunaikina tarpmolekulinius vandenilio ryšius, kad pagerintų tirpumą, bet ir daro krakmolą amfifilinį. Kadangi krakmolas pasižymi labai geru biologiniu aktyvumu – įskaitant priešuždegiminį bei antivirusinį, yra netoksiškas bei nesukelia imuninio atsako, turi labai gerą biologinį suderinamumą ir skaidumą, krakmolas yra laikomas puikiu biologiniu nano – nešikliu ir yra dažnai naudojamas netirpių bioaktyvių molekulių kapsuliacijai [66].

Tarp biopolimerų, naudojamų plėvelėms/dangoms gauti, celiuliozės dariniai yra vieni iš labiausiai dėmesį atkreipiančių plėvelės formavimo junginių. Jie yra bekvapiai, beskoniai ir biologiškai skaidūs [67]. Hidroksiopropilmetilceliuliozė (HPMC) turi didelį potencialą naudojant su daugeliu maisto produktų dėl biologinio suderinamumo, netoksiškumo, mažos kainos, bei gerų savybių formuoti plėveles [68]. HPMC plėvelės yra labai veiksmingos kaip deguonies, anglies dioksido bei lipidų barjerai. Tačiau tokios plėvelės pasižymi labai dideliu pralaidumu vandens garams – kas yra didelis trūkumas, apribojantis šios plėvelės panaudojimą, nes veiksmingas drėgmės ribojimas yra vienas iš svarbiausių pageidautinų plėvelės bruožų.

Eterinio aliejaus įterpimas daro įtaką polimerinės matricos tęstinumui, dėl kurių polimero fiziniai pokyčiai priklauso nuo specifinių polimero bei eterinio aliejaus komponentų sąveikos. Paprastai, biopolimerinės plėvelės struktūrą arba biopolimero stabilumą eterinio aliejaus įterpimas susilpnina. Eteriniai aliejai, esantys emulsijoje gali suteikti biopolimerui antioksidacinių bei antimikrobinų savybių. Svarbu surasti tokį eterinį aliejų bei biopolimerą, kurių tarpusavio sąveika suteiktų maisto pakuotei norimų savybių.

### **1.5.1. Eteriniai aliejai – inovatyvių maisto pakuočių dalis**

Šiais laikais vis daugiau dėmesio skiriama inovatyvių maisto pakuočių kūrimui. Atkreipiamas dėmesys į produktų galiojimo laiko ilginimą, produktų stabilumą naudojant kuo mažiau žmogui kenksmingų medžiagų. Siekiant sustiprinti norimas tam tikras maisto pakuočių savybes, į jų gamybą įtraukiami tam tikri antioksidacinėmis savybėmis pasižymintys priedai, antimikrobiniai junginiai arba ekstraktai su pasirinktu bioaktyvumu. Šiuo metu pastebimas didelis mokslininkų susidomėjimas bioaktyvių natūralių junginių, tokių kaip eteriniai aliejai ir augaliniai ekstraktai, panaudojimu, gaminant maisto pakuotes [69, 70].

Antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčios maisto pakuotės, savo sudėtyje turinčios aktyvių augalų komponentų buvo sukurtos siekiant pagerinti maisto kokybę bei prailginti jo galiojimo laiką nenaudojant žmogui žalingų cheminių medžiagų. Natūralūs antiseptikai: timolis, karvakrolis ir eugenolis, naudoti kuriant kompozicinę maisto pakuotę – sandarias, laminuotas LLDPE plėveles. Šios plėvelės buvo panaudotos šviežios jautienos pakavimui ir tyrimų rezultatai parodė teigiamą veikimą prieš lipidų oksidaciją. Negana to, šios pakuotės padėjo išlaikyti šviežio maisto produkto (jautienos) stabilumą [70].

Naudojant aktyvią linijinę LDPE kompozicinę plėvelę, kurios 1% masės sudaro fenolinis natūralus antioksidantas – resveratrolis, buvo pastebėtas stiprus antioksidacinis šio komponento aktyvumas. Resveratrolis – tai natūraliai atsirandantis augalinės kilmės produktas, kurio yra daugiau nei 70-tyje augalų rūšių (vynuogėse, riešutuose, lelijose, eukaliptuose, šilkmedyje, rūgtinių augalų ir helleborus genčių augaluose, eraičino žolėje). Šis fenolinis junginys 34,7% sumažino šviežios jautienos lipidų oksidaciją, taip pat kaip ir timolis bei karvakrolis – prailgino šviežios mėsos, laikomos 4° C temperatūroje, galiojimo laiką. [71].

### **1.6. Projekto temos ir uždavinių pagrindimas**

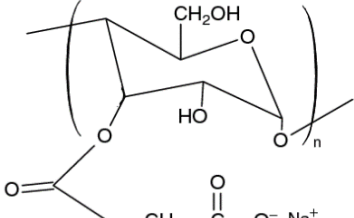
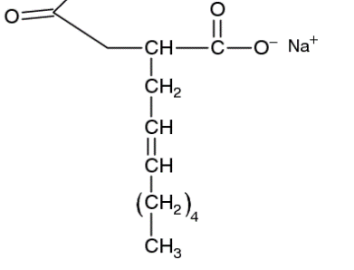
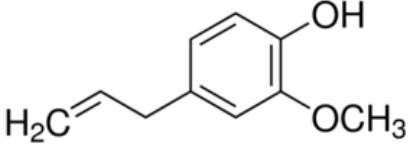
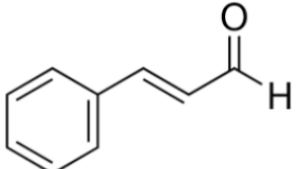
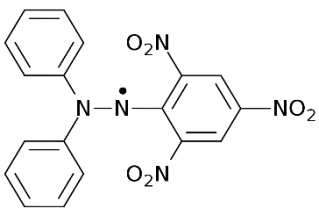
Iš augalų išgaunami natūralūs eteriniai aliejai jau ilgą laiką yra naudojami maisto pramonėje. Šie aliejai turi didelį potencialą, kuriant inovatyvias maisto pakuotes. Mokslininkai nustatė, jog eteriniai aliejai pasižymi antimikrobiniu [9, 15] ir antioksidaciniu [26] poveikiu bei gali būti naudojami maisto pakuočių kūrime, taip prailgindami maisto produktų galiojimo laiką [71]. Vienas iš pagrindinių eterinių aliejų trūkumų, naudojant juos kaip priedus maisto pakuočių kūrime, yra jų nestabilumas. Eterinių aliejų komponentai yra lakūs, todėl norint juos panaudoti maisto pakuočių kūrime yra būtina eterinius aliejus stabilizuoti. Siekiant išsaugoti eterinių aliejų antioksidacinį aktyvumą, jie gali būti imobilizuoti biopolimere – hidrofobiškai modifikuotame vaškinių kukurūzų krakmole. Šiame darbe eugenolio, cinamono aldehido ir čiobrelių eteriniai aliejai bus imobilizuoti keletu skirtingų metodų – ruošiant eterinio aliejaus ir dviejų tipų hidrofobiškai modifikuotų vaškinių kukurūzų krakmolų emulsijas, kurios bus panaudotos kuriant ant popieriaus veikliąsias dangas bei atliekant purkštuvinių džiovinimą. Vienas iš svarbiausių uždavinių – įvertinti, kaip kinta emulsijų pagrindinės charakteristikos – dalelių dydis, stabilumas, antioksidacinis aktyvumas, priklausomai nuo laikymo temperatūros, naudoto emulsiklio tipo bei eterinio aliejaus koncentracijos emulsijoje ir optimizuoti emulsijų ruošimo sąlygas. Taip pat tyrimo metu labai svarbu įvertinti, ar eteriniai aliejai, imobilizuoti veikliosiose dangose išlaiko savo antioksidacinį aktyvumą. Tyrimo metu iš eterinio aliejaus ir hidrofobiškai modifikuoto vaškinių kukurūzų krakmolo purkštuvinio džiovinimo metodu bus gauti milteliai ir taip pat bus įvertintas jų antioksidacinis aktyvumas bei atspalaidavimas etanolyje.

## 2. Medžiagos ir tyrimų metodai

### 2.1. Naudotos medžiagos

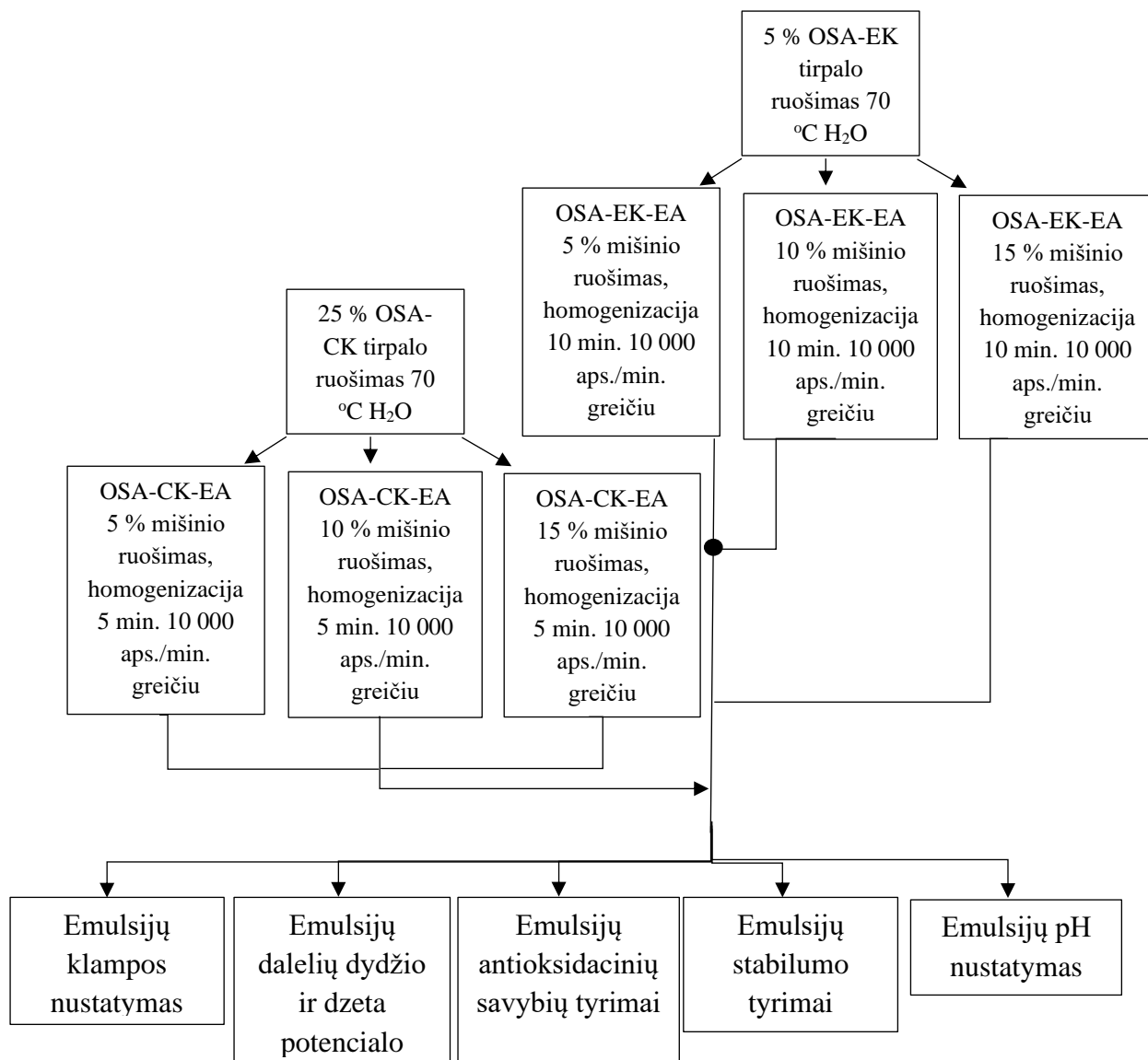
Darbe naudotos medžiagos ir jų charakteristikos pateiktos 2.1 lentelėje.

2.1 lentelė. Naudotos medžiagos ir reagentai

Medžiagos pavadinimas (trumpinys)	Formulė	Gamintojas arba tiekėjas, pastabos
Hidrofobiškai modifikuotas vaškinių kukurūzų krakmolas – krakmolo natrio oktenilsukcinatas (OSA-CK)		Ingredion GmbH, Vokietija. Papildomai dekstruguotas s.m* = 97,4 %
Hidrofobiškai modifikuotas vaškinių kukurūzų krakmolas - krakmolo natrio oktenilsukcinatas (OSA-EK)		Emsland-Starke GmbH, Papildomai stabilizuotas, prežlatinizuotas. s.m. = 89,6 %
Eugenolis (EU)		Sigma – Aldrich, grynumas > 98%
Cinamono aldehidas (CA)		Sigma – Aldrich, grynumas > 98%
Čiobrelių eterinis aliejus (ČI)	-	Sigma – Aldrich
Etanolis	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{OH}$	AB „Stumbras“, Lietuva, grynumas 96 %
1,1-difenil-2-pikrilhidrazilas (DPPH)		Sigma – Aldrich, chemiškai grynas

s.m\* – sausų medžiagų kiekis

## 2.2. Tyrimų metodai



2.1 pav. OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA emulsijų paruošimo ir tyrimų schema

### 2.2.1. Eterinių aliejų ir hidrofobiškai modifikuoto krakmolo emulsijų paruošimas

Eterinių aliejų (EA) turinčioms emulsijoms paruošti naudojami dviejų tipų hidrofobiškai modifikuoto vaškinių kukurūzų krakmolo emulsikliai: OSA-CK ir OSA-EK.

**OSA-CK krakmolo ir EA emulsijų paruošimas.** Ruošiamos aliejus / vandenyje emulsijos savo sudėtyje turinčios 20 % OSA-CK ir 5 %, 10 %, 15 % eugenolio, cinamono aldehido ar čiobrelių eterinio aliejaus (EA) nuo emulsijos masės. 25 % OSA-CK tirpalui paruošti reikiamas jo kiekis ištirpinamas 70 °C temperatūros vandenyje. Tirpalas ataušinamas ir įpilamas nugaravęs vandens kiekis. Po to pridedamas reikiamas eterinio aliejaus kiekis. Emulsijai gauti eterinio aliejaus ir OSA-CK mišinys (100 g) homogenizuojamas dispergatoriuje (*Ika Ultra Turrax T 25*) 5 min. 10 000 aps. / min. greičiu. Emulsijos, kurios bus naudojamos vėlesniems stabilumo tyrimams (po 3, 7, 10 parų) supilstomos į aukštus stiklinius mėgintuvėlius ir sandariai uždengiamos, kad būtų išvengta lakių komponentų išgaravimo iš emulsijos.

2.2 lentelėje pateikti medžiagų kiekiai 100 g OSA-CK-EA emulsijoms paruošti.

**2.2 lentelė.** OSA-CK-EA emulsijų komponentai ir jų kiekiai

Emulsija	25 % OSA-CK tirpalas (g)	Papildomas vandens kiekis (g)	EA* (g)
OSA-CK-EA(5%)	80	15	5
OSA-CK-EA(10%)	80	10	10
OSA-CK-EA(15%)	80	5	15

\*EA - eteriniai aliejai: EU, CA, ČI

**OSA-EK krakmolo ir EA emulsijų paruošimas.** 5 % OSA-EK tirpalui paruošti reikiamas jo kiekis ištirpinamas 90 °C temperatūros vandenyje. Kleisteris ataušinamas ir įpilamas nugaravęs vandens kiekis. Po to pridedama reikiamas eterinio aliejaus kiekis. Emulsijai gauti eterinio aliejaus ir OSA-EK mišinys (100 g) homogenizuojamas dispergatoriuje (*Ika Ultra Turrax T 25*) 10 min. 10 000 aps. / min. greičiu. Tokiu būdu yra paruošiamos aliejus / vandenyje emulsijos savo sudėtyje turinčios 4,25 – 4,75 % OSA-EK ir 5 %, 10 %, 15 % eugenolio, cinamono aldehido ar čiobrelių eterinio aliejaus nuo emulsijos masės. Emulsijos, kurios bus naudojamos vėlesniems stabilumo tyrimams (po 3, 7, 10 parų) taip pat supilstomos į aukštus stiklinius mėgintuvėlius ir sandariai uždengiamos, kad būtų išvengta lakių komponentų išgaravimo iš emulsijos.

2.3 lentelėje pateikti medžiagų kiekiai 100 g OSA-EK-EA emulsijoms paruošti.

**2.3 lentelė.** OSA-EK-EA emulsijų komponentai ir jų kiekiai

Emulsija	5 % OSA-EK kleisteris (g)	EA* (g)
OSA-EK-EA(5%)	95	5
OSA-EK-EA(10%)	90	10
OSA-EK-EA(15%)	85	15

\*EA - eterinis aliejai: EU, CA, ČI

### 2.2.2. Emulsijų klampos nustatymas

Emulsijų klampoms nustatyti ruošiamos OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA emulsijos (*žr. 2.2.1 skyrelio metodiką*). Prieš matuojant emulsijų klampą, jos dvi valandas laikomos kambario temperatūroje tam, kad susivienodintų emulsijų temperatūra. Emulsija supilama į aukštą 50 ml talpos plastikinį mėgintuvėlį. Klampos matuojamos eksperimentiniu būdu nustačius ir optimizavus viskozimetro (*IKA rotavisc, Germany*) apsisukimų skaičių. OSA-CK-EA emulsijų klampa matuojama prie 150 rpm naudojant 18,8 mm skersmens veleną, OSA-EK-EA – prie 60 rpm naudojant 18,7 mm skersmens veleną. Velenas pasirenkamas atsižvelgiant į emulsijų klampas ir viskozimetro gamintojo rekomendacijas.

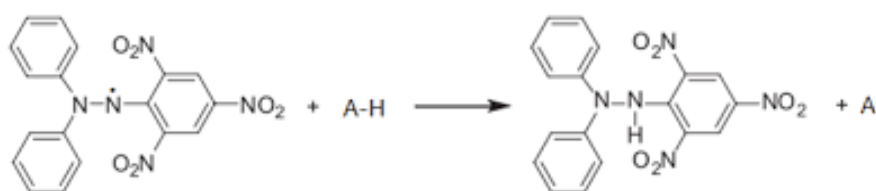
### 2.2.3. Dalelių dydžio ir dzeta potencialo nustatymas

OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA emulsijų dalelių dydis ir dzeta potencialas nustatomas *DelsaNano C (Beckman Coulter, Japonija)* matuokliu. Dalelių dydis yra nustatomas pagal išsklaidytosios lazerio šviesos intensyvumo kitimą. Išsklaidytosios šviesos intensyvumas yra susijęs su tirpale esančių

dalelių matmenimis ir forma, o šviesos intensyvumo fliktuacijos laike – su difuzijos koeficientu. Dinaminės šviesos sklaidos duomenys yra analizuojami naudojant NNLS (angl. *non-negative least-squares*) algoritmą. Dzeta potencialo matavimai paremti elektroforezės principu. Dalelių dydžio bei dzeta potencialo matavimams OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA emulsijos skiedžiamos vandeniui, atitinkamai, 30 ir 100 kartų. Kiekvienam bandiniui atliekami 3 matavimai po 20 skanavimų dalelių dydžio ir po 10 dzeta potencialo matavimo atveju.

#### 2.2.4. Antioksidacinių savybių tyrimai

1,1-difenil-2-pikrilhidrazilo (DPPH) metodas paprastai naudojamas atskirų junginių ir jų mišinių antioksidaciniam aktyvumui įvertinti. Metodas pagrįstas DPPH koncentracijos pokyčio, atsirandančio dėl DPPH reakcijos su antioksidantu, spektrofotometrinio matavimu. Likusio DPPH kiekis tiriamoje sistemoje yra junginių antioksidacinio aktyvumo matas.



2.2 pav. DPPH radikalo redukcijos reakcija su antioksidantu [73]

OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA emulsijų antioksidacinės savybės įvertinamos naudojant 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilą (DPPH metodas). 25 ml tūrio stiklinėse pasveriami po 20 mg OSA-CK-EA ar OSA-EK-EA emulsijos ir užpilama po 10 ml 0,004 % DPPH tirpalo etanolyje. Mišinys uždengiamas aliuminio folija ir maišomas ant magnetinės maišyklės (300 aps./min) 30 min tamsoje kambario temperatūroje. Po to išmatuojama 517 nm monochromatinio spindulio sugertis tiriamuoju tirpalu naudojant vis-spektroskopiją (*T60 Visible Spectrophotometer*). „Tuščiojo“ tirpalo šviesos sugerčiai išmatuoti naudojamas tik DPPH tirpalas. Antioksidacinis efektyvumas (*AE*) apskaičiuojamas pagal formulę:

$$AE(\%) = \frac{A_b - A_a}{A_b} \cdot 100; \quad (2.1)$$

$A_b$  – tuščiojo tirpalo šviesos sugertis;  $A_a$  – tiriamojo tirpalo šviesos sugertis.

#### 2.2.5. Emulsijų stabilumo tyrimai

Paruoštos OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA emulsijos supilamos į 15 ml tūrio mėgintuvėlius ir paliekamos sendinimui 5 °C ir 25 °C temperatūroje. Po 3, 7 ir 10 parų atliekami emulsijų stabilumo tyrimai matuojant jų dalelių dydį (žr. 2.2.2 skyrelio metodiką), antioksidacines savybes (žr. 2.2.3 skyrelio metodiką) ir išsisluoksniavimą. Išsisluoksniavimas įvertinamas matuojant bendrą emulsijos aukštį mėgintuvėlyje ir atsiskyrusio sluoksnio aukštį.

Išsisluoksniavimas (*I*) apskaičiuojamas pagal formulę:

$$I(\%) = \frac{S_B - S_A}{S_B} \cdot 100; \quad (2.2)$$

Čia:  $S_B$  – pradinis bendras emulsijos aukštis (cm);  $S_A$  – atsiskyrusio sluoksnio aukštis po 3, 7 ar 10 parų (cm).

### 2.2.6. pH matavimai

OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA emulsijų pH matavimai atliekami pH matuokliu (*Hanna pH 211 instruments*). Matavimai atliekami tris kartus, išvedamas pH vidurkis ir standartinis nuokrypis.

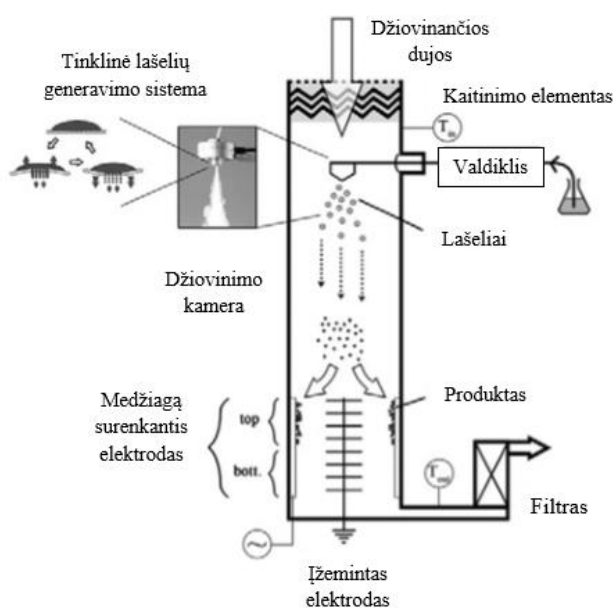
### 2.2.7. Veikliųjų dangų gavimas ir tyrimai

*Dangų paruošimas.* OSA-CK-EA (15%) ir OSA-EK-EA (15%) emulsijų turinčios veikliosios dangos ruošiamos ant popieriaus. Dangos liejimui imama apie 2 ml emulsijos, veikliajai dangai padengti naudojama dangų liejimo įranga (*RK Printcot intruments, Didžioji Britanija*) su profiliuota lazdele (vielos diametras 0,64 mm). Dangos saugojamos tamsoje sandariai supakuotos.

*Dangų antioksidacinių savybių tyrimai.* Dangų antioksidacinėms savybėms nustatyti iškerpamos dvi 1x2cm ir 1x3cm dydžio popieriaus juostelės ir pasveriamos. Dangų antioksidacinės savybės įvertinamos naudojant 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilą (DPPH metodas). Į 25 ml tūrio stiklines įdedama iškirpta dangos juostelė ir užpilama po 10 ml 0,004 % DPPH tirpalo etanolyje. Mišinys maišomas ant magnetinės maišyklės (300 aps./min) 30 min tamsoje kambario temperatūroje. Po to, bandiniai nufiltruojami ir išmatuojama 517 nm monochromatinio spindulio sugertis tiriamuoju tirpalu naudojant vis-spektroskopiją (*T60 Visible Spectrophotometer*). „Tuščiojo“ tirpalo šviesos sugerčiai išmatuoti naudojamas tik DPPH tirpalas. Antioksidacinis efektyvumas (*AE*) apskaičiuotas pagal formulę (žr. 2.1 formulę).

### 2.2.8. Eugenolio imobilizavimas modifikuotame krakmole purkštuvinio džiovinimo būdu

Eugenolio imobilizavimui purkštuvinio džiovinimo būdu paruošiama OSA-CK-EU (10%) emulsija (žr. 2.2.1 skyrelio metodiką). Purškimo procesui optimizuoti ši emulsija praskiedžiama 2 kartus. Imobilizavimui naudojamas purkštuvinio džiovinimo aparatas (*Nano Spray Dryer B-90 (Büchi)*). Purkštuvinio džiovinimo aparato schema pateikta 2.3 pav.



2.3 pav. Purkštuvinio džiovinimo aparato schema [74]



Purkštuvinio džiovinimo metu naudojamos dujos (oras) patenka į aparatą iš viršaus, tada yra kaitinamos iki nustatytos temperatūros ir teka per džiovinimo kamerą. Pratekėjusios pro kamerą dujos yra nufiltruojamos ir pasišalina iš aparato per išleidimo angą, esančią prietaiso apačioje. OSA-CK-EU bandinys siurbliu paduodamas į išpurškimo galvutę. Naudojamas purkštukas turintis 7 μm dyžio poras membranoje. Lašeliai išpurškiami pro ploną membraną, kurie dėl aukštos temperatūros džiovinami ir virsta kietomis dalelėmis. Elektrostatinis krūvis nukreipia šias kietas daleles ant surenkamojo elektrodo. Kai elektrodas pasidengia plonu bandinio dalelių sluoksniu, dalelės pašalinamos nuo elektrodo naudojant guminę mentelę ir surenkamos tolesniems tyrimams atlikti.



2.4 pav. Nano Spray Dryer B-90 (Büchi)

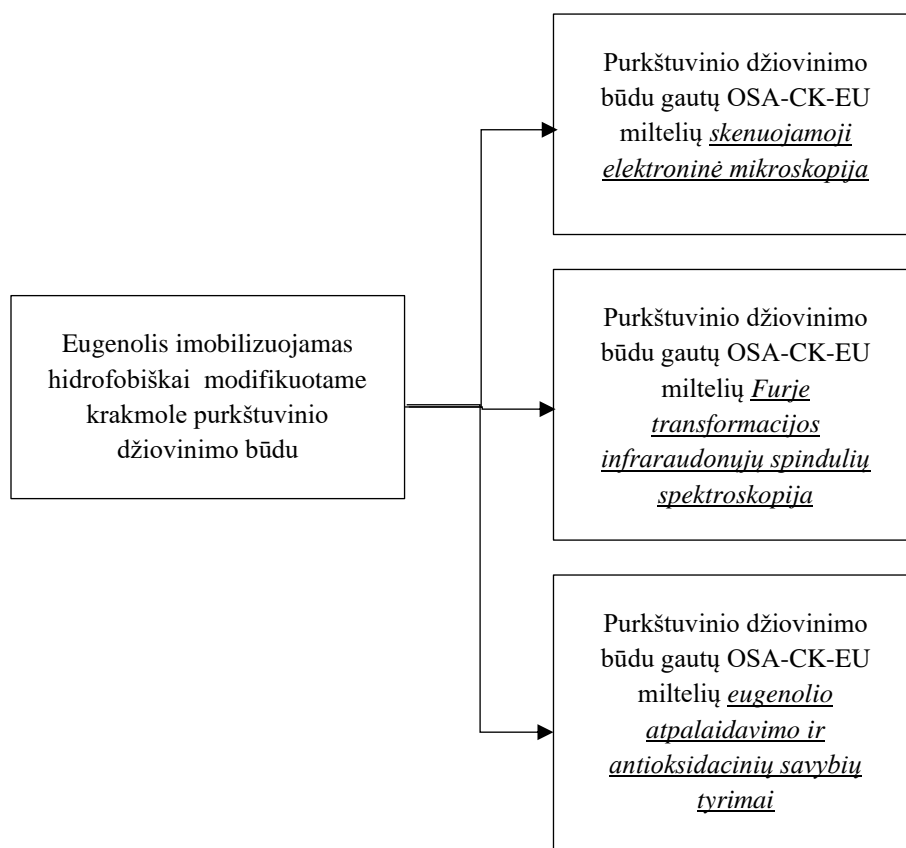
Prieš pradėdant darbą buvo nustatyti purkštuvinio džiovinimo aparato parametrai, kurie paeikti 2.4 lentelėje.

2.4 lentelė. Purkštuvinio džiovinimo aparato parametrai

Parametras	Vertė
Dujų (oro) tėkmės greitis, l/min	97 ± 3
Dujų temperatūra, °C	97 ± 1
Kaitinimo elemento temperatūra purškimo galvutėje, °C	120 ± 0
Dalelių surinkimo kameros temperatūra, °C	45 ± 4
Slėgis, hPa	30 ± 1

Produktas, gaunamas purkštuvinio džiovinimo metu – baltos spalvos milteliai. Milteliai saugomi sandariame inde kambario temperatūroje. Purkštuvinio džiovinimo būdu imobilizuotam eugenoliui

atliekami tyrimai, siekiant nustatyti, ar tikslinga šiuos miltelius naudoti veikliųjų maisto pakuočių gamyboje.

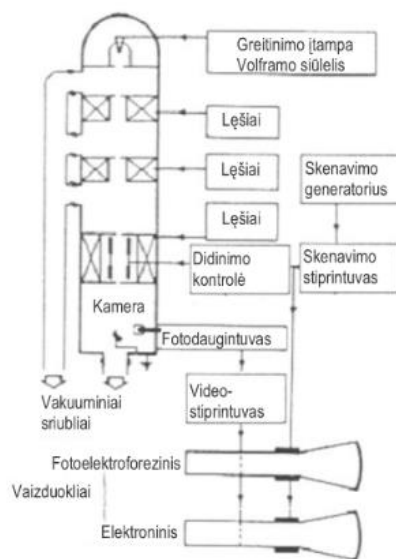


2.5 pav. Eugenolio, imobilizuoto hidrofobiškai modifikuotame krakmole, tyrimų schema.

### 2.2.9. Skenuojamoji elektroninė mikroskopija

Purškiamuoju džiovavimo būdu gautų OSA-CK-EU miltelių ir hidrofobiškai modifikuoto krakmolo SEM nuotraukos gautos aukštos skiriamosios gebos skenuojančiu elektroniniu mikroskopu su „Šotki“ tipo elektronų patranka FEI Quanta 200 FEG. Skenuojamosios elektroninės mikroskopijos metu vaizdas yra formuojamas iš taškų. Dėl elektronų sąveikos su bandiniu vyksta elektronų emisija. Elektrinis signalas gaunamas iš surinktų išspinduliuotų elektronų. Visas bandinio paviršius yra skenuojamas plonu sufokusuotu elektrono pluoštu – taip yra gaunamas bendras paviršiaus vaizdas.

Gautos OSA-CK-EU ir OSA-CK bandinių paviršiaus nuotraukos lyginamos tarpusavyje. Įvertinamas OSA-CK-EU ir OSA-CK dalelių dydis, jų sulipimas, paviršiaus morfologija.

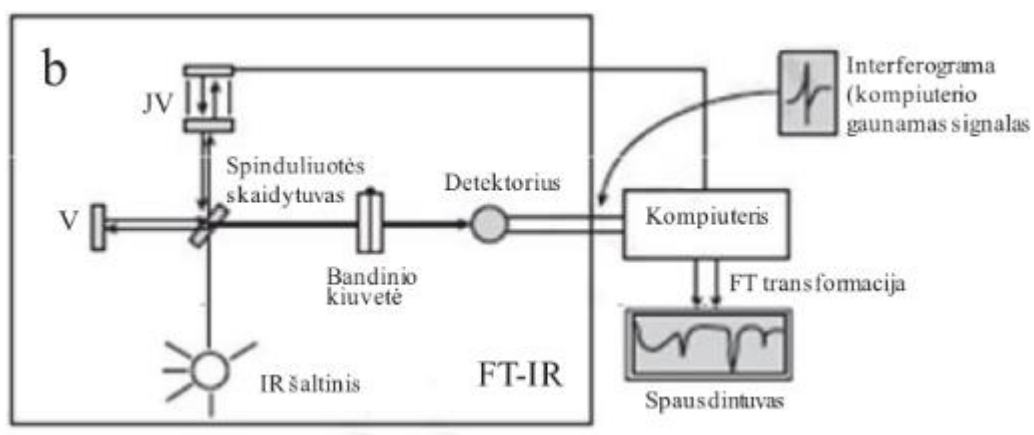


2.6 pav. Skenuojančio elektroninio mikroskopo konstrukcija [75]

### 2.2.10. Furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopija

Purškiamuoju džiovinimo būdu gautų OSA-CK-EU miltelių, hidrofobiškai modifikuoto krakmolo ir eugenolio FT-IR visiško atspindžio (ATR) spektrai užrašyti spektrofotometru (*Frontier Perkin Elmer, JAV*). Nedidelis kiekis bandinio buvo prispaudžiamas prie deimanto kristalo plokštelės ir buvo užrašomas spektras intervale nuo  $4000$  iki  $655\text{ cm}^{-1}$ . Skenavimų skaičius 5, skiriamoji geba  $4\text{ cm}^{-1}$ .

FT-IR interferometras nukreipia energiją į bandinį. Šiame interferometre IR šaltinio energija pereina per veidrodį - spinduliuotės skaidytuvą. Veidrodis įeinančiam spinduliui yra pasuktas  $45^\circ$  kampu – jis praleidžia spinduliuotę, bet padalina ją į du spindulius. Vienas spindulys išlieka nepakeistos krypties, kitas – pasuktas  $90^\circ$  kampu. Interferacinės struktūros sudėtinis spindulys yra interferograma. Kai interferograma pereina per bandinį, bandinys vienu metu absorbuoja visus bangos ilgius, kurie būdingi jo IR spektrui. Modifikuotas signalas, kuris pasiekia detektorių, turi informacijos apie visus absorbuotos energijos kiekius. Užrašius tiriamojo bandinio spektrus, galima nustatyti, kokie junginiai randami tiriamame bandinyje [76].

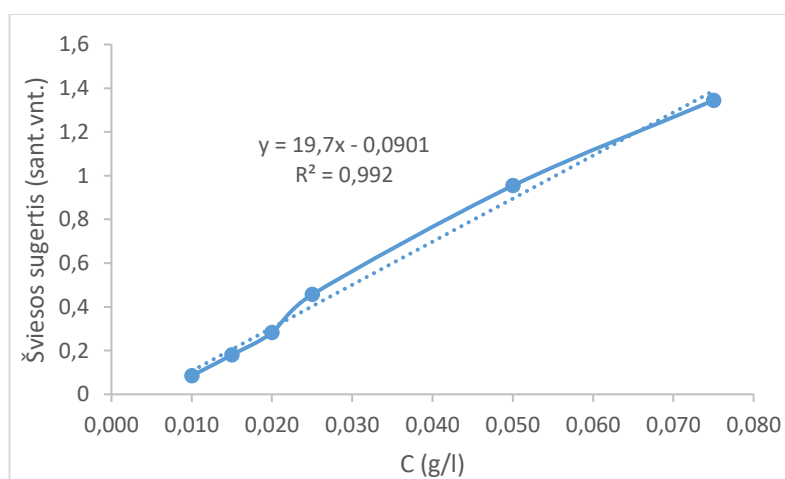


2.7 pav. Scheminė Furjė transformacijos IR spektrofotometro diagrama. V- veidrodis, JV – judantis veidrodis [76]

### 2.2.11. Eugenolio atpalaidavimo ir antioksidacinių savybių tyrimai

*Kalibracinė kreivė.* Eugenolio kalibracinei kreivei sudaryti paruošiamas pradinis 1 g/l eugenolio eterinio aliejaus tirpalas etanolyje. Iš šio tirpalo skiedimo būdu ruošiami 0,075 – 0,01 g/l eugenolio koncentracijos tirpalai ir matuojama šviesos sugertis prie 282 nm bangos ilgio, naudojant UV-Vis spektrofotometrą (*Jenway 6715, Didžioji Britanija*).

*Eugenolio atpalaidavimo tyrimas.* Eugenolio atpalaidavimas iš purkštuvinio džiovavimo būdu gautų OSA-CK-EU miltelių atliekamas į 96 % etanolio terpę. 25 ml tūrio stiklinėse pasveriami po 5 mg OSA-CK-EU miltelių, užpilama 10 ml etanolio. Bandiniai sandariai uždengiami ir maišomi 5, 10, 20, 30, 40, 50 ir 60 min. ant magnetinės maišyklės (300 aps./min). Po atitinkamo laiko intervalo matuojama tirpalų šviesos sugertis prie 282 nm bangos ilgio ir apskaičiuojamas atsipalaidavęs eugenolio kiekis (žr. 2.3 formulę).



2.8 pav. Eugenolio kalibracinė kreivė

Iš tiesės lygties išvedama formulė (2.3) eugenolio atpalaiduotam kiekiui į etanolį, apskaičiuoti:

$$C = \frac{D + 0,0901}{19,7}; \quad (2.3)$$

Čia  $D$  – šviesos sugertis, sant. vnt.

*Antioksidacinių savybių tyrimai.* OSA-CK-EU bandinio, gauto purkštuvinio džiovavimo būdu, antioksidacinės savybės įvertinamos naudojant 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilą (DPPH metodas). 25 ml tūrio stiklinėse pasveriami po 0,5, 1, 2, 3, 4 ir 5 mg OSA-CK-EU bandinio ir užpilama po 10 ml 0,004 % DPPH tirpalo etanolyje. Mišinys maišomas ant magnetinės maišyklės (300 aps./min) 30 min tamsoje kambario temperatūroje. Po to išmatuojama 517 nm monochromatinio spindulio sugertis tiriamuoju tirpalu naudojant Vis-spektroskopiją (*T60 Visible Spectrophotometer*). „Tuščiojo“ tirpalo šviesos sugerčiai išmatuoti naudotas DPPH tirpalas. Antioksidacinis efektyvumas ( $AE$ ) apskaičiuotas pagal formulę (žr. 2.1 formulę).

### 2.2.12. Sausų medžiagų masės nustatymas

Drėgmės kiekis medžiagose nustatytas drėgmės matuokliu MRS 120-3 (KERN, Vokietija), džiovinant 105 °C temperatūroje. Sausų medžiagų kiekis (%) apskaičiuotas pagal formulę:

$$SM = 100 - \frac{m_0 - m_1}{m_0} \cdot 100; \quad (2.4)$$

čia:  $m_0$  – pradinis bandinio svoris (g);  $m_1$  – absoliučiai sauso bandinio svoris (g).

### 2.2.13. Rezultatų tikslumo ir patikimumo įvertinimas

Bandymų rezultatai buvo apskaičiuojami kaip aritmetiniai vidurkiai pagal formulę:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^N X_i}{N}; \quad (2.5)$$

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

Standartinis nuokrypis apskaičiuotas pagal formulę:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (\bar{X} - X_i)^2}{N - 1}} \quad (2.6)$$

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

### 2.2.14. Statistinė duomenų analizė

Statistinei duomenų analizei atlikti buvo naudojamas *MS Excell* programinis paketas. Paklaidų įvertinimui buvo naudojamas standartinis nuokrypis. Duomenų imtys pasirenkamos atsižvelgiant į statistiškai reikšmingas vertes.

### 3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

#### 3.1. Hidrofobiškai modifikuoto krakmolo ir eterinių aliejų emulsijų gavimas ir tyrimai

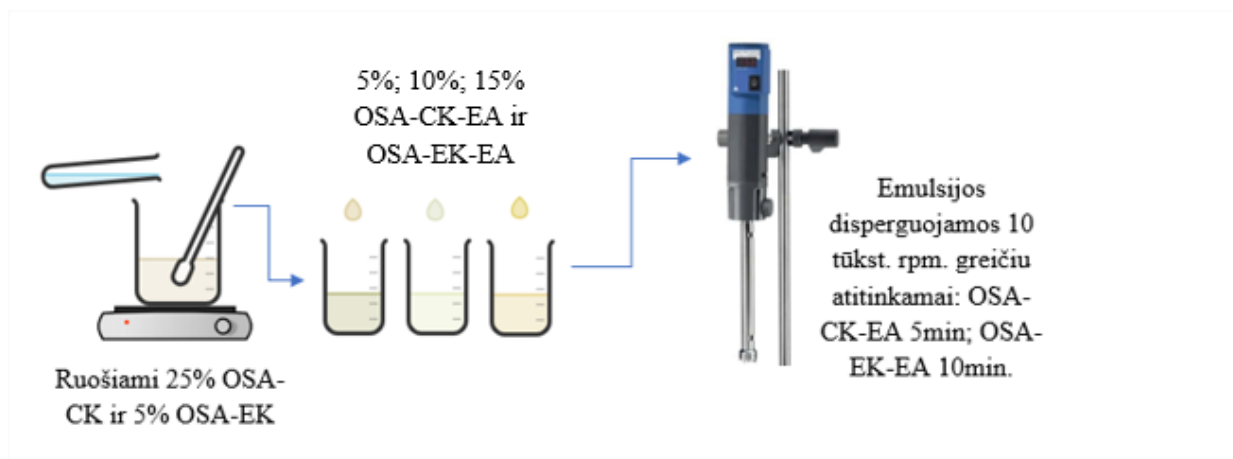
Eterinių aliejų imobilizavimas hidrofobiškai modifikuotame krakmole leidžia ilgiau išsaugoti naudingas eterinių aliejų savybes. Norint panaudoti emulsijas aktyvių maisto pakuočių gamybai, svarbu, jog šios emulsijos išliktų stabilios bei saugotų maistą nuo gedimo – pasižymėtų antioksidaciniu aktyvumu.

Emulsijų gamybai buvo naudoti dviejų tipų komercinis oktenilsukcino rūgšties anhidridu modifikuotas vaškinių kukurūzų krakmolas – OSA-CK ir OSA-EK. Šie produktai pasižymi skirtingomis fizikinėmis savybėmis, viena iš svarbiausių – klampa. OSA-CK krakmolo vandeniniai tirpalai yra mažos klamos, nes krakmolo makromolekulės yra papildomai suskaldytos iki dekstrinų (dekstruotas krakmolas). Tuo tarpu, OSA-EK pasižymi didele kleisterio klampa, nes šis krakmolas yra papildomai preželatinizuotas. Dėl šių priežasčių emulsijoms ruošti buvo naudotos skirtingos OSA-CK ir OSA-EK koncentracijos, atitinkamai, 25 % ir 5 % dispersijos vandenyje.

OSA krakmolas yra žinomas kaip maisto priedas (E1450) ir plačiai naudojamas veiklių junginių imobilizavimui, atliekantis ne tik emulsiklio, bet ir nešiklio funkcijas [77]. Pagrindinis imobilizavimo tikslas yra sujungti lakius junginius ir sumažinti jų garavimą, tuo pačiu kontroliuoti imobilizuotų junginių atpalaidavimą saugojimo ir eksploatacijos metu.

Emulsijų formavimui buvo pasirinkti trys skirtingi eteriniai aliejai, tai: eugenolis, cinamono aldehidas ir čiobrelių eterinis aliejus. Didžioji dalis eterinių aliejų pasižymi antioksidacinėmis savybėmis ir turi privalumą prieš sintetinius antioksidantus. Antioksidantai - tai junginiai, mažinantys arba stabdantys medžiagų oksidaciją, esant mažam jų kiekiui, palyginti su oksiduojamu substratu. Biologinėse sistemose ir maisto pramonėje nuo oksidacijos dažniausiai saugomi lipidai, baltymai ir angliavandeniai [78-79]. Lipidų oksidacija tiesiogiai susijusi su maisto produktų gedimu. Lipidams sąveikaujant su deguonimi vyksta biocheminė reakcija ir susidarę junginiai suteikia maistui nepageidaujamų savybių, tokių kaip kvapo, skonio, spalvos pokyčių [79].

Siekiant optimizuoti eterinio aliejaus ir hidrofobiškai modifikuoto krakmolo kompozicijos, skirtos veikliosios maisto pakuotėms, gamybą bei surasti tinkamiausias sudedamąsias dalis, pagal pateiktą schemą (3.1 pav.) buvo gaminamos OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA emulsijos.



3.1 pav. OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA emulsijų gavimo schema

Taikant skirtingas kompozicijas tyrimo metu gautos skirtingo stabilumo, skirtingų fizikinių savybių emulsijos. Visoms emulsijoms atlikti šie tyrimai:

1. Dalelių dydžio ir dzeta potencialo nustatymas (žr. 2.2.2 skyrių);
2. Antioksidacinių savybių tyrimai (žr. 2.2.3 skyrių);
3. Emulsijų stabilumo tyrimai (žr. 2.2.4 skyrių);
4. pH matavimai (žr. 2.2.5 skyrių);
5. Veikliųjų dangių gavimas ir jų antioksidaciniai tyrimai (žr. 2.2.6 skyrių);

OSA-CK-EU emulsijai buvo pritaikytas purkštuvinio džiovinimo metodas (žr. 2.2.7 skyrių) ir nustatytas antioksidacinis eugenolio aktyvumas bei jo atpalaidavimas etanolyje.

### 3.1.1. Hidrofobiškai modifikuoto krakmolo ir eterinių aliejų emulsijų charakteristikos

Paruošus OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA emulsijas, buvo nustatytos pradinės šių emulsijų charakteristikos: dalelių dydis, dezeta potencialas, pH ir klampa. Gauti rezultatai pateikti 3.1 ir 3.2 lentelėse.

3.1 lentelė. OSA-CK-EA emulsijų charakteristikos

Emulsija	Dalelių dydis (nm)	Dzeta potencialas (mV)	pH	Klampa (mPa·s) prie 150 aps/min
OSA-CK-CA (5%)	388,1 (± 45,1)	-11,8 (± 0,8)	2,82 (± 0,1)	20,4 (± 1,0)
OSA-CK-CA (10%)	1085,4 (± 37,3)	-8,9 (± 0,6)	2,81 (± 0,1)	33,4 (± 1,7)
OSA-CK-CA (15%)	1320,4 (± 85,6)	-5,9 (± 0,9)	2,87 (± 0,1)	47,2 (± 2,4)
OSA-CK-ČI (5%)	1039,6 (± 17,9)	-13,6 (± 1,2)	2,96 (± 0,2)	30,1 (± 1,5)
OSA-CK-ČI (10%)	1320 (± 23,9)	-7,2 (± 1,0)	2,94 (± 0,1)	33,8 (± 1,7)
OSA-CK-ČI (15%)	1332,5 (± 1,9)	-5,7 (± 0,9)	2,95 (± 0,1)	50,1 (± 2,5)
OSA-CK-EU (5%)	326,3 (± 4,2)	-10,5 (± 0,5)	2,9 (± 0,1)	32,3 (± 1,6)
OSA-CK-EU (10%)	1048,5 (± 30,6)	-10,6 (± 0,3)	2,87 (± 0,1)	41,9 (± 2,1)
OSA-CK-EU (15%)	1307,1 (± 24,2)	-4,6 (± 1,3)	2,86 (± 0,1)	49,4 (± 2,5)

3.2 lentelė. OSA-EK-EA emulsijų charakteristikos

Emulsija	Dalelių dydis (nm)	Dzeta potencialas (mV)	pH	Klampa (mPa·s) prie 60 aps/min
OSA-EK-CA (5%)	673 (± 17,0)	-18,29 (± 1,1)	4,60 (± 0,2)	77,1 (± 3,8)
OSA-EK-CA (10%)	1295,7 (± 65,8)	-20,71 (± 0,3)	4,61 (± 0,2)	67,9 (± 3,4)
OSA-EK-CA (15%)	1824,3 (± 28,2)	-20,14 (± 0,7)	4,53 (± 0,2)	79,3 (± 3,9)
OSA-EK-ČI (5%)	2833,6 (± 165,3)	-27,57 (± 0,2)	5,31 (± 0,2)	86,2 (± 4,3)
OSA-EK-ČI (10%)	4461,6 (± 206,6)	-23,61 (± 1,8)	5,36 (± 0,2)	77 (± 3,9)
OSA-EK-ČI (15%)	4648,5 (± 147,1)	-24,3 (± 0,9)	5,37 (± 0,2)	85,7 (± 4,3)
OSA-EK-EU (5%)	807,4 (± 24,9)	-23,52 (± 1,8)	5,44 (± 0,2)	84,5 (± 4,2)
OSA-EK-EU (10%)	983,3 (± 48,7)	-19,53 (± 0,37)	5,43 (± 0,2)	106,7 (± 5,3)
OSA-EK-EU (15%)	1271,1 (± 36,4)	-23,6 (± 0,2)	5,43 (± 0,2)	117,4 (± 5,9)

Analizuojant OSA-CK-EA emulsijų dalelių dydžio rezultatus, matyti, kad emulsijų dalelių dydis priklausė tiek nuo eterinio aliejaus rūšies, tiek nuo jo kiekio emulsijoje. Mažiausios dalelės gautos, eugenolio turinčiuose bandiniuose ( $326,3 \pm 4,2 - 1307,1 \pm 24,2$  nm), o didžiausios – emulsijose su čiobrelių eteriniu aliejumi ( $1039,6 \pm 17,9 - 1332,5 \pm 1,9$  nm). Nustatyta, kad emulsijoje esant didesniai kiekiui eterinio aliejaus, emulsijos dalelių dydis taip pat yra atitinkamai didesnis. Pavyzdžiui, OSA-CK-CA (5%) emulsijos dalelių dydis yra  $388 (\pm 45,1)$  nm., tuo tarpu tos pačios emulsijos, tačiau savo sudėtyje turinčios didesnę koncentraciją CA eterinio aliejaus (15%), dalelių dydis yra  $1320,4 (\pm 85,6)$  nm.

Išmatavus OSA-EK-EA emulsijų dalelių dydį, galima teigti, kad emulsijos dalelių dydžiui turi įtakos ir emulsiklio tipas. Šiuo atveju, emulsijų, ruoštų su OSA-EK krakmolu ir savo sudėtyje turinčių čiobrelių eterinio aliejaus dalelių dydis buvo didesnis ( $2833,6 \pm 165,3 - 4648,5 \pm 147,1$  nm), nei emulsijų, ruoštų su OSA-CK krakmolu ir savo sudėtyje turinčių atitinkamą kiekį čiobrelių eterinio aliejaus ( $1039,6 \pm 17,9 - 1332,5 \pm 1,9$  nm). Taip pat didesnės dalelės nustatytos ir OSA-EK-CA emulsijose ( $673 \pm 17,0 - 1824,3 \pm 28,2$  nm), lyginant jas atitinkamai su OSA-CK-CA emulsijomis ( $388,1 \pm 45,1 - 1320,4 \pm 85,6$  nm).

Remiantis literatūros duomenimis [80] galima teigti, jog emulsijos, kurių dalelių dydis yra didesnis, bus mažiau stabilios, nei mažesnes daleles turinčios krakmolo ir eterinio aliejaus emulsijos. Kuo didesnė eterinio aliejaus koncentracija emulsijoje, tuo didesnė tikimybė aliejaus lašeliams susilieti – tokiu atveju dvi emulsijos fazės išsiskirs ir dispersija suirs.

Dar vienas reikšmingas pradinis emulsijų parametras – dzeta potencialas. Dzeta potencialas – tai koloidinių sistemų elektrokinetinis potencialas. Svarbiausias veiksnys, turintis įtakos dzeta potencialui yra terpės pH. Kiti veiksniai – betkokių priedų koncentracija, temperatūra ir jonų stiprumas [81].

Dzeta potencialas taip pat gali turėti reikšmės emulsijų stabilumui. Emulsijos, turinčios didelį dzeta potencialą (neigiamą arba teigiamą) yra elektriškai stabilizuotos, tuo tarpu emulsijos, turinčios mažą dzeta potencialo reikšmę, yra linkusios koaguliuoti ar flokuliuoti – kas ir gali sukelti blogą emulsijos fizinį stabilumą. Iš gautų rezultatų, kurie pateikti 3.1 ir 3.2 lentelėse, matyti, kad OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA dzeta potencialas yra neigiamas t.y. dalelės turi neigiamą krūvį. Galima pastebėti, jog emulsijų, kurių sudėtyje yra OSA-EK dzeta potencialas yra neigiamesnis, nei emulsijų, savo sudėtyje turinčių OSA-CK. Šiuos skirtumus, pagrįdę, turėtų lemti OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA emulsijų skirtingos pH vertės. OSA-CK-EA bandinių atveju pH vertės yra intervale nuo 2,81 iki 2,96, o OSA-EK-EA nuo 4,60 iki 5,44.

OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA emulsijoms buvo atlikti klampos matavimai kambario temperatūroje. Tirtų emulsijų klampa priklausė tiek nuo naudojamo hidrofobiškai modifikuoto krakmolo, tiek nuo eterinio aliejaus ir jo koncentracijos emulsijoje. Kadangi nepavyko vienodomis sąlygomis atlikti klampų matavimų t.y. bandymą atlikti prie vienodų apsisukimų rotaciniu viskozimetru, todėl negalima tiesiogiai tarpusavyje lyginti OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA emulsijų klampų.

Iš gautų rezultatų galima pastebėti, jog esant didesnei eterinio aliejaus koncentracijai emulsijoje, jos klampa taip pat yra atitinkamai didesnė. Šiuo atveju, didžiausi skirtumai pastebėti OSA-CK-CA emulsijose. Didinant CA kiekį emulsijoje nuo 5 iki 15 %, atitinkamai, klampa padidėja nuo  $20,4 \pm 1,0$  iki  $47,2 \pm 2,4$  mPa·s. OSA-CK-ČI ir OSA-CK-EU emulsijų atveju, didėjant EA koncentracijai emulsijose, klampa taip pat didėjo, tik skirtumai buvo mažesni. Tuo tarpu, matuojant OSA-EK-EA emulsijų klampas nenustatyta aiški klampos priklausomybė nuo didesnio EA kiekio. Pavyzdžiui,



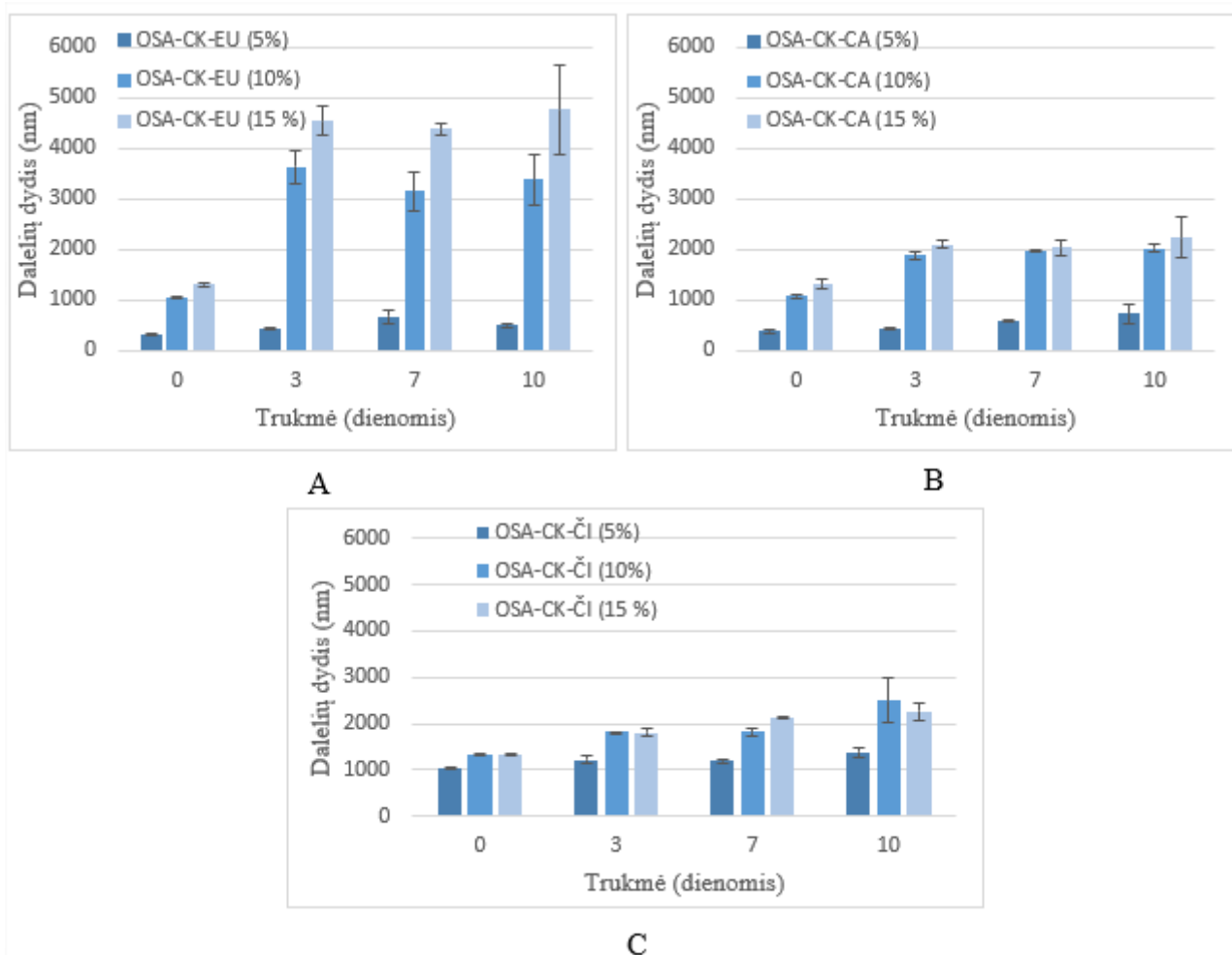
OSA-EK-CA emulsijų klampa, esant 5, 10 ir 15 % CA kiekiui emulsijoje, atitinkamai, buvo  $77,1 \pm 3,8$ ;  $67,9 \pm 3,4$  ir  $79,3 \pm 3,9$ .

### 3.1.2. Hidrofobiškai modifikuoto krakmolo ir eterinių aliejų emulsijų stabilumo tyrimai

Emulsijų stabilumas priklauso nuo gana daug faktorių – aplinkos sąlygų, emulsijų ruošimo technologijos, taip pat nuo emulsiją sudarančių medžiagų sudėties bei savybių. Emulsija yra dispersinė sistema, kuri laikui bėgant gali prarasti savo stabilumą – tokiu atveju iš skirtingų emulsijos fazių formuojasi agregatai, kurie kaupiasi ir gali atsirasti dviejų fazių atsiskyrimas. Siekiant aktyviusius eterinių aliejų komponentus imobilizuoti hidrofobiškai modifikuotame krakmole ir optimizuoti tinkamiausio eterinio aliejaus ir krakmolo kompozicijos gamybą, buvo atlikti hidrofobiškai modifikuoto krakmolo ir čiobrelių, eugenolio bei cinamono eterinio aliejaus emulsijų stabilumo tyrimai.

#### 3.1.2.1. Emulsijų stabilumo įvertinimas pagal dalelių dydžio pokyčius

Buvo ištirtas OSA-CK-EA emulsijų, laikytų  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  bei  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  dalelių dydžio pokytis per 10 dienų laikotarpį. Rezultatai pateikiami 3.2 ir 3.3 pav.



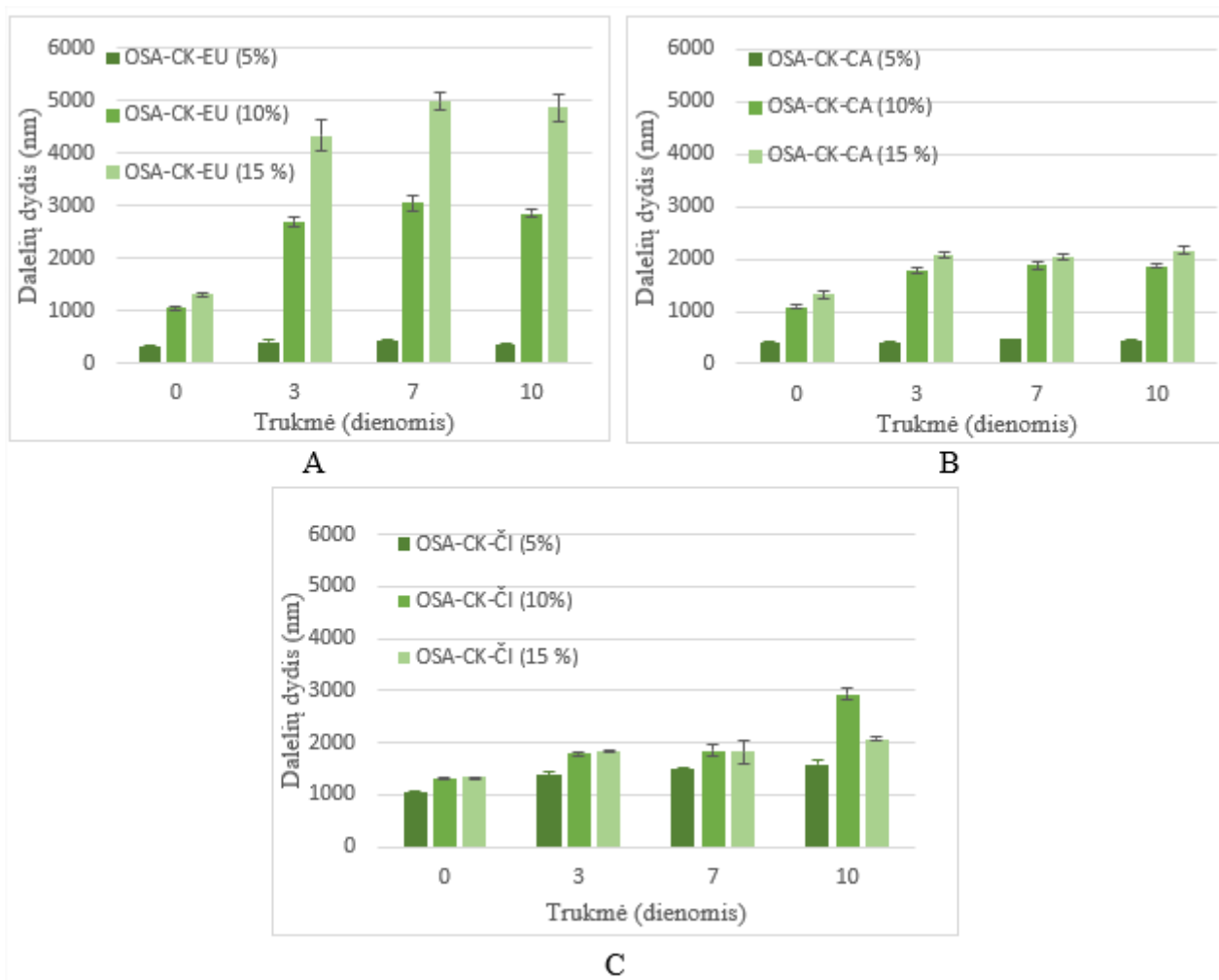
**3.2 pav.** OSA-CK-EA emulsijų dalelių dydžio pokytis per 10 dienų, laikant bandinius  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje. Emulsijos ruoštos su skirtingais eteriniais aliejais: eugenolio (A); cinamono (B) ir čiobrelių (C)

Didžiausias dalelių dydžio pokytis OSA-CK-EU ( $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje) praėjus 10 dienų laikotarpiui nustatytas OSA-CK-EU(15%) emulsijai. Pradinis šios emulsijos dalelių dydis buvo  $1307 (\pm 24,2)$

nm. Dalelių dydis po 10 dienų išaugo iki 4761 ( $\pm$  873,2) nm. Mažiausias dalelių dydžio pokytis OSA-CK-EU (25 °C temperatūroje) praėjus 10 dienų laikotarpiui nustatytas OSA-CK-EU(5%) emulsijai. Dalelių dydžio vertė pakito nuo 326 ( $\pm$  4,2) nm iki 498 ( $\pm$  46,1) nm.

Nustatyta, kad 25 °C temperatūroje laikomų emulsijų dalelių dydis priklauso nuo naudoto eterinio aliejaus rūšies, taip pat nuo šio aliejaus koncentracijos emulsijoje. Mažiausiai stabilios emulsijos pagal dalelių dydį yra tos, kurios savo sudėtyje turi didesnę eugenolio eterinio aliejaus koncentraciją. Santykinai didesnės dalelės pastebimos emulsijose, savo sudėtyje turinčiose 15% eterinio aliejaus su visais trimis eteriniais aliejais, lyginant su emulsijomis, sudėtyje turinčiomis mažesnę kiekį EA. Taip yra todėl, kad esant didesniai procentui aliejinės fazės emulsijoje, padidėja tikimybė susilieti aliejaus lašeliams – tai daro įtaką emulsijų nestabilumui.

Kadangi emulsijų stabilumas priklauso ir nuo temperatūros, kurioje šios emulsijos yra sendinamos, darbo metu buvo atlikti tyrimai tiek kambario, tiek 5 °C temperatūroje. Rezultatai pateikiami 3.3 pav.

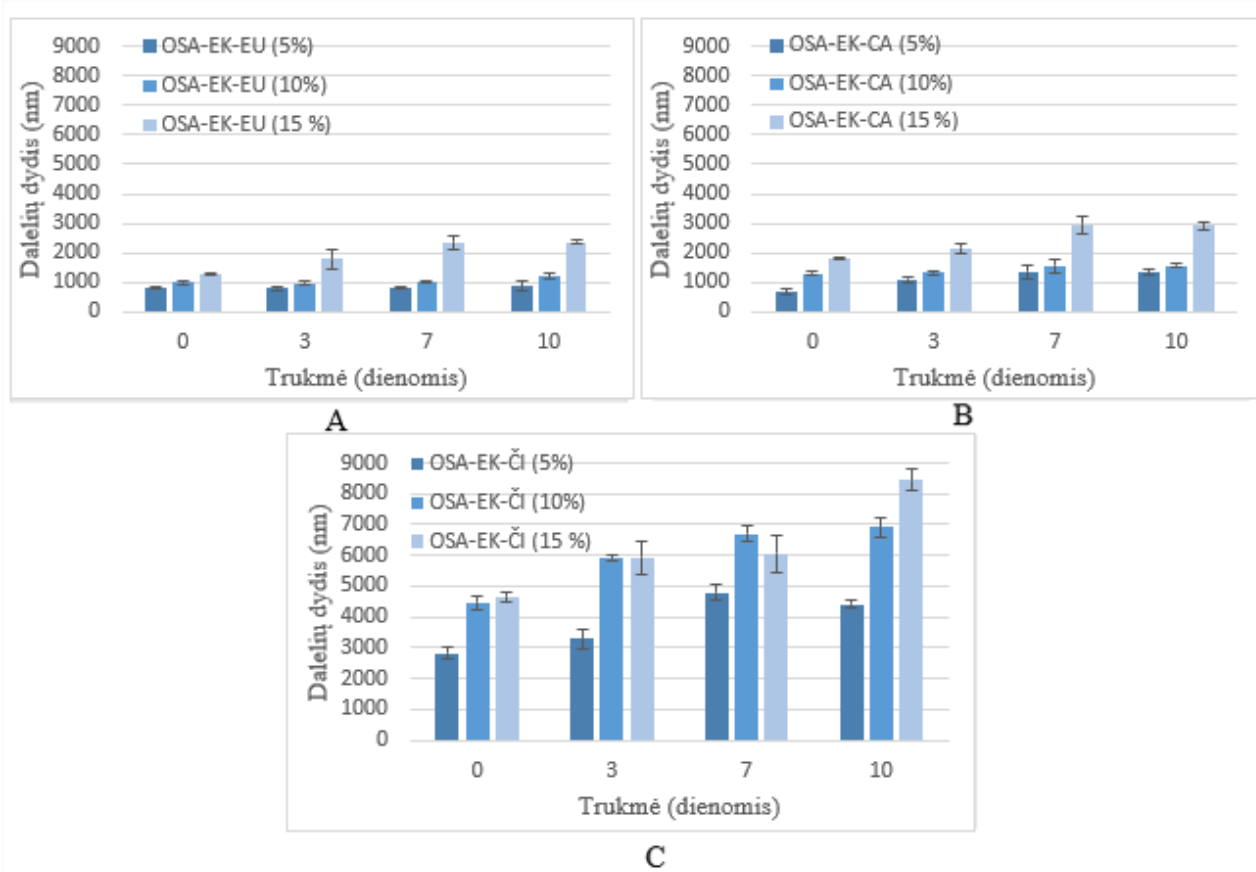


**3.3 pav.** OSA-CK-EA emulsijų dalelių dydžio pokytis per 10 dienų, laikant bandinius 5 °C temperatūroje. Emulsijos ruoštos su skirtingais eteriniais aliejais: eugenolio (A); cinamono (B) ir čiobrelių (C)

Iš gautų rezultatų (žr. 3.3 pav.) matyti, jog iš 5 °C temperatūroje laikytų OSA-CK-EA emulsijų, pagal dalelių dydžio pokyčius mažiausiai stabili yra OSA-CK-EU 15 % emulsija. Šios emulsijos dalelių dydis per 10 dienų pakito nuo 1307 ( $\pm$  303,5) nm iki 4863 ( $\pm$  257) nm. Mažiausiai dalelių dydis po 10 dienų pakito OSA-CK-EU 5 % emulsijoje.

Tiek laikant emulsijas 10 dienų 5 °C, tiek ir 25 °C temperatūroje, yra pastebima, jog stabiliausias yra emulsijos, savo sudėtyje turinčios mažiausią procentą eterinio aliejaus. Iš pateiktų rezultatų (žr. 3.2 ir 3.3 pav.) matoma, jog emulsijų, savo sudėtyje turinčių vos 5 % eterinio aliejaus, dalelių dydis beveik nepakito. Laikymo temperatūra OSA-CK-EA emulsijų dalelių dydžio pokyčiams reikšmingos įtakos neturėjo. Emulsijos, ruoštos su čiobrelių ir cinamono eteriniais aliejais, vertinant pagal dalelių dydžio pokyčius, yra stabilesnės, nei tos emulsijos, kurios buvo ruoštos su eugenoliu.

*OSA-EK-EA dalelių dydžio pokyčiai.* Buvo ištirtas OSA-EK-EA emulsijų, laikytų 25 °C bei 5 °C dalelių dydžio pokytis per 10 dienų laikotarpį. Rezultatai pateikiami 3.4 ir 3.5 pav.

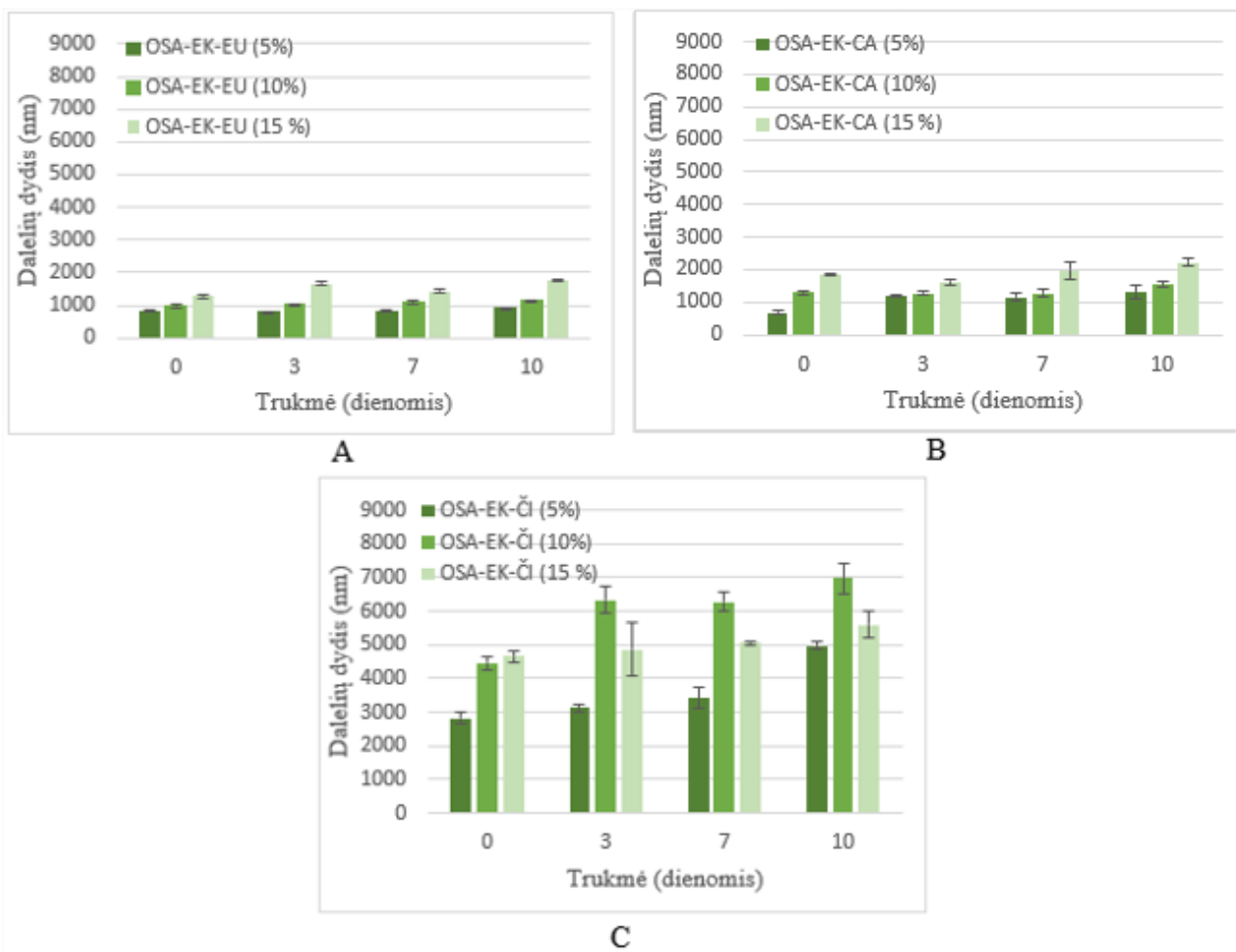


**3.4 pav.** OSA-EK-EA emulsijų dalelių dydžio pokytis per 10 dienų, laikant bandinius 25 °C temperatūroje. Emulsijos ruoštos su skirtingais eteriniais aliejais: eugenolio (A); cinamono (B) ir čiobrelių (C)

Iš anksčiau pateiktų rezultatų galima pastebėti, jog OSA-EK-EA emulsijos pasižymi kitokiomis charakteristikomis, nei OSA-CK-EA. 3.4 pav. pateikti duomenys, kaip pakito OSA-EK-EA emulsijų dalelių dydis 25 °C per 10 dienų. Vertinant pagal dalelių dydžio pokytį, mažiausiai stabilios yra emulsijos, savo sudėtyje turinčios čiobrelių eterinio aliejaus. Šiuo atveju taip pat yra aiški tendencija, jog kuo daugiau EA yra emulsijoje, tuo nestabilesnė ji yra. OSA-EK-ČIO 15 % emulsijos dalelių dydžio pradinė vertė yra 4649 ( $\pm 147,1$ ) nm, o galutinė vertė (po 10 d.) siekia net 8444 ( $\pm 338,8$ ) nm. Mažiausiai iš tirtų OSA-EK-EU emulsijų, laikytų 25 °C temperatūroje, per 10 dienų pakito OSA-EK-EU 5 % dalelių dydis. Pradinis šios emulsijos dalelių dydis yra 807 ( $\pm 24,9$ ) nm. Dalelių dydis po 10 dienų yra 864 ( $\pm 165,7$ ) nm.

Norint įvertinti temperatūros daromą įtaką OSA-EK-EA emulsijų stabilumui, taip pat atlikti dalelių dydžio tyrimai ir emulsijoms, sendintoms 5 °C temperatūroje (žr. 3.6 pav.). Didžiausios dalelės 5 °C temperatūroje po 10 d. sendinimo nustatytos OSA-EK-ČIO 10 % emulsijose. Šių emulsijų pradinis

dalelių dydis yra 4462 ( $\pm$  206,6) nm., tuo tarpu dalelių dydis po 10d. 6981 ( $\pm$  436,4) nm. Lyginant OSA-EK-EU bei OSA-EK-CA dalelių dydžio pokyčius galima pastebėti, jog 5 °C temperatūroje didžiausios dalelės nustatytos esant didžiausiam kiekiui EA. Mažiausiai per 10 d. laikotarpį pakito OSA-EK-EU 5 % emulsijų dalelių dydis. Pradinis šios emulsijos dalelių dydis (žr. 3.5 pav.) yra 807 ( $\pm$  24,9) nm, o galutinis dalelių dydis po 10 d. yra 902 ( $\pm$  18,1) nm.



**3.5 pav.** OSA-EK-EA emulsijų dalelių dydžio pokytis per 10 dienų, laikant bandinius 5 °C temperatūroje. Emulsijos ruoštos su skirtingais eteriniais aliejais: eugenolio (A); cinamono (B) ir čiobrelių (C)

*OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA dalelių dydžio ir jų stabilumo palyginimas.* Remiantis gautais rezultatais nustatyta, kad stabiliausia OSA-CK-EA emulsija (pagal dalelių dydžio pokyčio vertinimą) po 10 dienų sendinimo yra OSA-CK-EU (5 %), laikyta 5 °C temperatūroje. Atitinkamai stabiliausia OSA-EK-EA emulsija taip pat yra OSA-EK-EU (5 %), tačiau laikyta 25 °C temperatūroje. Šių emulsijų dalelių dydis per visą sendinimo laikotarpį beveik nepakito – tai reiškia, kad dispersija išliko stabili ir buvo išvengta dalelių tarpusavio susijungimo – koaguliacijos. Dėl šiluminio koloidinių dalelių judėjimo, mažos klampos OSA-CK-EA emulsijose kambario temperatūroje dalelės gali koaguliuoti greičiau, nei vėsesnėje 5 °C temperatūroje. Esant mažesnei temperatūrai šiluminis dalelių judėjimas sulėtėja ir tai padeda išvengti dispersijos suardymo. Kadangi OSA-EK-EA emulsijų klampa yra didesnė, temperatūros skirtumas turi mažesnę įtaką koaguliacijai.

Nustatyta, kad mažiausiai stabili OSA-CK-EA emulsija yra OSA-CK-EU (15 %), laikyta 5 °C temperatūroje. Tiriant emulsijas, su OSA-EK krakmolu, buvo nustatyta, kad mažiausiai stabili emulsija buvo OSA-EK-ČI (15 %). Gauti rezultatai leidžia teigti, jog emulsijų kūrimui naudojant

skirtingo tipo oktenilsukcino rūgšties anhidridu modifikuotus krakmolus, gauname skirtingų savybių ir stabilumo emulsijas.

### 3.1.2.2. Emulsijų stabilumo įvertinimas pagal jų išsisluoksniavimą

Tirtoms emulsijoms taip pat buvo atliktas stabilumo įvertinimas pagal fazių atsiskyrimą – emulsijos išsisluoksniavimą. Vertinant OSA-CK-EA emulsijų išsisluoksniavimo priklausomybę nuo temperatūros iš pateiktų rezultatų (žr. 3.2 ir 3.3 lentelės) galime teigti, jog emulsijos, savo sudėtyje turinčios eugenolio, stabilesnės išliko 5 °C temperatūroje. Kitų tirtų emulsijų stabilumui laikymo temperatūra didelės įtakos neturėjo, pastebimas tik nežymiai didesnis stabilumas laikant emulsijas žemesnėje temperatūroje.

**3.3 lentelė.** OSA-CK-EA emulsijų, laikytų 25 °C temperatūroje iki 10 dienų, stabilumo įvertinimas pagal išsisluoksniavimą, %

Bandiniai	Trukmė (dienomis)		
	3	7	10
OSA-CK-EU (5%)	97 (± 0,6)	97 (± 0,1)	89 (± 4,5)
OSA-CK-EU (10%)	81 (± 1,2)	80 (± 0,6)	80 (± 4,0)
OSA-CK-EU (15 %)	47 (± 0,2)	47 (± 0,2)	39 (± 2,0)
OSA-CK-CA (5%)	100 (± 0,0)	100 (± 0,0)	96 (± 4,0)
OSA-CK-CA (10%)	100 (± 0,0)	97 (± 2,9)	95 (± 4,8)
OSA-CK-CA (15 %)	100 (± 0,6)	97 (± 0,7)	96 (± 4,0)
OSA-CK-ČI (5%)	99 (± 0,6)	92 (± 0,2)	90 (± 4,5)
OSA-CK-ČI (10%)	98 (± 0,0)	94 (± 0,8)	94 (± 4,7)
OSA-CK-ČI (15 %)	98 (± 0,0)	94 (± 1,3)	93 (± 4,7)

**3.4 lentelė.** OSA-CK-EA emulsijų, laikytų 5 °C temperatūroje iki 10 dienų, stabilumo įvertinimas pagal išsisluoksniavimą, %

Bandiniai	Trukmė (dienomis)		
	3	7	10
OSA-CK-EU (5%)	100 (± 0,0)	100 (± 0,0)	95 (± 4,8)
OSA-CK-EU (10%)	85 (± 0,5)	85 (± 0,3)	85 (± 4,3)
OSA-CK-EU (15 %)	64 (± 2,8)	60 (± 3,7)	58 (± 2,9)
OSA-CK-CA (5%)	100 (± 0,0)	97 (± 1,5)	96 (± 4,0)
OSA-CK-CA (10%)	99 (± 0,7)	98 (± 0,9)	98 (± 2,0)
OSA-CK-CA (15 %)	98 (± 0,1)	98 (± 0,0)	98 (± 2,0)
OSA-CK-ČI (5%)	98 (± 0,0)	96 (± 0,0)	93 (± 4,7)
OSA-CK-ČI (10%)	98 (± 0,3)	95 (± 1,0)	93 (± 4,7)
OSA-CK-ČI (15 %)	99 (± 0,6)	96 (± 0,7)	96 (± 4,0)

Stabiliausios, vertinant pagal emulsijų išsisluoksniavimą, yra OSA-CK-CA 10 % ir OSA-CK-CA 15 % emulsijos, sendintos 10 dienų 5 °C temperatūroje. Šios emulsijos po 10 dienų išlaikė 98 % (± 2,0) stabilumą. Tiriant OSA-CK-EU emulsijas pastebėta, jog emulsijos, savo sudėtyje turinčios daugiau eugenolio EA, yra mažiau stabilios, nei turinčios nedidelę šio aliejaus koncentraciją. Mažiausiu stabilumu – vos 39 % (± 2,0), iš 3.2 ir 3.3 lentelėse nagrinėtų emulsijų pasižymi OSA-CK-EU 15 % emulsija, sendinta 25 °C temperatūroje. Šios rūšies emulsija taip pat mažiausiu stabilumu (58 % (± 2,9)) pasižymi ir tarp emulsijų, tirtų 5 °C temperatūroje.

Vertinant OSA-EK-EA (žr. 3.4 ir 3.5 lentelės) emulsijų išsisluoksniavimo priklausomybę nuo temperatūros, labai aiškiai matyti, jog emulsijos, laikytos 5 °C temperatūroje, išliko 100 % stabilios, kai tuo tarpu buvo pastebėtas nežymus išsisluoksniavimas 25 °C temperatūroje sendintose emulsijose.

Stabiliausios OSA-EK-EA emulsijos 25 °C temperatūroje išliko OSA-EK-EU 5%, bei OSA-EK-CA 5 %. Šių emulsijų stabilumas po 10 dienų išliko 100 %. Mažiausiai stabili OSA-EK-EA emulsija 25 °C temperatūroje – OSA-EK-ČI 5 %. Šios emulsijos stabilumas po 10 dienų sendinimo sumažėjo iki 88 % ( $\pm 5,0$ ).

**3.5 lentelė.** OSA-EK-EA emulsijų, laikytų 25 °C temperatūroje iki 10 dienų, stabilumo įvertinimas pagal išsisluoksniavimą, %

Bandiniai	Trukmė (dienomis)		
	3	7	10
OSA-EK-EU (5%)	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )
OSA-EK-EU (10%)	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )	99 ( $\pm 0,0$ )
OSA-EK-EU (15 %)	99 ( $\pm 0,9$ )	99 ( $\pm 0,9$ )	99 ( $\pm 0,0$ )
OSA-EK-CA (5%)	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )
OSA-EK-CA (10%)	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )	99 ( $\pm 0,0$ )
OSA-EK-CA (15 %)	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )	99 ( $\pm 0,0$ )
OSA-EK-ČI (5%)	89 ( $\pm 5,2$ )	88 ( $\pm 3,1$ )	88 ( $\pm 5,0$ )
OSA-EK-ČI (10%)	95 ( $\pm 2,1$ )	94 ( $\pm 0,1$ )	94 ( $\pm 5,0$ )
OSA-EK-ČI (15 %)	100 ( $\pm 0,0$ )	99 ( $\pm 0,9$ )	99 ( $\pm 1,0$ )

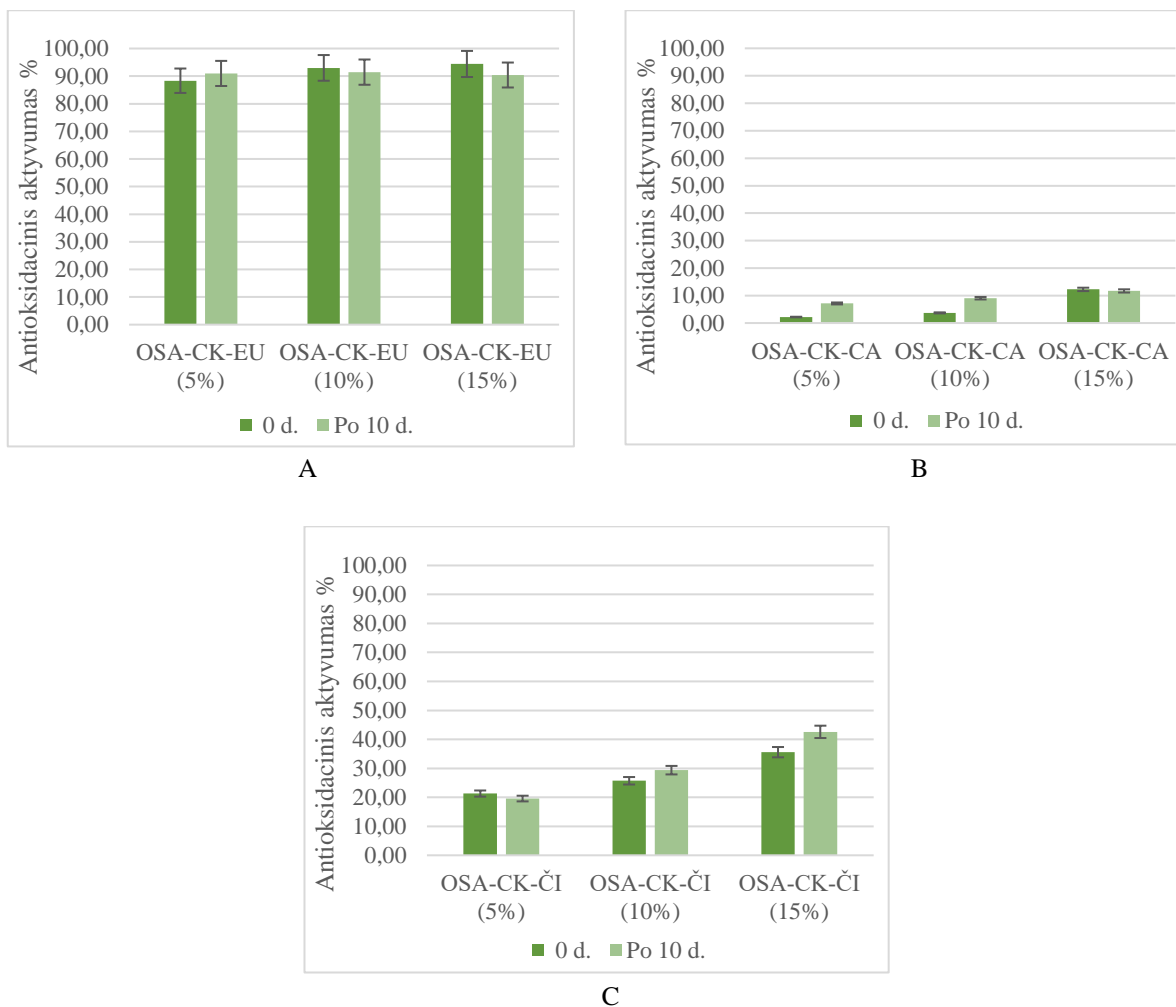
**3.6 lentelė.** OSA-EK-EA emulsijų, laikytų 5 °C temperatūroje iki 10 dienų, stabilumo įvertinimas pagal išsisluoksniavimą, %

Bandiniai	Trukmė (dienomis)		
	3	7	10
OSA-EK-EU (5%)	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )
OSA-EK-EU (10%)	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )
OSA-EK-EU (15 %)	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )
OSA-EK-CA (5%)	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )
OSA-EK-CA (10%)	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )
OSA-EK-CA (15 %)	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )
OSA-EK-ČI (5%)	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )
OSA-EK-ČI (10%)	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )
OSA-EK-ČI (15 %)	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )	100 ( $\pm 0,0$ )

### 3.1.3. Hidrofobiškai modifikuoto krakmolo ir eterinių aliejų emulsijų antioksidacinių savybių tyrimai

Antioksidantai, naudojami maisto pakuočių gamyboje dažnai yra sintetiniai ir kelia susirūpinimą dėl neigiamos įtakos žmonių sveikatai. Dėl savo natūralios kilmės bei mažesnių jiems taikomų apribojimų, atsirado didelis susidomėjimas antioksidantais, kurie yra išgaunami iš augalų [82].

*OSA-CK-EA emulsijų antioksidacinių savybių tyrimai.* Buvo nustatytas OSA-CK-EA emulsijų, laikytų 5 °C ir 25 °C temperatūroje antioksidacinis aktyvumas. Šiuo tyrimu buvo siekiama nustatyti, kaip kinta emulsijų antioksidacinės savybės jas sendinant 10 dienų. Rezultatai pateikiami 3.6 ir 3.7 pav.



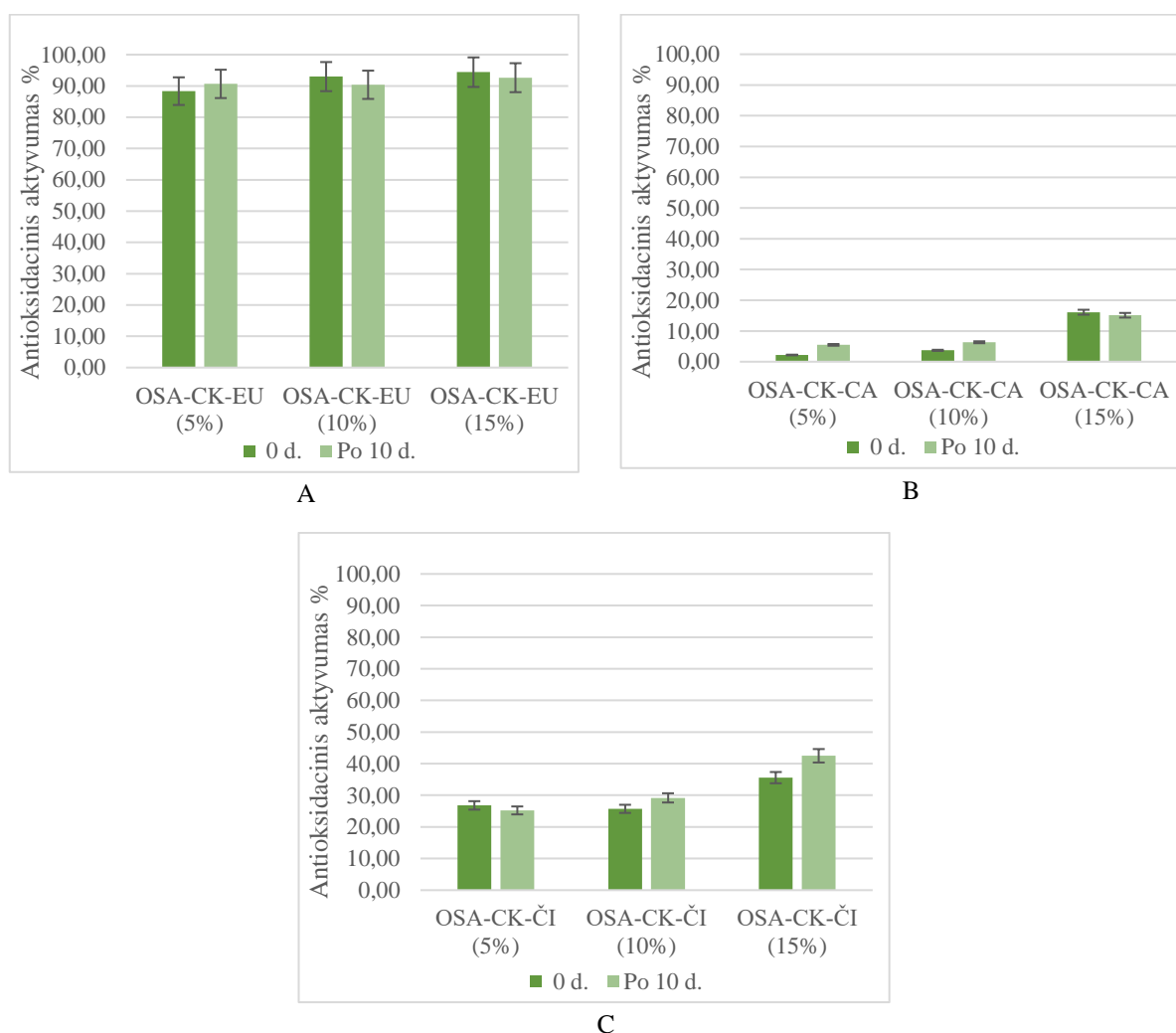
**3.6 pav.** OSA-CK-EA emulsijų antioksidacinio aktyvumo pokytis po 10 dienų, laikant bandinius 25 °C temperatūroje. Emulsijos ruoštos su skirtingais eteriniais aliejais: eugenolio (A); cinamono (B) ir čiobrelių (C)

Emulsijų antioksidacinės savybės įvertintos naudojant 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilo (DPPH) metodą. Iš duomenų, kurie pateikti 3.6 pav. matyti, jog didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu iš tirtų OSA-CK-EA emulsijų, pasižymi tos emulsijos, kurios savo sudėtyje turi eugenolio. OSA-CK-EU emulsijos antioksidacinis aktyvumas buvo iki  $94,4 \pm 4,72$  %, ir beveik nepriklausė nuo eugenolio kiekio kompozicijoje. Skirtingai, tiriant OSA-CK-ČI emulsijas, galima stebėti didėjančią antioksidacinio efektyvumo priklausomybę nuo įdėto ČI kiekio. Šioje emulsijoje didinant eterinio aliejaus kiekį nuo 5 iki 15 %, antioksidacinio aktyvumo vertės buvo nuo  $19,58 \pm 0,97$  iki  $42,59 \pm 2,13$  %.

Mažiausias antioksidacinis aktyvumas nustatytas emulsijoms, kuriose yra cinamono eterinio aliejaus. OSA-CK-CA 15% emulsijos pradinio bandinio antioksidacinis aktyvumas siekė vos  $2,18 \pm 0,1 - 3,7 \pm 0,18$  %.

Vertinant laiko daromą įtaką OSA-CK-EA emulsijų antioksidaciniam aktyvumui galima pastebėti, jog dideliu antioksidaciniu aktyvumu pasižyminčių OSA-CK-EU emulsijų šis rodiklis nežymiai sumažėjo. O emulsijų, kurios savo sudėtyje turėjo cinamono ir čiobrelių eterinio aliejaus, antioksidacinis aktyvumas nežymiai padidėjo. Tai galima paaikškinti įvertinant žmogiškąją paklaidą – matuojant antioksidacinį aktyvumą po 10 dienų emulsija nebėra tokia stabili, kaip pradinio bandinio.

Kadangi dispersija ne vienalytė, į bandinį galėjo patekti didesnė koncentracija EA, kas nulemia „padidėjusį“ antioksidacinį aktyvumą.



**3.7 pav.** OSA-CK-EA emulsijų antioksidacinio aktyvumo pokytis po 10 dienų, laikant bandinius 5 °C temperatūroje. Emulsijos ruoštos su skirtingais eteriniais aliejais: eugenolio (A); cinamono (B) ir čiobrelių (C)

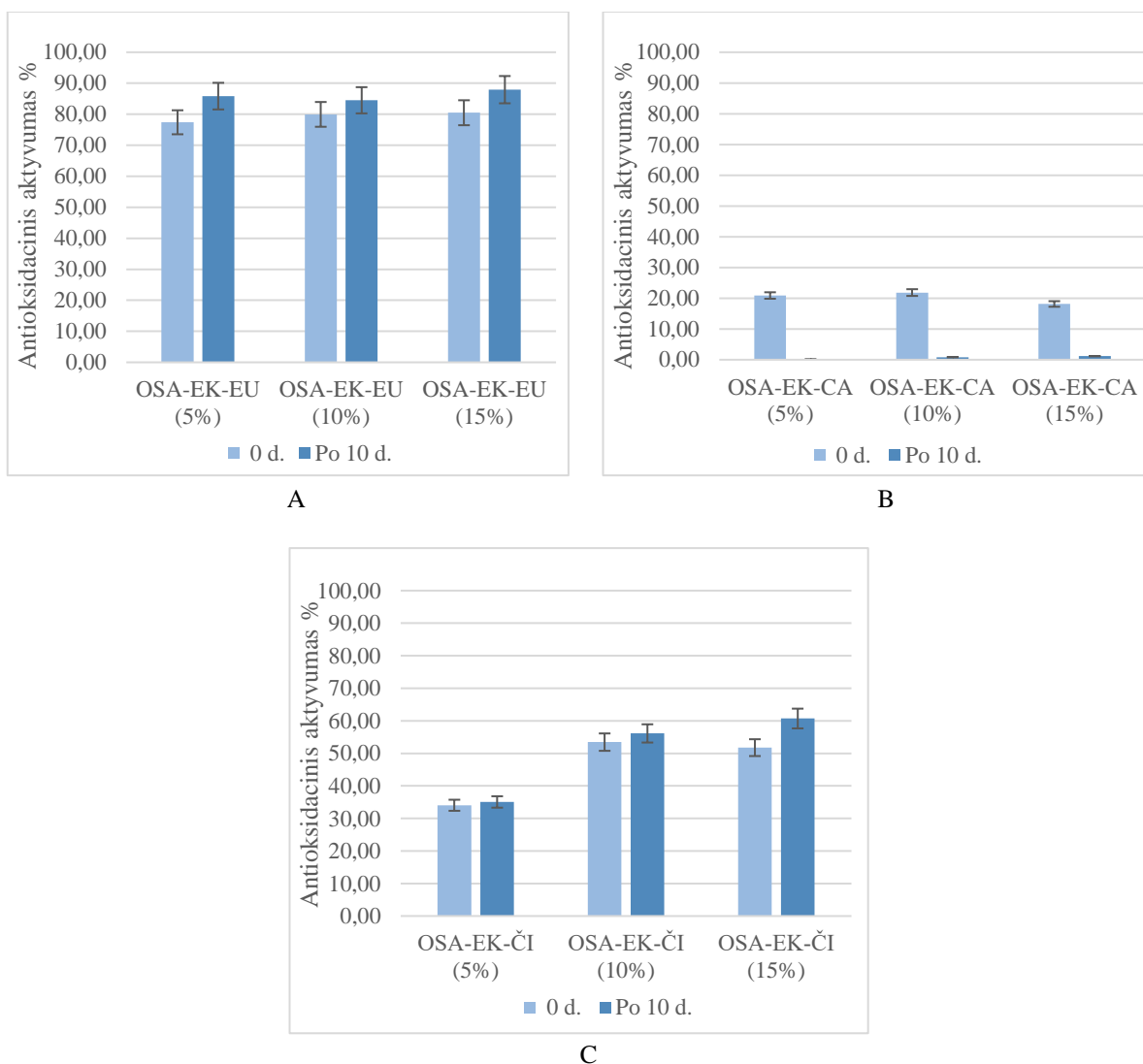
Iš gautų rezultatų (žr. 3.6 ir 3.7 pav.) galima pastebėti, jog 25 °C ir 5 °C temperatūroje 10 dienų laikant emulsijas, temperatūra antioksidaciniam aktyvumui didelės įtakos neturi. OSA-CK-EU emulsijų, laikytų 25 °C temperatūroje, antioksidacinis aktyvumas po 10 dienų buvo  $90,97 \pm 4,5 - 90,4 \pm 4,5 \%$ . Tuo tarpu šių emulsijų, laikytų 10 dienų 5 °C temperatūroje, antioksidacinis aktyvumas yra  $90,65 \pm 4,5 - 92,63 \pm 4,6 \%$ . OSA-CK-EU emulsijos, laikytos žemesnėje (5 °C) temperatūroje šiek tiek geriau išlaikė savo antioksidacinį aktyvumą.

*OSA-EK-EA emulsijų antioksidacinių savybių tyrimai.* Antioksidacinis aktyvumas taip pat buvo išmatuotas emulsijoms, ruoštomis su OSA-EK. Rezultatai pateikiami 3.8 ir 3.9 pav.

Atitinkamai kaip ir iš OSA-CK-EA emulsijų, laikytų 25 °C temperatūroje (žr. 3.6 pav.) didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo OSA-EK-EU emulsija, savo sudėtyje turinti didžiausią koncentraciją eugenolio eterinio aliejaus (žr. 3.8 pav.). OSA-EK-EU pradinių bandinių antioksidacinis aktyvumas 25 °C temperatūroje siekia  $77,41 \pm 3,8 - 80,49 \pm 4,02 \%$ . Taip pat sąlyginai



aukštu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo ir čiobrelių eterinio aliejaus turinčios emulsijos ( $34,04 \pm 1,7 - 53,45 \pm 2,7 \%$ ).

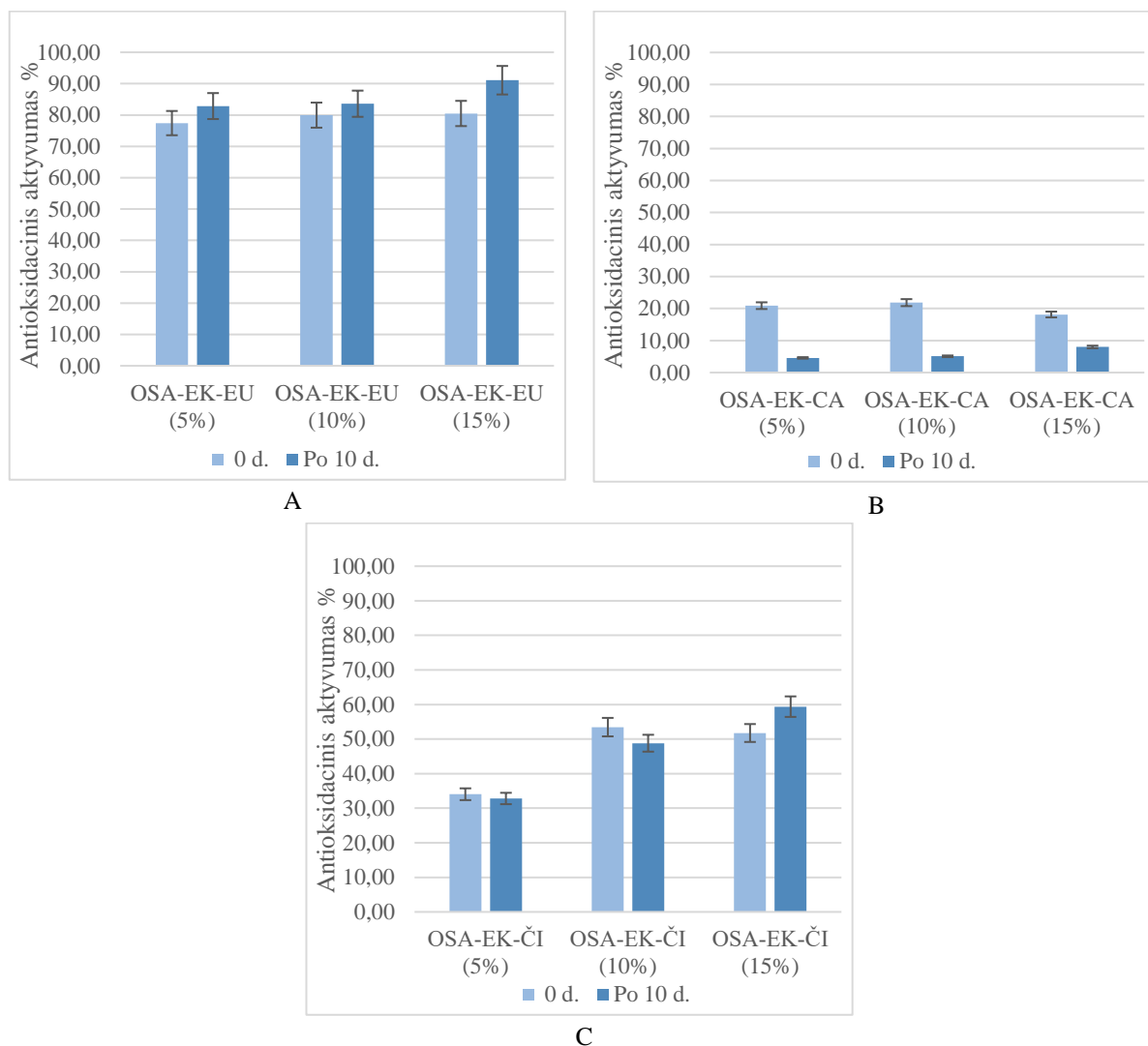


**3.8 pav.** OSA-EK-EA emulsijų antioksidacinio aktyvumo pokytis po 10 dienų, laikant bandinius  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje. Emulsijos ruoštos su skirtingais eteriniais aliejais: eugenolio (A); cinamono (B) ir čiobrelių (C)

Iš pateiktų rezultatų galima pastebėti (žr. 3.8 pav.), jog OSA-EK-EU ir OSA-EK-ČI emulsijos, turinčios didesnę koncentraciją eterinio aliejaus, pasižymi geresniu antioksidaciniu aktyvumu. Taip pat buvo atliktas OSA-EK-EA emulsijų, laikytų  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  antioksidacinių savybių tyrimas ir įvertintas jų kitimas po 10 dienų laikotarpio.

Vertinant temperatūros daromą įtaką emulsijų antioksidacinėms savybėms galima pastebėti, jog OSA-EK-CA emulsijos geriau išlaikė savo antioksidacinį poveikį esant žemesnei temperatūrai. OSA-EK-CA, laikytų  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, antioksidacinis aktyvumas po 10d. buvo  $0,08 \pm 0,004 - 1,17 \pm 0,06 \%$ . Tuo tarpu šių emulsijų, laikytų  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje antioksidacinis aktyvumas po 10 dienų yra  $4,58 \pm 0,2 - 7,99 \pm 0,4 \%$ .

OSA-EK-EU ir OSA-EK-ČI emulsijų antioksidacinis aktyvumas po 10 dienų 5 °C temperatūroje (žr. 3.9 pav.) yra šiek tiek padidėjęs, tačiau šis augimas – paklaidų ribose. Šių emulsijų antioksidaciniam aktyvumui laikymas skirtingose temperatūrose įtakos turėjo labai mažai.



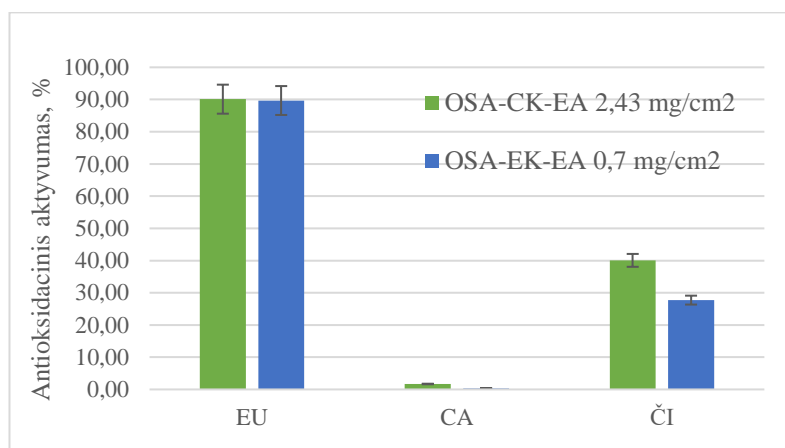
**3.9 pav.** OSA-EK-EA emulsijų antioksidacinio aktyvumo pokytis po 10 dienų, laikant bandinius 5 °C temperatūroje. Emulsijos ruoštos su skirtingais eteriniais aliejais: eugenolio (A); cinamono (B) ir čiobrelių (C)

OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA emulsijų antioksidacinių savybių palyginimas. Įvertinus (žr. 3.6 – 3.9 pav.) gautus rezultatus galima pastebėti, jog antioksidaciniam emulsijų aktyvumui įtakos turi ne vien naudojamo eterinio aliejaus koncentracija bei rūšis, bet ir emulsiklio (hidrofobiškai modifikuoto krakmolo) tipas. Buvo nustatyta, jog OSA-CK-EU emulsijų antioksidacinis aktyvumas buvo nuo  $88,33 \pm 4,42$  iki  $94,4 \pm 4,72$  %, tuo tarpu OSA-EK-EU emulsijų antioksidacinis aktyvumas kito nuo  $77,41 \pm 3,8$  iki  $80,49 \pm 4,02$  %. Taigi, norint pasiekti didesnį emulsijos antioksidacinį aktyvumą naudojant eugenolį, tinkamesnis emulsiklis yra OSA-CK. Nepaisant to, ne visos emulsijos, ruoštos su OSA-CK krakmolu pasižymėjo geresnėmis antioksidacinėmis savybėmis. OSA-CK-ČI emulsijų antioksidacinis aktyvumas siekia vos  $19,58 \pm 0,97$  –  $35,58 \pm 1,8$  %, tačiau OSA-EK-ČI šis aktyvumas siekia net  $34,04 \pm 1,7$  –  $53,45 \pm 2,7$  %. Skirtingus rezultatus gali lemti nevienodas eterinių aliejų imobilizavimas kelių tipų hidrofobiškai modifikuotame krakmole, kas gali lemti skirtingą veikliųjų junginių atpalaidavimą reakcijos mišinyje, tiriant antioksidacines savybes DPPH metodu.

### 3.2. Eterinių aliejų turinčių veikliųjų dangų gavimas ir tyrimai

Vienas iš būdų, kaip galima emulsijas, savo sudėtyje turinčias eterinių aliejų, pritaikyti veikliųjų maisto pakuočių gamybai, yra veikliųjų dangų ruošimas ant pakavimo medžiagos. Aktyvūs eterinių aliejų komponentai, esantys veikliosiose pakuotėse galėtų padėti išlaikyti maisto produktus šviežesnius ir prailginti jų galiojimo laiką, nenaudojant žmogui žalingų sintetinių medžiagų. Kadangi eteriniai aliejai yra lakūs junginiai, jų imobilizavimas hidrofobiškai modifikuotame krakmole, padėtų aktyviems komponentams ilgiau išlikti veikliosiose pakuotėse [83].

Šiame darbe veikliosios dangos buvo ruošiamos ant popieriaus naudojant OSA-CK-EA ir OSA-EK-EA emulsijas. Kadangi ankstesniais tyrimais (žr. 3.1.3 skyrių) buvo nustatyta, jog didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymi emulsijos, savo sudėtyje turinčios didžiausią eterinio aliejaus koncentraciją, dangų gamybai buvo naudotos emulsijos, turinčios 15 % eterinio aliejaus. Naudojant dangų liejimo įrangą, specialia profiliuota lazdele popierius buvo padengtas plonu emulsijos sluoksniu. Po 14 dienų laikymo nustatytos gautų dangų antioksidacinės savybės. Gauti rezultatai pateikti 3.10 pav.



**3.10 pav.** OSA-EK-EA ir OSA-CK-EA veikliųjų dangų antioksidacinių savybių palyginimas. Tyrimai atlikti po 14 dienų laikymo 25 °C temperatūroje

Buvo apskaičiuotas dangos kiekis ant popieriaus (mg/cm<sup>2</sup>): viename kvadratiname centimetre OSA-CK-EA dangos buvo vidutiniškai  $2,43 \pm 0,18$  mg, o OSA-EK-EA vidutiniškai  $0,7 \pm 0,9$  mg. Iš gautų duomenų (žr. 3.10 pav) matyti, jog didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu ( $90,11 \pm 4,5$  %) pasižymi OSA-CK-EU (15 %) emulsijos danga. Labai mažai skiriasi ir OSA-EK-EU dangos antioksidacinis aktyvumas. Nors šios dangos viename cm<sup>2</sup> popieriaus yra santykinai mažiau, nei OSA-CK-EU, tačiau ji taip pat pasižymi dideliu antioksidaciniu aktyvumu ( $87,09 \pm 4,35$  %). Kiek didesnis skirtumas pastebimas tarp dangų, turinčių savo sudėtyje čiobrelių eterinio aliejaus, antioksidacinio aktyvumo. OSA-CK-ČIO danga pasižymėjo  $40,07 \pm 2,0$  % antioksidaciniu aktyvumu, tuo tarpu OSA-EK-ČI – tik  $27,73 \pm 1,39$  %. Dangos, ruoštos iš emulsijų, turinčių savo sudėtyje cinamono eterinio aliejaus, antioksidaciniu aktyvumu nepasižymėjo.

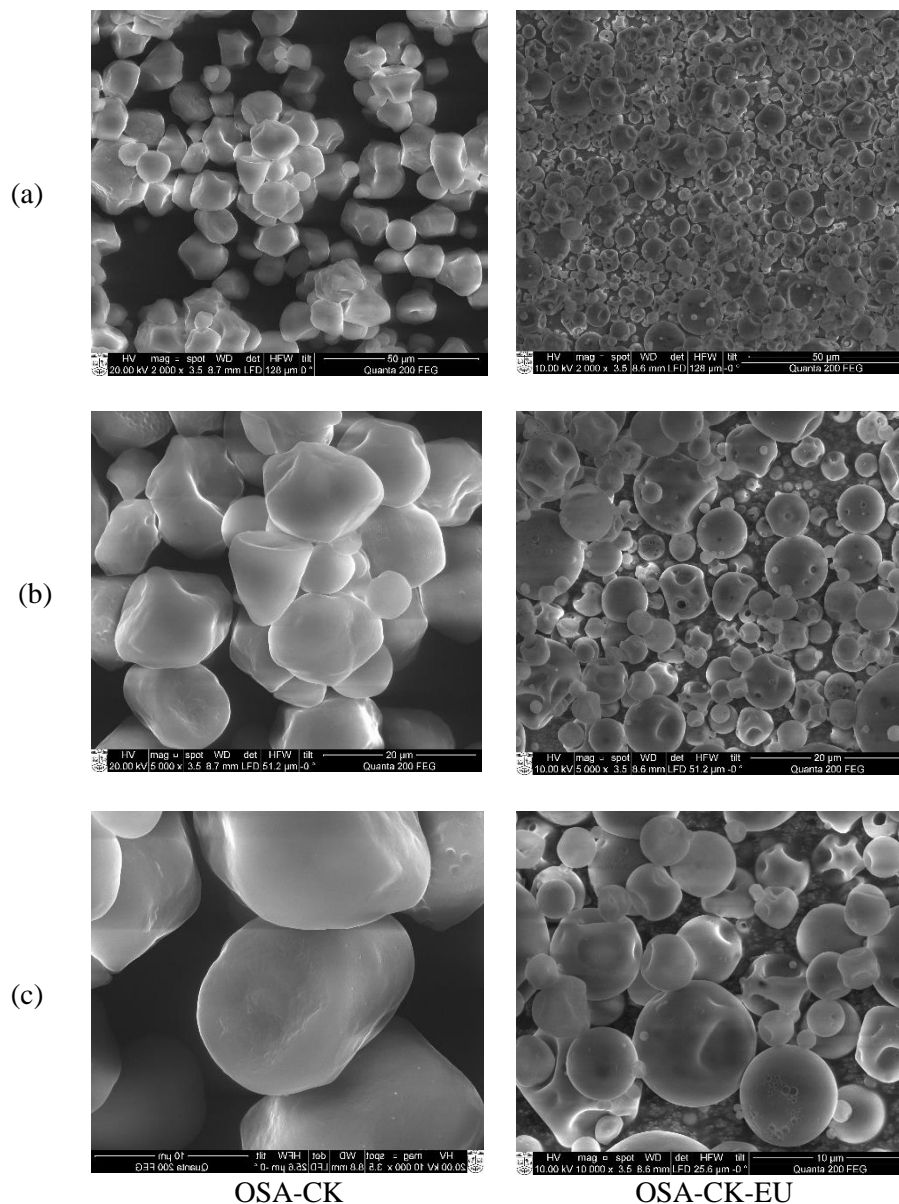
### **3.3. Eugenolio imobilizavimas hidrofobiškai modifikuotame krakmole purkštuvinio džiovavimo būdu ir tyrimai**

Šiame darbe buvo atliktas eugenolio imobilizavimas hidrofobiškai modifikuotame krakmole purkštuvinio džiovavimo būdu. Imobilizavimui buvo pasirinkta emulsija, turinti eugenolio ir OSA-CK tipo krakmolo, dėl keletos priežasčių. Remiantis anksčiau aptartais rezultatais (*žr. 3.1.3 skyrių*) eugenolio turinčios emulsijos pasižymėjo stipriausiomis antioksidacinėmis savybėmis. Be to, lyginant su kito tipo t.y. OSA-EK-EU emulsija, OSA-CK-EU emulsija buvo tinkamesnė purkštuviniam džiovavimui dėl mažos mišinio klampos, esant 5 kartus didesniam krakmolo sausų medžiagų kiekiui.

Eugenolio imobilizavimas purkštuvinio džiovavimo būdu turi privalumų, tiek stabilizuojat aktyvųjį junginį, gaunant sauso pavidalo produktą, tiek praplečiant jo pritaikymo galimybes. Medžiagą, gautą purkštuvinio džiovavimo metu yra lengviau sandėliuoti ir transportuoti, ji yra ne tokia jautri temperatūros pokyčiams, lyginant su emulsijomis. Yra gana daug hidrofobiškai modifikuotame krakmole imobilizuoto eugenolio galimų panaudojimo krypčių, viena jų - maisto dangų/plėvelių gamybai. Tokia medžiaga galėtų būti įterpta į maisto plėveles, ir veikti kaip natūralus antioksidantas.

#### **3.3.1. Purkštuvinio džiovavimo būdu gautų OSA-CK-EU miltelių skenuojamoji elektroninė mikroskopija**

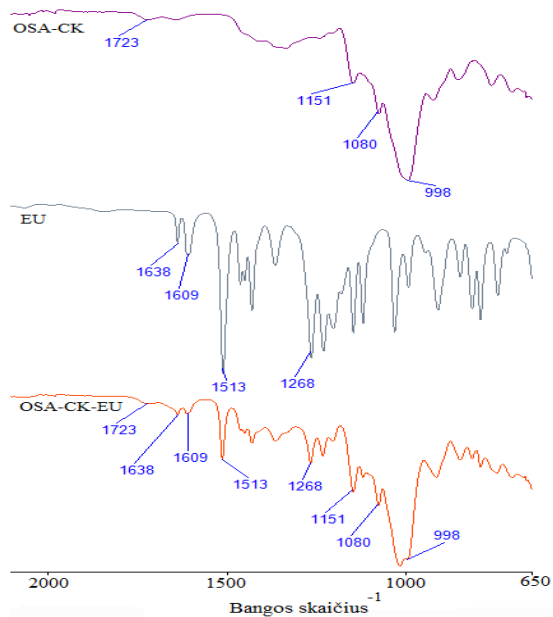
Darbe buvo atlikta OSA-CK krakmolo bei OSA-CK-EU miltelių, gautų purkštuvinio džiovavimo metu, skenuojamoji elektroninė mikroskopija (SEM). SEM nuotraukos gautos esant 2000, 5000 ir 10000 kartų didinimams ir pateiktos 3.11 pav. Purkštuvinio džiovavimo būdu gautos OSA-CK-EU dalelės yra sferinės, apvalios ir turinčios gana lygų paviršių. Tuo tarpu pradinės OSA-CK medžiagos dalelės yra netaisyklingos formos, kamputesnės. Jų paviršius nėra visiškai lygus. OSA-CK-EU dalelės, gautos purkštuvinio džiovavimo metu yra mažesnės bei taisyklingesnės formos, lyginant su OSA-CK krakmolo dalelėmis. OSA-CK dalelių skersmuo vyravo nuo 10 – 15  $\mu\text{m}$ , o OSA-CK-EU dalelių skersmuo buvo ženkliai mažesnis t.y. nuo 1 – 8  $\mu\text{m}$ .



**3.11 pav.** OSA-CK ir purkštuvinio džiovavimo būdu gautų OSA-CK-EU miltelių SEM nuotraukos, esant didinimams: (a) – 2000; (b) – 5000; (c) – 10 000.

### 3.3.2. Purkštuvinio džiovavimo būdu gautų OSA-CK-EU miltelių FT-IR tyrimai

Purkštuvinio džiovavimo būdu gautiems OSA-CK-EU milteliams charakterizuoti buvo užrašyti jų FT-IR spektrai. Palyginimui pateikti ir jų pradinių medžiagų OSA-CK bei EU FT-IR spektrai (3.12 pav.). OSA-CK spektre smailės ties 1147, 1078 ir 1000  $\text{cm}^{-1}$  būdingos C-O virpesiams, o smailė ties 1722  $\text{cm}^{-1}$  – C=O virpesiams [84-86]. Analizuojant, eugenolio FT-IR spektrą, randamos jam būdingos smailės ties 1638, 1609, 1513 ir 1268  $\text{cm}^{-1}$ , atitinkamai, rodančios C=C aromatinio žiedo ir C-O virpesius [87]. Purkštuvinio džiovavimo būdu gautų OSA-CK-EU miltelių FT-IR spektre galima matyti pagrindines OSA-CK ir EU komponentams būdingas smailes.

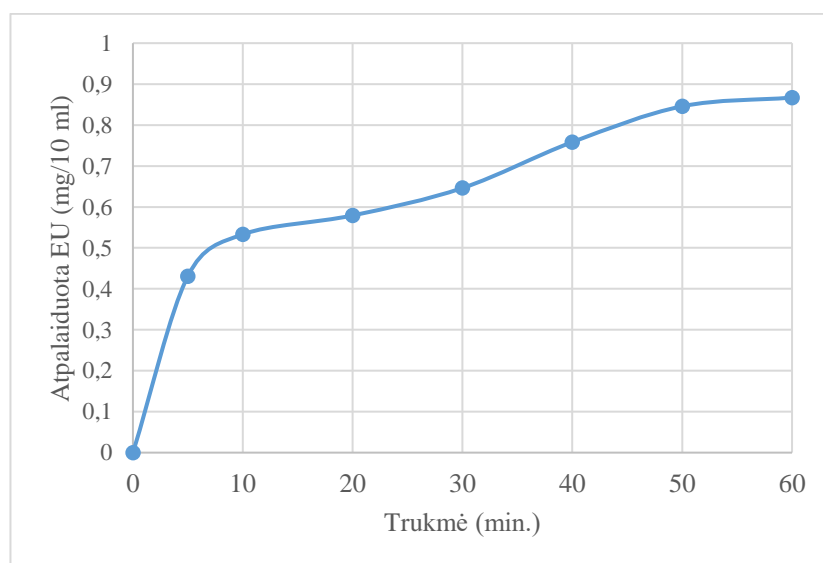


3.12 pav. OSA-CK-EU, OSA-CK ir EU FT-IR spektrai

### 3.3.3. Eugenolio atpalaidavimo iš OSA-CK-EU miltelių tyrimai

Siekiant nustatyti, ar eugenolis atsipalaiduoja iš purkštuvinio džiovinimo būdu gautų OSA-CK-EU miltelių, buvo atliktas eugenolio atpalaidavimo etanolyje tyrimas. Pagal 2.3 formulę (žr. 2.2.11 sk.) buvo apskaičiuotas atpalaiduoto eugenolio kiekis.

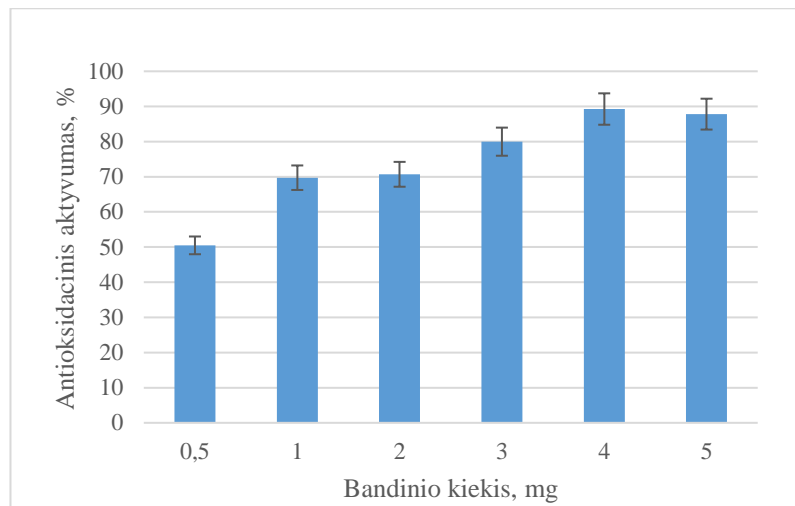
OSA-CK-EU miltelių, gautų purkštuvinio džiovinimo būdu, atpalaidavimo tyrimas buvo atliktas į 96 % etanolį, ir nustatyta, koks kiekis eugenolio atsipalaiduoja iš tiriamos medžiagos per 60 minučių. Sparčiausiai eugenolis yra atpalaiduojamas per pirmas 10 minučių – atsipalaiduoja net 0,53 mg eugenolio. Tyrimo metu nustatyta, kad per 60 minučių į 10 ml etanolio terpę atsipalaiduoja 0,87 mg eugenolio t.y. 35 % nuo teoriškai galimo.



3.13 pav. Eugenolio atpalaidavimo iš OSA-CK-EU miltelių į etanolį priklausomybė nuo trukmės

### 3.3.4. OSA-CK-EU miltelių antioksidacinių savybių tyrimai

Norint panaudoti OSA-CK-EU miltelius veikliųjų pakuočių gamybai yra labai svarbus eugenolio antioksidacinis aktyvumo įvertinimas. Šio tyrimo metu buvo siekiama nustatyti, ar eugenolis purkštuvinio džiovinimo būdu imobilizuotas hidrofobiškai modifikuotame krakmole nepraranda savo antioksidacinių savybių.



**3.14 pav.** OSA-CK-EU miltelių antioksidacinių savybių priklausomybė nuo bandinio kiekio

Iš rezultatų, pateiktų grafike (žr. 3.14 pav) matoma, jog tiriant 0,5mg – 5mg miltelių antioksidacinį aktyvumą, jis kito nuo  $50,48 \pm 2,52$  iki  $89,26 \pm 4,46$  %. Iš šių duomenų galima spręsti, jog eugenolis, kuris yra imobilizuotas purkštuvinio džiovinimo metu hidrofobiškai modifikuotame OSA-CK krakmole savo antioksidacinio aktyvumo nepraranda.

#### 4. Rekomendacijų dalis

Apibendrinant darbe atliktus tyrimus ir taikytus metodus, galima išskirti šiuos pradinis veikliųjų pakuočių kūrimo proceso etapus (žr. 4.1 pav.):

1) **Emulsijų paruošimas** – emulsiklis (hidrofobiškai modifikuotas krakmolas) tirpinamas 70 ° C distiliuotame vandenyje, tirpalas atvėsinaamas. Į krakmolo tirpalą dedamas reikiamas kiekis eterinio aliejaus ir emulsija disperguojama 10 000 aps./min. greičiu, 5 arba 10 min priklausomai nuo emulsiklio tipo.

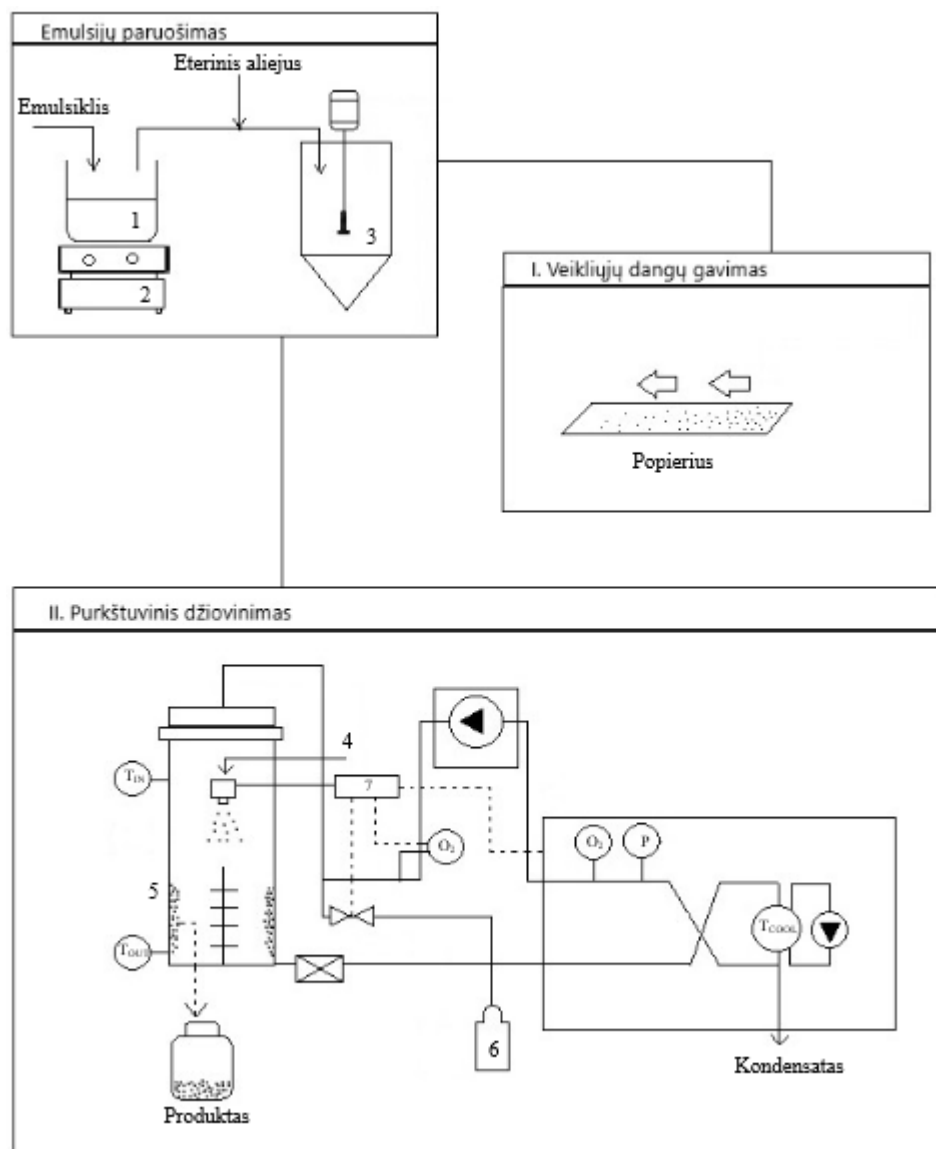
2) **Veikliųjų dangų gavimas** – 15 % eterinio aliejaus ir hidrofobiškai modifikuoto krakmolo emulsijos liejamos ant popieriaus, naudojant dangų liejimo įrangą. Dangos džiovinaamos ir sandariai supakuotos saugomos kambario temperatūroje.

3) **Eterinio aliejaus imobilizavimas purkštuvinio džiovavimo būdu** – purkštuvinio džiovavimo metu naudojamas dujos (oras) patenka į aparatą iš viršaus, tada yra kaitinama iki nustatytos temperatūros ir teka per džiovavimo kamerą. Pratekėjusios pro kamerą dujos yra nufiltruojamos ir pašalinama iš aparato per išleidimo angą, esančią prietaiso apačioje. Bandinys siurbliu paduodamas į išpurškimo galvutę. Naudojamas purkštukas turintis 7 μm dyžio poras membranoje. Lašeliai išpurškiami pro ploną membraną, kurie dėl aukštos temperatūros džiovinami ir virsta kietomis dalelėmis. Elektrostatinis krūvis nukreipia šias kietas daleles ant surenkamojo elektrodo. Kai elektrodas pasidengia plonu bandinio dalelių sluoksniu, dalelės pašalinamos nuo elektrodo naudojant guminę mentelę, tokiu būdu surenkant gautą produktą.

Eterinių aliejų imobilizavimas ir panaudojimas veikliųjų pakuočių gamyboje yra sudėtingas procesas, todėl turi būti atlikta dar daug tyrimų, siekiant optimizuoti veikliųjų pakuočių gamybos technologiją. Tolimesniuose tyrimuose būtų tikslinga iširti miltelių, gautų purkštuvinio džiovavimo metodu, panaudojimo veikliųjų pakuočių kūrime galimybes. Svarbu optimizuoti šių miltelių įterpimo į veiklias pakuotes technologiją bei iširti, ar milteliai, įterpti į maisto pakuotes nepraranda savo antioksidacinio aktyvumo.

Rekomenduojama nustatyti, kokį poveikį imobilizuoti eteriniai aliejai daro šiose pakuotėse laikomiems maisto produktams – kaip keičia produkto skonį, kvapą, taip pat ar daro teigiamą įtaką produkto galiojimo laikui. Rekomenduojama iširti antimikrobinį imobilizuotų eterinių aliejų poveikį prieš mikrobus, gadinančius maisto produktus.





**4.1 pav.** Eterinių aliejų, naudojamų veikliųjų pakuočių gamybai, imobilizavimo ir veikliųjų dangų gavimo aparatūrinė schema. 1 – vanduo, 2 – kaitinimo elementas, 3 – dispergatorius; 4 – maitinimas, 5 – surenkamas produktas, 6 – oras, 7 – valdiklis.

## Išvados

1. Paruoštos ir ištirtos cinamono aldehido, eugenolio, čiobrelių eterinio aliejaus ir kelių tipų modifikuoto krakmolo turinčios emulsijos. Emulsijų dalelių dydis priklausė nuo naudoto krakmolo tipo, eterinio aliejaus rūšies ir jo koncentracijos emulsijoje:
  - 1.1 Emulsijoms ruošti naudojant 25 % dekstruotą krakmolo oktenisukcinatą, gautos mažesnės emulsijų dalelės nei naudojant 5 % preželatinizuotą krakmolo oktenilsukcinatą.
  - 1.2 Didžiausias dalelių dydis nustatytas emulsijose su čiobrelių eteriniu aliejumi. Šių emulsijų dalelių dydis buvo 1,0 – 1,3  $\mu\text{m}$  ir 2,8 – 4,7  $\mu\text{m}$  intervaluose, atitinkamai, naudojant dekstruotą ir preželatinizuotą krakmolo oktenilsukcinatą.
  - 1.3 Ruošiant emulsijas turinčias 5 % eterinio aliejaus nuo emulsijos masės, mažiausios dalelės (362 nm) gautos eugenolio ir dekstruoto krakmolo oktenisukcinato emulsijoje.
2. Emulsijų stabilumas įvertintas pagal dalelių dydžio pokyčius ir emulsijų išsisluoksniavimą laikant bandinius iki 10 parų kambario ir 5 °C temperatūrose. Emulsijų stabilumas priklausė nuo naudojamo eterinio aliejaus kiekio, jo koncentracijos, modifikuoto krakmolo tipo ir laikymo sąlygų:
  - 2.1 Emulsijų dalelių dydis liko mažai pakitęs emulsijose su mažiausiu eterinio aliejaus kiekiu (5 %).
  - 2.2 Stebint emulsijų išsisluoksniavimą, emulsijos turinčios preželatinizuoto krakmolo oktenilsukcinato buvo stabilesnės, galimai, dėl didesnės jų klampos.
  - 2.3 Emulsijoms laikyti palankesnė 5 °C temperatūra.
3. Antioksidaciniam emulsijų aktyvumui įtakos turi ne tik eterinio aliejaus rūšis, ar koncentracija, bet ir modifikuoto krakmolo tipas emulsijoje. Didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu (iki 94 %) pasižymėjo eugenolio, o mažiausiu – cinamono aldehido (iki 16 %) turinčios dekstruoto krakmolo oktenilsukcinato emulsijos.
4. Priklausomai nuo modifikuoto krakmolo tipo, buvo gautos 0,7 mg/cm<sup>2</sup> ir 1,43 mg/cm<sup>2</sup> sausų emulsijos medžiagų turinčios dangos ant popieriaus. Didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu (iki 90 %) pasižymėjo dangos turinčios eugenolio, o dangos su cinamono aldehidu nebuvo veiklios.
5. Purkštuvinio džiovavimo metodu eugenolis buvo imobilizuotas dekstruotame krakmolo oktenisukcinate:
  - 5.1 Gautų miltelių morfologija ir sudėtis charakterizuota skenuojamosios elektroninės mikroskopijos ir Furje transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopijos tyrimais.
  - 5.2 Imobilizuotas eugenolis nepraranda savo antioksidacinio aktyvumo ir gali būti atpalaiduotas etanolyje. Nustatyta, jog per 60 minučių į etanolio terpę atpalaiduojama 35 % eugenolio nuo teoriškai galimo.

## Literatūros sąrašas

1. BORAGNO L, STAGNARO P, LOSIO S, SACCHI M C, MENICHETTI S, VIGLIANISI C, PIERGIOVANNI L, LIMBO S, LDPE-based blends and films stabilized with nonreleasing polymeric antioxidants for safer food packaging, 2011, Prieiga per doi:10.1002/app.35516
2. DID I, Use of Essential Oils in Food Packaging, *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, 2016, 14, 139–147. Prieiga per doi: 10.1016/B978-0-12-416641-7.00014-6
3. RUIZ-NAVAJAS Y., VIUDA-MARTOS M., SENDRA E., PEREZ-ALVAREZ J.A., FERNÁNDEZ-LÓPEZ J., In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils, *Food Control*, 30, 2013, 386–392.
4. CASSEL E., VARGAS RMF, Experiments and modeling of the *Cymbopogon winterianus* essential oil extraction by steam distillation. *J Mexican Chem Soc* 2006, 50, 126–9.
5. MASANGO P., Cleaner production of essential oils by steam distillation, *J Cleaner Prod* 2005, 13, 833–9.
6. BAKKALI F., AVERBECK S, AVERBECK D, IDAOMAR M., Biological effects of essential oils – a review, *Food Chem Toxicol* 2008, 46, 446–75.
7. HYLDGAARD, M., T. MYGIND, R. L. MEYER. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components, *Frontiers in Microbiology*, 2012, 3, 12, 1–24. Prieiga per doi: 10.3389/fmicb.2012.00012
8. MOHAMED A, EL-EMRY G, ALI H, Influence of some citrus essential oils on cell viability, glutathione-s-transferase and lipid peroxidation in Ehrlich ascites Carcinoma cells, *J Am Sci*, 2010, 6, 820–6.
9. SHARIFIFAR F, MOSHAFI M, MANSOURI S, KHODASHENAS M, KHOSHNOODI M, In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss, *Food Control*, 2007, 7, 800–5.
10. DELAQUIS PJ, STANICH K, GIRARD B, MAZZA G., Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils, *International journal of food microbiology*, 2002, 74, 101–109.
11. KULISIC T, RADONIC A, KATALINIC V, MILOS M, Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil, *Food chemistry*, 2004, 856, 33–640.
12. GACHKAR L, YADEGARI D, REZAEI MB, TAGHIZADEH M, ASTANEH SA, RASOOLI I, Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils, *Food Chemistry*, 2007, 102, 898–904.
13. GOÑI P, LÓPEZ P, SÁNCHEZ C, GÓMEZ-LUS R, BECERRIL R, NER' IN C, Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils, *Food Chemistry*, 2009, 116, 982–989.
14. JULIANO C, MATTANA A, USAI M, Composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus herba-barona* Loisel growing wild in Sardinia, *Journal of Essential Oil Research*. 2000, 12, 516–522.
15. LIS-BALCHIN M, DEANS S, EAGLESHAM E, Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils, *Flavour Frag J*, 1998, 13, 98–104.
16. LAGOURI V, BLEKAS G, TSIMIDOU M, KOKKINI S, BOSKOU D., Composition and antioxidant activity of essential oils from oregano plants grown wild in Greece, *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 1993, 197, 3–20.

17. FRIEDMAN M., Antibiotic activities of plant compounds against non-resistant and antibiotic-resistant foodborne human pathogens, *Advances in microbial food safety ACS Symposium Series*. Washington, DC: American Chemical Society, 2006, 167–83.
18. BURT S., Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review, *Intl J Food Microbiol*, 2004, 94, 223–53.
19. VELDHUIZEN E, TJEERDSMA-VAN BOKHOVEN J, ZWEIJTZER C, BURT S, HAAGSMAN H., Structural requirements for the antimicrobial activity of carvacrol, *J Agric Food Chem*, 2006, 54, 1874–9.
20. COX S, MANN C, MARKHAM J, BELL H, GUSTAFSON J, WARMINGTON J, WYLLIE S, The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), *J Appl Microbiol*, 2000, 88, 170–5.
21. OKOH O, SADIMENKO A, AFOLAYAN A, Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods, *Food Chem*, 2010, 120, 308–12.
22. SANTOYO S, CAVERO S, JAIME L, IBANEZ E, SENORANS FJ, REGLERO G, Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction, *J Food Prot*, 2005, 68, 790–95.
23. HOGG S, *Essential microbiology*. Chichester, West Sussex, England: John Wiley & Sons, Ltd. 2005.
24. NGUYEN MT, KRYACHKO ES, VANQUICKENBORNE LG, General and theoretical aspects of phenols, In: Rappoport Z, editor, *The chemistry of phenols*, Chichester, West Sussex, UK: John Wiley & Sons Ltd. 2003, 1–198.
25. DAPKEVICIUS A, VENSKUTONIS R, VAN BEEK TA, LINSSEN JPH. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania, *J Sci Food Agric*, 1998, 77, 140–6.
26. MAO L-C, PAN X, QUE F, FANG X-H, Antioxidant properties of water and ethanol extracts from hot air - dried and freeze - dried daylily flowers, *Eur Food Res Technol.*, 2006, 222, 236–41.
27. KAMATOU GP, VERMAAK I, VILJOEN AM. Eugenol; from the remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule, *Molecules*, 2012, 17, 6953-6981.
28. ITO M, MURAKAMI K, YOSHINO M, Antioxidant action of eugenol compounds: role of metal ion in the inhibition of lipid peroxidation, *Food Chem Toxicol.*, 2005, 43, 461-466.
29. QIU J, FENG H, LU J, XIANG H, WANG D, DONG J, WANG J, WANG X, LIU J, DENG X, Eugenol reduces the expression of virulence-related exoproteins in *staphylococcus aureus*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2010, 76, 5846-5851.
30. WANG Z, NEVES M. A, ISODA H, & NAKAJIMA M, Preparation and characterization of micro/nano-emulsions containing functional food components, *Japan Journal of Food Engineering*, 2015, 16(4), 263–276.
31. LEE, L., HANCOCKS, R., NOBLE, I., & NORTON, I. T, Production of water-in-oil nanoemulsions using high pressure homogenisation: A study on droplet break-up, *Journal of Food Engineering*, 2014, 131, 33–37.
32. ABBAS S, HAYAT K, KARANGWA E, BASHARI M, & ZHANG X, An overview of ultrasound-assisted food-grade nanoemulsions, *Food Engineering Reviews*, 2010, 5(3), 139–157. Prieiga per doi.org/10.1007/s12393-013-9066-3.
33. CHEMAT F, GRONDIN I., & SMADJA J, Deterioration of edible oils during food processing by ultrasound, *Ultrasonics Sonochemistry*, 2004, 11(1), 13–15.

34. FREITAS S, HIELSCHER G, MERKLE H P, & GANDER B, Continuous contact - and contamination - free ultrasonic emulsification — a useful tool for pharmaceutical development and production, *Ultrasonics Sonochemistry*, 2006, 13(1), 76–85.
35. JAFARI, S. M., HE, Y., & BHANDARI, B, Optimization of nano-emulsions production by microfluidization, *European Food Research and Technology*, 2007, 225(5), 733–741.
36. MCCLEMENTS, D J, Nanoscale nutrient delivery systems for food applications: Improving bioactive dispersibility, stability, and bioavailability, *Journal of Food Science*, 2015, 80(7), N1602 – N1611.
37. GHARSALLAOUI A, ROUDAUT G, CHAMBIN O, VOILLEY A AND SAUREL R, Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview, *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 2007, 40(9), 1107–1121.
38. JAFARI S.M, ASSADPOOR E, HE AND B Y, BHANDARI, Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technology*, 2008, 26(7), 816–835.
39. RÉ, M I, Drying Technology, *Drying technology: an international journal.*, 1998, 16(2), 1195–1236.
40. BARBOSA M.I.M.J., BORSARELLI C D AND MERCADANTE A Z, Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 2005, 38 8–9, 989–994.
41. ALVARENGA BOTREL D S, VILELA BORGES R V B, FERNANDES A, DANTAS VIANA, COSTA J.M.G, AND MARQUES G.R, Evaluation of spray drying conditions on properties of microencapsulated oregano essential oil, *International Journal of Food Science & Technology*, 2012, 47 11, 2289–2296.
42. CASTRO I.A., SILVA R.S.F., TIRAPEGUI J., BORSATO D. AND BONA E., Simultaneous optimization of response variables in protein mixture formulation: constrained simplex method approach, *International Journal of Food Science & Technology*, 2003, 38 (2), 103–110.
43. ADJONU, R., DORAN, G., TORLEY, P., & AGBOOLA, S, Whey protein peptides as components of nanoemulsions: A review of emulsifying and biological functionalities, *Journal of Food Engineering*, 2014, 122, 15–27.
44. GUZEY, D. AND MCCLEMENTS, D. J, Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry, *Adv. Colloid Interface Sci*, 2006, 128–130, 227–248.
45. MAO L, AND MIAO S, Structuring food emulsions to improve nutrient delivery during digestion, *Food Eng. Review*, 2015, 7, 439–451.
46. MCCLEMENTS, D. J. AND LI, Y, Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components, *Adv. Colloid Interface Sci*. 2010, 159, 213–228.
47. GARTI, N, Progress in stabilization and transport phenomena of double emulsions in food applications, *LWT- Food Sci. Technol*, 1997, 30, 222–235.
48. AVEYARD, R., BINKS, B. P. AND CLINT, J. H, Emulsions stabilized solely by solid colloidal particles, *Adv. Colloid Interf. Sci*, 2003, 100, 102, 503–546.
49. KALASHNIKOVA, I., BIZOT, H., CATHALA, B. AND CAPRON I, New Pickering emulsions stabilized by bacterial cellulose nanocrystals, *Langmuir*, 2011, 27, 7471–7479.
50. FRASCH-MELNIK, S., NORTON, I. T. AND SPYROPOULOS, F, Fat-crystal stabilised W/O emulsions for controlled salt release, *J. Food Eng.* 2010, 98, 437–442.
51. RUIZ-RODRIGUEZ, P., MESHULAM, D. AND LESMES, U, Characterization of Pickering O/W emulsions stabilized by silica nanoparticles and their responsiveness to in vitro digestion conditions, *Food Biophys.*, 2014, 9, 406–415.

52. GHOUCHE ESKANDAR, N., SIMOVIC, S. AND PRESTIDGE, C. A, Chemical stability and phase distribution of all-trans-retinol in nanoparticle coated emulsions, *Int. J. Pharm* 2009, 376, 186–194.
53. KROG, N. J. AND SPARSØ, F. V, Food emulsifiers: Their chemical and physical properties, *In: Food Emulsions*, 2004 44–90.
54. RABE, S., KRINGS, U. AND BERGER, R. G, Influence of oil-in-water emulsion characteristics on initial dynamic flavour release, *J. Sci. Food Agric*, 2003, 83, 1124–1133.
55. LARSSON, K, Molecular organization in lipids and emulsions, *Food Emulsions*, 2003, 4, 93–106.
56. ASKE N., KALLEVIK H., SJOBLOM J., Water-in-crude oil emulsion stability studied critical electric field measurements. Correlation to physico-chemical parameters, *J. Pet. Sci. Eng.* 2002, 36, 1-17
57. JULIAN D, MCCLEMENTS, WEISS J, Edible Oil and Fat Products: Specialty Oils and Oil Products, *Lipid Emulsions*, 2005. Prieiga per doi:0.1002/047167849X.bio019
58. DRUAUX, C. AND VOILLEY, A, Effect of food composition and microstructure on volatile flavour release, *Trend Food Sci. Tech.*, 1997, 8, 364–368.
59. GUINARD, J. X. AND MARTY, C. Time-intensity measurement of flavour release from a model gel system: Effect of gelling agent type and concentration. *J. Food Sci*, 1995, 60, 727–730.
60. BOLAND, A. B., BUHR, K., GIANNOULI, P. AND VAN RUTH, S. M, Influence of gelatine, starch, pectin and artificial saliva on the release of 11 flavour compounds from model gel systems. *Food Chem*, 2004, 86, 401–411.
61. HOLLOWOOD, T. A., LINFORTH, R. S. T. AND TAYLOR, A. J. The effect of viscosity on the perception of flavour, *Chem. Senses*, 2002, 27, 583–591.
62. DEGNER B. M., CHUNG C., SCHLEGEL V., HUTKINS R., MCCLEMENTS D. J. Factors Influencing the FreezeThaw Stability of Emulsion-Based Foods, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2014, 13, 98–113. doi: 10.1111/1541-4337.12050
63. BORTNOWSKA, G, Effects of pH and ionic strength of NaCl on the stability of diacetyl and (-)- $\alpha$ -pinene in oil-in-water emulsions formed with food-grade emulsifiers, *Food Chem*, 2012, 135, 2021–2028.
64. SUAVE J, DALL'AGNOL C, TPEZZIN AP E, SILVA DA K, MEIER M, SOLDI V, Microencapsulac, a~o: Inovac, a~o em diferentes a~reas, *Rev Sau'de e Ambient*, 2006, 7, 12-20.
65. DA SILVA PT, FRIES LLM, DE MENEZES CR, HOLKEM AT, SCHWAN CL, E' F WIGMANN, BASTOS JDO, DA SILVA CDB, Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology, *Cie^ncia Rural*, 2014, 44, 1304-1311.
66. MAREFATI, A., SJÖÖ, M., TIMGREN, A., DEJMEK, P., & RAYNER, M. Fabrication of encapsulated oil powders from starch granule stabilized W/O/W Pickering emulsions by freeze-drying, *Food Hydrocolloids*, 2015, 51, 261–271.
67. KROCHTA, J.M., MULDER-JOHNSTON, C., Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities, *Food Technology*, 1997, 51(2), 61–74.
68. NISPEROS-CARRIEDO, M.O., Edible coatings and films based on polysaccharides. In: KROCHTA, J.M., BALDWIN, E.A., NISPEROS-CARRIEDO, M.N. (Eds.), Edible Coatings and Films to Improve Food Quality, *Technomic Publishing Co, Lancaster, PA*, 1994, 11, 305–335.
69. NER'IN C, TOVAR L, DJENANE D, CAMO J, SALAFRANCA J, BELTRAN JA, RONCAL ' ES P. ' Stabilization of beef meat by a new active packaging containing natural antioxidants, *J Agr Food Chem* 2006, 54(20), 7840–46.

70. PARK H-Y, KIM S-J, KIM KM, YOU Y-S, KIM SY, HAN J, Development of antioxidant packaging material by applying corn-zein to LLDPE Film in combination with phenolic compounds. *J Food Sci*, 2012, 77(10), E273–9.
71. BUSOLO MA, LAGARON JM, Antioxidant polyethylene films based on a resveratrol containing clay of interest in food packaging applications, *Food Pack Shelf Life*, 2015, 6, 30–41.
72. COMA V, PORTES E, GARDRAT C, RICHARD-FORGET F, CASTELLAN A, In vitro inhibitory effect of tetrahydrocurcuminoids on *Fusarium proliferatum* growth and fumonisin B1 biosynthesis, *Food Addit Contam Part A*, 2011, 28(2), 218–25.
73. MOHAMMADPOUR M., SADEGHI A., FASSIHI A., SAGHAEI L., MOVAHEDIAN A., ROSTAMI M, Synthesis and antioxidant evaluation of some novel ortho-hydroxypyridine-4-one iron chelators. *Pharm Sci*. 2012
74. XIANG L, NICOLAS A, CORDIN, FABRICE B, THIERRY F. VANDAMME, Nanoparticles by spray drying using innovative new technology: The Büchi Nano Spray Dryer B-90, *Journal of Controlled Release*, 2010, 147, 304–310.
75. TAMULEVIČIUS S, ANDRULIČIUS M, *medžiagų analizės metodai*. Skenuojančio elektroninio mikroskopo konstrukcija, 2012, 134, ISBN: 978-9955-686-42-2.
76. ŽŪKIENĖ R., *Spektrinė analizė*, 2012, 7(3), 61-64, e-ISBN: 978-609-433-156-5.
77. DOMIAN E, BRYNDA - KOPYTOWSKA A, OLEKSZA K. Rheological properties and physical stability of o/w emulsions stabilized by OSA starch with trehalose. *Food hydrocolloids*. 2015, 44,49-58. ISSN: 0268-005X
78. EFSA. Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food (ANS). Scientific Opinion on the reevaluation of butylated hydroxytoluene BHT (E 321) as a food additive. *EFSA Journal*. 2012, 10 (7), 2588–2630.
79. VALGIMIGLI, L., and D. A. PRATT. Antioxidants in chemistry and biology. *In Encyclopedia of Radicals in Chemistry, Biology and Materials*. Wiley: Chirchester, UK, 2012, 3, 1623–1677. Prieiga per doi: 10.1002/9781119953678.rad055
80. VAN RUTH, S. M., KING, C. AND GIANNOULI, P, Influence of lipid fraction, emulsifier fraction, and mean particle diameter of oil-in-water emulsions on the release of 20 aroma compounds, *J. Agric. Food Chem*, 2002, 50, 2365–2371.
81. BORTNOWSKA, G. Effects of pH and ionic strength of NaCl on the stability of diacetyl and (-)- $\alpha$ -pinene in oil-in-water emulsions formed with food-grade emulsifiers, *Food Chem*, 2012, 135, 2021–2028.
82. SHARIF H. R., WILLIAMS P.A., SHARIF M.K., KHAN M. A., MAJEED H., SHAMOON M., Influence of OSA-starch on the physico chemical characteristics of flax seed oil-eugenol nanoemulsions. *Food hydrocolloids*. 2017, 66, 365-377. Prieiga per doi:10.1016/j.foodhyd.2016.12.002.
83. LEE Dong Sun. *Antioxidative Packaging System*, Department of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Masanhappo-gu, Changwon, South Korea. 2014.
84. PENG, S., XUE, L., LENG, X., YANG, R., et al., Slow digestion property of octenyl succinic anhydride modified waxy maize starch in the presence of tea polyphenols. *J. Agric. Food Chem*. 2015, 63, 2820–2829.
85. RUAN, H., CHEN, Q., FU, M., XU, Q., et al., Preparation and properties of octenyl succinic anhydride modified potato starch. *Food Chem*. 2009, 114, 81–86.
86. XU, J., ZHOU, C., WANG, R., YANG, L., et al., Lipase-coupling esterification of starch with octenyl succinic anhydride. *Carbohydr. Polym*. 2012, 87, 2137–2144.
87. SHENGFENG P, LIQIANG Z, WEI L, LU G, WEILIN L, RUIHONG L, CHENGMEI L, JING N, YANLIN C, ZHEN L, XING C., Storage Stability and Antibacterial Activity of Eugenol

Nanoliposomes Prepared by an Ethanol Injection–Dynamic High-Pressure Microfluidization Method. *Journal of Food Protection*, 2015, 78(1) 22–30.