



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

Rūta Berenytė

ANTOCIANINŲ IR JŲ KOMPLEKSŲ SU KARAGENANAIS
ĮTAKA HIDROKSIPROPILMETILCELIULIOZĖS
PLĖVELIŲ SAVYBĖMS

Baigiamasis bakalauro darbas

Vadovas

doc. dr. Rima Klimavičiūtė

Kaunas, 2015

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS
POLIMERŲ CHEMIJOS IR TECHNOLOGIJOS KATEDRA

TVIRTINU

Polimerų chemijos ir technologijos
katedros vedėjas
Prof. Juozas Vidas Gražulevičius

ANTOCIANINŲ IR JŲ KOMPLEKSŲ SU KARAGENANAIŠ
ĮTAKA HIDROKSIPROPILMETILCELIULIOZĖS
PLĖVELIŲ SAVYBĖMS

Baigiamasis bakalauro darbas

Studijų programa Taikomoji chemija (kodas 612F10002)

Vadovas

Doc. Dr. Rima Klimavičiūtė

Recenzentas

Doc. Dr. Angelė Jezerskaitė

Darbą atliko

Rūta Berenytė

Kaunas, 2015



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

Rūta Berenytė

Studijų programa Taikomoji chemija (kodas 612F10002)

Baigiamojo darbo „Antocianinų ir jų kompleksų su karagenanais įtaka
hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelių savybėms“

AKADEMINIO SĄŽININGUMO DEKLARACIJA

Kaunas

Patvirtinu, kad mano **Rūtos Berenytės** baigiamasis darbas tema „Antocianinų ir jų kompleksų su karagenanais įtaka hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelių savybėms“ yra parašytas visiškai savarankiškai, o visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena darbo dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymu nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjusi.

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

(studento vardas ir pavardė, įrašyti ranka)

(parašas)

Turinys

SUMMARY	6
Santrumpos.....	7
Ižanga	8
1. Literatūros apžvalga	9
1.1. Antocianinai ir jų savybės	9
1.2. Karagenanai ir jų savybės.....	12
1.3. Valgomos plėvelės hidroksipropilmetilceliuliozės pagrindu	14
1.4. Bakalauro darbo pagrindinimas.....	18
2. Medžiagos ir tyrimų metodai	19
2.1. Naudotos medžiagos.....	19
2.2. Tyrimų metodai	20
2.2.1. Mėlynių ekstrakto ruošimas	20
2.2.2. Antocianinų koncentracijos nustatymas.....	20
2.2.3. Hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelių gavimas.....	21
2.2.4. Plėvelių ir jų liejimo mišinių spalvos įvertinimas	22
2.2.5. Plėvelių sausų medžiagų masės nustatymas.....	22
2.2.6. Vandens garų sugerties plėvelėmis nustatymas	22
2.2.7. Mechaninių plėvelių savybių nustatymas	23
2.2.8. Plėvelėse imobilizuotų ATC atsparumo šviesos poveikiui įvertinimas	23
2.2.9. Antioksidacinių savybių įvertinimas.....	23
2.3. Rezultatų patikimumo įvertinimas.....	24
3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.....	25
3.1. Hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelių, turinčių antocianinų kompleksų su karagenanais spalvos, įvertinimas	25

3.2. Antocianinų ir jų kompleksų su karagenanais įtaka hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelių vandens garų sugerčiai	27
3.3. Antocianinų ir jų kompleksų su karagenanais įtaka hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelių mechaninėms savybėms	28
3.4. Hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelėse įmobilizuotų antocianinų stabilumas švitinant lankine ksenono lempa	30
Išvados.....	33
Literatūros sąrašas	34

Berenytė, R. Antocianinų ir jų kompleksų su kareganais įtaka hidroksipropilceliuliozės plėvelių savybėms *Bakalauro* baigiamasis darbas / vadovas doc. dr. Rima Klimavičiūtė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas, Polimerų chemijos ir technologijos katedra.

Kaunas, 2015. 38 psl.

SUMMARY

Hydroxypropyl methylcellulose films containing anthocyanins or their complexes with κ -carrageenan or ι -carrageenan have been prepared. The influence of anthocyanins and their complex with carrageenans have been investigated. The measurements of films colour showed that anthocyanins complex with carrageenans remained in films without changes. Anthocyanins or anthocyanins complex with carrageenans decreased the mechanical properties of hydroxypropyl methylcellulose films. It was shown that during irradiation with xenon lamp the antioxidant activity of anthocyanins presented in hydroxypropyl methylcellulose films in the form of complexes with carrageenans was preserved in higher extent when in the case of anthocyanins alone.

Santrumpos

κ -KARG/ATC – κ -karagenanas ir antocianinų kompleksas

ι -KARG/ATC – ι -karagenanas ir antocianinų kompleksas

ATC – antocianinai

HPMC – hidroksipropilmetilceliuliozė

KARG – karagenanai

Ižanga

Tyrimų aktualumas

Pastaruoju metu antocianinų panaudojimas tampa vis patrauklesnis dėl jų antioksidacinio, priešuždegiminio, priešvėžinio, antimutageninio poveikio. Siekiant išplėsti antocianinų panaudojimo galimybes bei išlaikyti jų naudingas savybes reikia panaikinti pagrindinį antocianinų trūkumą – mažą stabilumą. Vienas iš būdų padidinti antocianinų stabilumą ir sumažinti spalvos praradimą, tai sudaryti joninius kompleksus su anijoniniais polisacharidais. Vykdam projektą „Sveikas ir saugus maistas“ KTU Polimerų chemijos ir technologijos katedroje atlikti tyrimai parodė, kad mėlynių ekstrakto esantys antocianinai sudaro kompleksus tiek su viena sulfogrupę turinčiu κ -karagenanu, tiek su dvi sulfogrupes turinčiu ι -karagenanu, dėl ko padidėja antocianinų stabilumas. Imobilizuojant tokius kompleksus hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelėse galima padidinti jų funkcionalumą bei panaudojimo galimybes. Tam reikia ištirti antocianinų ir jų kompleksų įtaką hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelių savybėms.

Darbo tikslas ir uždaviniai

Šio darbo tikslas – ištirti antocianinų ir jų kompleksų su κ - ir ι - karagenanais įtaką hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelių savybėms.

Tikslui pasiekti reikėjo išspręsti tokius uždavinius:

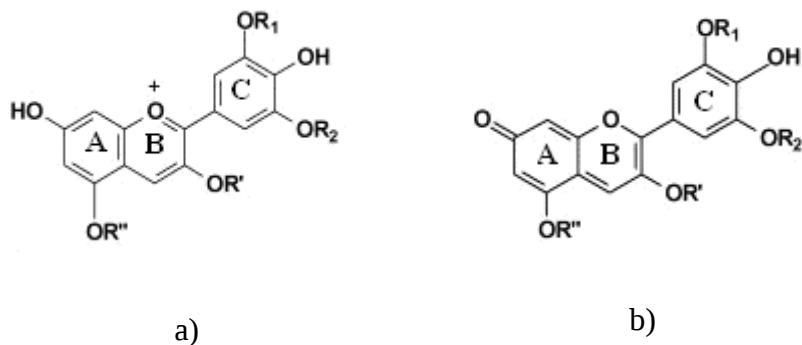
1. Įvertinti antocianinų ir jų kompleksų su karagenanais įtaką hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelių spalvai.
2. Ištirti antocianinų ir jų kompleksų su karagenanais įtaką hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelių vandens garų sugerčiai.
3. Ištirti antocianinų ir jų kompleksų su karagenanais įtaką hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelių mechaninėms savybėms.
4. Ištirti hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelėse esančių antocianinų ir jų kompleksų stabilumą švitinant saulės šviesą imituojančia lankine ksenono lempa.

1. Literatūros apžvalga

1.1. Antocianinai ir jų savybės

ATC yra vandenyje tirpūs, ypač dažnai sutinkami, augalų ląstelių pigmentai [1]. Tai vieni plačiausiai naudojamų nekenksmingų gamtinių dažiklių maisto pramonėje. ATC yra biologiškai aktyvūs junginiai pasižymintys antioksidaciniu, priešuždegiminiu, priešvėžiniu, antitumogeniniu poveikiu [2]. Jie sumažina širdies ir kraujagyslių ligų tikimybę, nes reguliuoja arterinę kraujospūdį, trukdo trombocitų agregacijai.

Pagrindiniai, spalvą suteikiantys antocianinų struktūros elementai yra antocianidinai (aglikonai) sudaryti iš aromatinio žiedo (A) prijungto deguonies atomą turinčio heterociklo (B), prie kurio C-C ryšiu yra prijungtas trečiasis aromatinis žiedas (C) (1.1 pav.). Prijungus prie antocianidinų molekulės sacharidą gaunami ATC. Gamtoje sutinkama daugybė pačios įvairiausios cheminės sudėties ATC. Pagrindinis skirtumas tarp jų yra hidroksi- ir metoksigrupių kiekis ir vieta antocianidino molekulėje bei prie antocianidino molekulės prijungtų sacharidų struktūra ir skaičius. Yra skiriama daugiau kaip 500 skirtingos cheminės sudėties ATC ir 23 skirtingi antocianidinai [3], iš kurių dažniausiai augalų ląstelėse yra sutinkami pelargonidinas, peonidinas, cianidinas, malvidinas, petunidinas ir delfinidinas.



1.1 pav. ATC cheminės formos priklausomybė nuo terpės pH
vertės: a – flavilio katijonas; b – chinoidinė bazė

Vienas pagrindinių ATC trūkumų yra mažas stabilumas – laikui bėgant jie praranda spalvą. ATC stabilumas priklauso nuo terpės pH vertės, temperatūros, ATC koncentracijos, šviesos, deguonies, tirpale esančių fermentų, askorbo rūgšties, cukrų ir t.t.

Priklausomai nuo terpės pH vertės ATC įgauna skirtingą cheminę formą, o tuo pačiu ir spalvą [4]. Kai terpės pH=1, vyrauja raudonos spalvos flavilio katijonais (1.1 pav., a). Terpėje, kurios pH vertė yra tarp 2 ir 4, vyrauja mėlynos spalvos chinoidinė ATC forma (1.1 pav., b). Padidinus terpės pH vertę iki 5–6 susidaro bespalvė karbinolinė pseudo-bazė ir silpnai geltonas chalkonas. Kai terpės pH>7 ATC pilnai suyra. Terpės pH įtaka ATC stabilumui priklauso nuo C žiede esančių hidroksi- ir metoksigrupių skaičiaus [5]. Didėjant hidroksigrupių skaičiui, aglikono stabilumas mažėja. Skirtingai nuo aglikonų, jų monoglikozidiniai ir, ypač, diglikozidiniai dariniai neutraliose terpėse yra stabilesni [5], nes prijungtos sacharidų molekulės trukdo nestabiliems tarpiniams skilimo produktams toliau skilti iki fenolinių rūgščių ir aldehydų darinių.

ATC stabilumas maisto produktuose mažėja, didėjant jų perdirbimo ir saugojimo temperatūrai [6]. Tuo tarpu ATC koncentracijos padidinimas, atvirkščiai, padidina jų tirpalų spalvos stabilumą [7]. Šviesos poveikis ATC destrukcijai nėra vienareikšmis ir priklauso nuo augalo, iš kurio ATC ekstraktas buvo gautas, t.y. nuo jų struktūros [2]. Tačiau daugelis tyrėjų konstatuoja, kad šviesa mažina ATC stabilumą saugant, ypač, kai kompozicijoje yra cukrų [8]. Cukrų poveikis ATC stabilumui priklauso tiek nuo ATC struktūros, tiek nuo cukrų tipo ir koncentracijos [9]. Be cukrų, uogų ekstraktuose visada yra tam tikras kiekis askorbo rūgšties ir įvairių fermentų. Tiek askorbo rūgštis, tiek jos skilimo produktai pagreitina ATC destrukciją [10]. Dažniausiai pasitaikantis fermentas skatinantis ATC glikolizę yra glikozidazė, kuri skatina ryšių tarp aglikono ir glikozilo likučio skilimą [2]. Tokio skilimo rezultate susidaro mažiau stabilus antocianidinas. ATC skilimą skatina ir uogose bei vaisiuose esančios peroksidazės ir fenol- bei polifenoloksidazės [11].

Dėl plataus ATC taikymo maisto pramonėje, farmacijoje, kosmetikoje labai aktuali yra jų stabilizacija, kuriai paskirta daugybė mokslinių publikacijų. Visus ATC stabilizavimo būdus galima suskirstyti į dvi pagrindines grupes: kapsuliavimas ir asociacija [2].

Kapsuliavimas yra biologiškai aktyvių medžiagų imobilizavimas, kuris substratą apsaugo nuo fizinių ir cheminių veiksnių poveikio, prailgina saugojimo trukmę bei sudaro galimybes platesniam ATC taikymui. ATC kapsuliavimui dažniausiai naudojamas ir ekonomiškiausias yra kapsuliavimas purkštuvinėje džiovykloje, kaip dengiančią medžiagą naudojant maltodekstrinus [12]. Be maltodekstrinų, kaip dengiančioji medžiaga gali būti naudojami gamtiniai polimerai. ATC

kapsuliavimui terminės želatinizacijos būdu buvo panaudotas gliukano gelis [13], o natrio alginatas, pektinas ir kurdlanas – tiek terminėje, tiek joninėje želatinizacijoje [14]. Be privalumų, ATC kapsuliavimas turi eilę trūkumų, kurių pagrindiniai yra – pakankamai sudėtinga įranga ir dideli ATC nuostoliai.

ATC stabilumą ženkliai padidina asociacija su kitais junginiais, kurios metu keičiasi ATC spalva. Galimos trijų tipų ATC asociacijos reakcijos: savaiminė asociacija tarp kelių ATC molekulių, kopigmentacija, kuri skirstoma į intramolekulinę kopigmentaciją su kitomis ATC molekulės dalimis ir intermolekulinę kopigmentaciją su nespaltvais junginiais, tokiais kaip flavonoliai ar flavono glikozidai, bei asociacija su metalais.

Su savaimine ATC asociacija yra susijęs tiek stabilumo padidėjimas, tiek spalvos pasikeitimas. Vyrauja nuomonė, kad savaiminės asociacijos metu vyksta ATC molekulių stekingas dėl hidrofobinės sąveikos tarp aromatinių ATC molekulių dalių [15]. Dėka tokios sąveikos stebimas ATC koncentracijos tirpale padidėjimas nuo 10^{-4} mol/l iki 10^{-2} mol/l [16] su batochrominiu šviesos absorbcijos maksimumo poslinkiu. Tuo pat metu ženkliai išauga ATC stabilumas.

Intramolekulinėje kopigmentacijoje kopigmentas yra ATC molekulės dalis, t.y. ATC ir kopigmentas yra kovalentiniu ryšiu prijungti prie to paties sacharido likučio [17]. Prie sacharido prijungtos aromatinės acilgrupės išsidėsto greta flavilio katijono, apsunkina pirilio žiedo hidratacija ir taip padidina ATC spalvos stabilumą. Intramolekulinė kopigmentacija priklauso nuo aromatinių acilgrupių kiekio, jų prijungimo prie sacharido molekulės vietų bei nuo pačio sacharido struktūros.

Intermolekulinė kopigmentacija vyksta tarp ATC ir bespalvio kopigmento dėka Van der Valso jėgų, hidrofobinės ir joninės sąveikos [18]. Intermolekulinėje kopigmentacijoje gali dalyvauti tiek flavilio katijonas, tiek chinoidinė bazė. Abiejų formų molekulė yra plokščia su delokalizuotomis π -elektronų poromis, todėl gali asocijuoti su laisvą π -elektronų porą turinčiais junginiais. Intermolekulinės kopigmentacijos atveju ATC ir kopigmento molekulės taip pat išsirikiuoja tam tikra tvarka ir apsaugo ATC nuo nukleofilinės vandens atakos. Kaip kopigmentai dažniausiai yra naudojami polifenoliai: kavos, ferulo rūgštis [19], chlorogeno rūgštis, flavonoliai (rutinas, kvarcetino 3- β -D-galaktozidas) [20], galo rūgštis, purino ir pirimidino dariniai [21], procianidinai (epikatechino monomerai, dimerai ir trimerai) [22, 23], cinamono rūgšties dariniai [24]. Darbe [25] 260 % siekiantis hiperchrominis efektas gautas į malvidino 3-gliukozido tirpalą pridėjus rozmarino rūgšties, tuo tarpu didžiausias pelarginidino 3-gliukozido tirpalo spalvos intensyvumas ir stabilumas gautas pridėjus ferulo ar kavos rūgščių. Literatūroje pateikti duomenys rodo, kad ATC spalvos

intensyvumas ir stabilumas priklauso nuo kopigmentacijos reakcijoje dalyvaujančių fenolinių junginių molekulėje esančių hidroksi-, metoksi- ir/arba glikozilgrupių skaičiaus ir padėties. Gamtiniai fenoliniai junginiai ne tik padidina ATC spalvos intensyvumą ir stabilumą, bet ir patys suteikia maisto produktams papildomų antioksidacinių savybių.

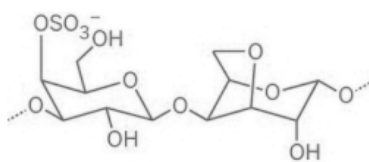
Esant tam tikram chondroitino sulfato ir iš juodųjų sojų pupelių gautų ATC santykiui buvo gauti stabilūs nanodydžio polikompleksai su geresnėmis, lyginant su vienu ATC, antioksidacinėmis ir priešvėžinėmis savybėmis [26]. Autorių nuomone susidarant nanopolikompleksams pasireiškia trijų rūšių sąveika: ATC molekulių stekingas, joninė sąveika tarp polimero sulfograpių ir flavilio katijono bei hidrofobinė sąveika tarp chondroitino sulfato acilgrapių ir ATC molekulių asociatų.

KTU Polimerų chemijos ir technologijos katedroje atlikti tyrimai parodė, kad mėlynių ekstrakto esantys ATC gali sudaryti joninius kompleksus su anijoniniais polisacharidais – dekstrano sulfatu [27] bei κ - ir ι -KARG. Dėka joninės sąveikos tarp teigiamo krūvio ženklo flavilio katijono ir polimerų sulfograpių susidaro dekstrano sulfato/ATC ar KARG/ATC kompleksai. Kompleksų pobūdis (tirpus, nano – ar mikrodalelių pavidalo) priklauso tiek nuo kompleksą sudarančių medžiagų masių santykio, tiek nuo jų bendros koncentracijos. Gauta, kad esant optimaliam dekstrano sulfato ar ATC masių santykiui (dekstrano sulfatas/ATC=0,4) į kompleksą sujungti ATC pasižymi didesniu stabilumu palyginus su ATC mėlynių ekstrakto [27].

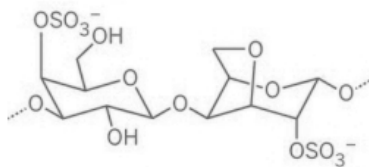
1.2. Karagenanai ir jų savybės

KARG yra sulfatinių polisacharidų, sudarytų iš linijinių makromolekulių, šeima, išgaunama iš tam tikrų rūšių raudonųjų jūros dumblių.

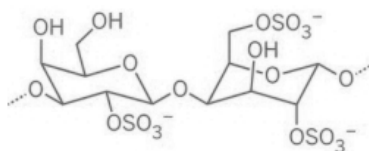
Pagal sulfograpių kiekį ir vietą disacharide yra išskiriami trys pagrindiniai KARG tipai (1.2 pav.): κ -KARG (viena sulfograpiė prie 4 anglies atomo β -D-galaktozėje); ι -KARG (viena sulfograpiė prie 4 anglies atomo β -D-galaktozėje ir viena sulfograpiė prie 2 anglies atomo α -3,6-anhidro-D-galaktozėje); λ -KARG (viena sulfograpiė prie 2 anglies atomo β -D-galaktozėje ir dvi sulfograpiės prie 2 ir 6 anglies atomo α -D-galaktozėje) [28].



κ-KARG



ι-KARG



λ-KARG

1.2 pav. Pagrindinių KARG struktūrinės formulės

Sulfograpių kiekis KARG gali būti 20–40%, todėl KARG galima priskirti prie stiprių anijoninių darinių. Pramonei svarbių KARG vidutinė molekulinė masė svyruoja tarp 100 ir 1000 kDa [29]. KARG yra jautrus rūgščių poveikiui ir aukštai temperatūrai. Šie polisacharidai gali depolimerizuotis [30]. Skirtingo tipo KARG skiriasi gelių sudarymo savybėmis: κ-KARG sudaro stiprius ir standžius gelius, tuo tarpu ι-KARG sudaro minkštus gelius, o λ-KARG gelių nesudaro [28]. KARG plačiai taikomi maisto pramonėje ir naudojami kaip koagulantai, emulsikliai, stabilizatoriai [31], taip pat valgomų dangų ir plėvelių gamyboje [32].

Formuojant plėveles liejimo būdu karštas KARG tirpalas yra aušinamas žemiau kritinės temperatūros, KARG grandinės susisuka į dvigubas spirales, ir susiformuoja kompaktiška plėvelė. Nustatyta, kad κ-KARG lyginant su ι-KARG formuoja plėveles su geresnėmis mechaninėmis ir struktūrinėmis savybėmis [33]. Galima išskirti tokius plėvelių iš KARG privalumus: geras plėvelių skaidrumas ir stipris tempiant, bei puikios gelių susidarymo ir plėvelių formavimo galimybės. Tačiau plėvelės turi trūkumų: prastos barjerinės savybės vandens garams, mažas elastiškumas bei aukšta žaliavos kaina [34].

1.3. Valgomos plėvelės hidroksipropilmetilceliuliozės pagrindu

Valgomųjų plėvelių pagrindinė sudedamoji dalis yra biopolimerai: polisacharidai, proteinai ar lipidai [35].

Biopolimerinės valgomosios ar lengvai mikroorganizmų suskaidomos plėvelės gali būti naudojamos pailginti maisto produktų laikymo trukmę, pagerinti jų kokybę ir kartu išvengti problemų, susijusių su į aplinką išmetamomis maisto pramonės atliekomis. Tokios plėvelės kontroliuoja drėgmės, deguonies, anglies dioksido, riebalų, kvapų ir skonių komponentų sklaidimą. Plėvelės gaminant galima naudoti įvairias medžiagas, kurios plėvelėms suteikia funkcinių savybių, pvz., medžiagas pasižyminčias antibakterinėmis savybėmis, padidinančiomis maisto produktų saugumą ir stabilumą; medžiagas pasižyminčias antioksidacinėmis savybėmis, stabdančiomis riebalų oksidaciją; aromato ir skonio priedų; dažančių pigmentų, kurie pagerina maisto kokybę [36].

Valgomosios plėvelės sudarytos iš biopolimerų pasižymi bioskaidumu (biologiniu skilimu) [37]. Polimerų biologinis skilimas – tai procesas, kai dėl gyvų organizmų ir fermentų poveikio vyksta hidrolizės, oksidacijos reakcijos, kurių metu suskyla polimero grandinė ir sumažėja molekulinė masė. Pagrindinės mikroorganizmų grupės, dalyvaujančios bioskaidymo procesuose yra bakterijos ir grybeliai. Daugelis grybelių ir bakterijų išskiria ekstraceliularinius fermentus, kurie skatina tirpių ir netirpių stambiamolekulinių junginių hidrolizę [38, 39].

Biopolimerinių plėvelių mechaninį atsparumą apibūdina trys parametrai:

- Stipris tempiant (didžiausias tempimo įtempis, kurį prieš suirdama atlaiko medžiaga), MPa;
- Tampros modulis (arba Young'o modulis skaitine verte lygus įtempimui, kuriam veikiant kūno santykinė ilginė deformacija lygi vienetui), MPa;
- Santykinis trūkstamasis pailgėjimas, %.

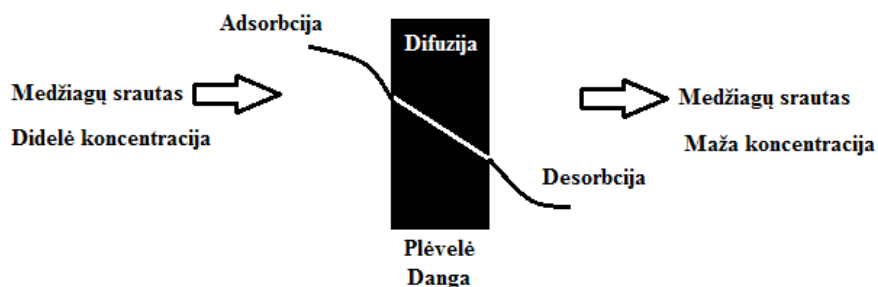
Valgomųjų plėvelių efektyvumas labai priklauso nuo jų barjerinių savybių, t.y. pralaidumo dujoms, vandens garams, kvapams, riebalams. Barjerinės savybės priklauso nuo plėvelę ar dangą sudarančių medžiagų cheminės sudėties, struktūros, taip pat nuo produkto savybių bei laikymo sąlygų [40]. Kaip medžiagos pernešamos per plėvelę, pavaizduota 1.3 pav.

Medžiagų pernaša per plėvelę ar dangą susideda iš trijų stadijų [41]:

- Medžiagos adsorbcija ir/arba ištirpimas plėvelės ar dangos paviršiuje;
- Medžiagos difuzija į gilesnius plėvelės ar dangos sluoksnius;

- Medžiagos desorbcija kitoje plėvelės ar dangos pusėje.

Šios stadijos būdingos dujų, vandens garų ar skysčių pralaidumo procesams. Jei difunduojančios medžiagos ir plėvelės sąveika silpna – pirmosios ir trečiosios stadijų greitis yra didelis.



1.3 pav. Medžiagų pernašos per plėvelę schema [41]

Valgomųjų plėvelių pralaidumas vandens garams, deguoniui ir anglies dioksidui turi būti kontroliuojamas. Polisacharidai dėl savo hidrofilškumo pasižymi dideliu vandens garų pralaidumu, bet mažesniu pralaidumu O_2 ir CO_2 . Pralaidumas vandens garams sumažinamas pridėjus plastifikatorių, kitų biopolimerų ar hidrofobinių junginių (lipidų, vašku, aliejų, riebiųjų rūgščių, eterinių aliejų) [36].

Barjerinės savybės kvapams labai priklauso nuo kvapų suteikiančių junginių ir plėvelės matricos sandaros. Nustatyta, kad kvapų difuzijos koeficientas valgomose biopolimerinėse plėvelėse yra nuo $10^{-13} \text{ m}^2/\text{s}$ [42].

Optinės valgomųjų plėvelių savybės (blizgesys, skaidrumas, spalva) taip pat yra svarbios maisto pakavime, estetiniam vaizdui sudaryti, apsaugoti maisto produktus nuo šviesos poveikio ir kt. [36]. Blizgesys apibūdina plėvelės savybę atspindėti šviesą. Blizgesys priklauso nuo plėvelės lygumo ir lūžo rodiklio. Kuo lygesnė plėvelė ir didesnis lūžio rodiklis, tuo labiau plėvelė blizga [43]. Plėvelių ir dangų spalva ir skaidrumas įvertinami kolorimetrijos ir spektrofotometrijos metodais. Svarbiausi spalvų parametrai yra: šviesumas (L), grynumas (C), tonas (H°) [36].

Plėvelių funkcionalumas bei panaudojimo galimybės padidėja suformavus valgomąją plėvelę iš biopolimerų ir augalinių ekstraktų, eterinių aliejų, organinių rūgščių, vitaminų, turinčių bioaktyvių junginių (fenolinių junginių, ATC ir kt.) [45]. Valgomųjų plėvelių su šiais junginiais privalumai labiausiai susiję su jų bioaktyviomis (antioksidacinėmis, antibakterinėmis), apsauginėmis (pralaidumas deguoniui, anglies dioksidui, šviesai, vandens garams) savybėmis. Į valgomasias plėveles ar dangas įterpus antioksidantus ar/ir antibakterinius junginius maisto produktai apsaugomi nuo oksidacijos, mikroorganizmų augimo, vitaminų praradimo ar spalvos pokyčio [44].

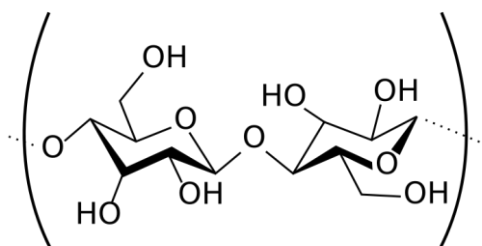
Valgomosios plėvelės iš biopolimerų gali būti formuojamos keliais būdais: liejimo („šlapiasis“ būdas) ir termoplastiniu („sausasis“ būdas). Valgomosios plėvelės po formavimo turi būti vientisos, be mechaninių pažeidimų, „burbulų“ ar kitų defektų [36, 41].

Formuojant plėvelę „šlapiuoju būdu“ naudojami tokie tirpikliai: vanduo, etanolis, ar jų mišiniai. Vienalytei plėvelei gauti ir išsisluoksniavimui išvengti naudojami emulsikliai (lecitinas, mono-, digliceridai, jų esteriai, riebalų rūgštys). Visi plėvelės komponentai: biopolimerai, plastikliai, bioaktyvūs junginiai ar kiti priedai turi tirpti arba būti tolygiai disperguoti tirpiklyje [36, 46]. „Šlapiuoju“ būdu valgomosios plėvelės gaunamos biopolimero dispersiją ar tirpalą išliejus ant lygaus paviršiaus pvz.: teflono plokštės [47]. Šiuo būdu plėveles gaminti patogiau atliekant laboratorinius tyrimus, nes nereikalauja specialios įrangos bei sunaudojama mažai žaliavos, tačiau ekstruzijos („sausasis“) būdas turi daugiau privalumų, gaminant plėveles pramoniniu būdu, dėl didesnio plėvelių pritaikymo ir technologinio proceso efektyvumo [48].

Kaip plevėdariai gali būti naudojami įvairūs biopolimerai. Dažniausiai plėvelėms sudaryti yra naudojami celiuliozės dariniai.

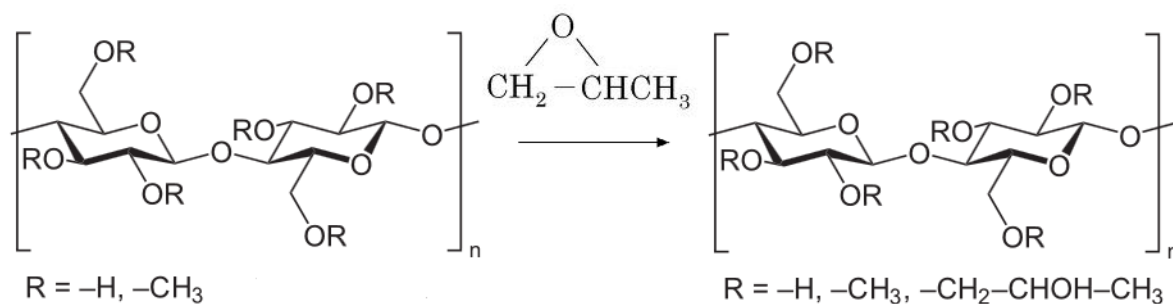
Celiuliozė sudaryta iš D-anhidroglukozidinių likučių, sujungtų tarpusavyje 1,4-β-glikozidiniais ryšiais. Celiuliozės cheminė struktūra pavaizduota 1.4 pav. Tai sindiotaktinių makromolekulių polimeras. Celiuliozė yra plačiai paplitusi gamtoje, tai pagrindinis struktūrinis augalų ląstelių sienelių komponentas. Celiuliozę gali gaminti keletas bakterijų ir dumblių, grybai bei vienintelė gyvūnų rūšis – gaubtagyviai [49, 50].

Celiuliozė yra pluoštinė, kieta, netirpi vandenyje, jos polimerizacijos laipsnis siekia 10000-15000. Celiuliozės besikartojantis elementas išilgai grandinės yra celobiozės likutis t.y. identiškumo periodas, kuris būdingas celiuliozei esančiai kristalinės būsenos. Tirpale, esant klampiatakliai būsenai, celiuliozės elementarios grandys gali suktis apie gliukozidinį ryšį, t.y. makromolekulė gali keisti konformaciją. Konformaciniai kitimai būdingi ir celiuliozės elementariajai grandžiai [36, 50].



1.4 pav. Celiuliozės cheminė struktūra

Gamtinė celiuliozė plėvelių nesudaro, nes yra kristalinės struktūros ir netirpi vandenyje. Tačiau celiuliozės dariniai tokie kaip karboksimetilceliuliozė, metilceliuliozė, hidroksipropilceliuliozė ir HPMC turi geras plėvelių ir dangų formavimo galimybes, kurių savybės priklauso nuo molekulinės masės dydžio ir makromolekulių struktūros [36]. Dažniausiai valgomoms plėvelėms gauti yra naudojama HPMC. Tai šaltame vandenyje tirpus celiuliozės eteris, gaunamas iš metilceliuliozės ir propilenoksido. HPMC gavimo reakcija pavaizduota 1.5 pav.. HPMC plėvelės yra stiprios tačiau silpnės nei metilceliuliozės plėvelės [36].



1.5 pav. HPMC gavimas iš metilceliuliozės

Valgomosios plėvelės iš celiuliozės darinių yra lanksčios, bespalvės, skaidrios, beskonės, pasižymi vidutiniu pralaidumu deguoniui ir vidutiniu stiprumu, bei yra atsparios aliejams ir riebalams. Tačiau kaip ir kiti polisacharidai, celiuliozės dariniai yra hidrokoloidai, pasižymintys prastomis vandens garų barjerinėmis savybėmis. Nustatyta, kad HPMC plėvelėse vandens garų pralaidumas mažėja, didėjant molekulinėi masei.

Kaip plėvelių matrica gali būti naudojami ir KARG. KARG bioskaidžių plėvelių savybėms pagerinti naudojamos kompozicijos su celiuliozės nanodariniiais – nanopluoštais. Ištirta [51], kad esant net mažam celiuliozės nanopluošų kiekiui (0,4 %), KARG plėvelių stipris tempiant padidėja 44 % dėl stiprios sąveikos tarp κ -KARG matricos ir celiuliozės nanodalelių. Šios plėvelės taip pat pasižymi mažesniu pralaidumu vandens garams ir deguoniui.

1.4. Bakalauro darbo pagrindinimas

Vykdant projektą “Sveikas ir saugus maistas” KTU Polimerų chemijos ir technologijos katedroje atlikti tyrimai parodė, kad mėlynių ekstrakto esantys ATC sudaro kompleksus tiek su viena sulfogrupę turinčiu κ -KARG, tiek su dvi sulfogrupes turinčiu ι -KARG. Imobilizavus kompleksuose padidėja ATC stabilumas. Valgomosioms plėvelėms gauti, kaip plevėdaris, dažniausiai yra naudojama HPMC. Yra žinoma [52], kad natūralūs dažikliai, tame tarpe ATC, apsaugo HPMC plėveles nuo antioksidacinio poveikio. Tačiau, iš kitos pusės, veikiant šviesai vyksta pačių ATC destrukcija [2, 8].

Šio darbo tikslas – ištirti ATC ir jų kompleksų su κ -KARG ir ι -KARG įtaką HPMC plėvelių savybėms.

Tikslui pasiekti reikėjo išspręsti tokius uždavinius:

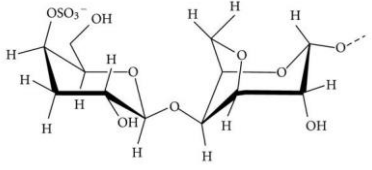
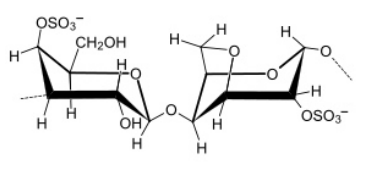
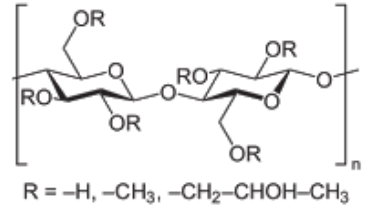
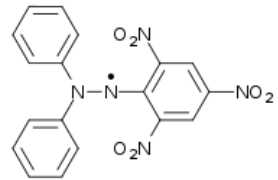
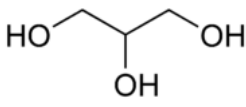
1. Įvertinti ATC ir jų kompleksų su KARG įtaką HPMC plėvelių spalvai.
2. Ištirti ATC ir jų kompleksų su KARG įtaką HPMC plėvelių vandens garų sugerčiai.
3. Ištirti ATC ir jų kompleksų su KARG įtaką HPMC plėvelių mechaninėms savybėms.
4. Ištirti HPMC plėvelėse esančių ATC ir jų kompleksų stabilumą švinant saulės šviesą imituojančia lankine ksenono lempa.

2. Medžiagos ir tyrimų metodai

2.1. Naudotos medžiagos

Pagrindinės darbe naudotos medžiagos ir jų charakteristikos yra pateiktos 2.1 lentelėje.

2.1 lentelė. Naudotos medžiagos

Cheminės medžiagos pavadinimas (trumpinys)	Formulė, sudėtis	Markė, gamintojas, grynumas
Šaldytos mėlynių uogos	-	UAB “Vetrija”, kilmės šalis Baltarusija, fasuota 2014-11-24
κ-KARG		Sigma-Aldrich, chemiškai grynas
ι-KARG		Sigma-Aldrich, chemiškai grynas
HPMC	 R = -H, -CH ₃ , -CH ₂ -CHOH-CH ₃	Sigma-Aldrich, klampa 80-120 cP, 2%
1,1-difenil-2-pikrilhidrazilas		Sigma-Aldrich, chemiškai grynas
Glicerinas		UAB “EUROCHEMICALS”, 99,5%

Druskos rūgštis	HCl	UAB “EUROCHEMICALS”, chemiškai gryna
Acto rūgštis	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{H} \end{array}$	UAB “EUROCHEMICALS”, chemiškai gryna
Natrio acetatas	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{ONa} \end{array}$	UAB “EUROCHEMICALS”, chemiškai grynus
Kalio chloridas	KCl	UAB “EUROCHEMICALS”, chemiškai grynus

2.2. Tyrimų metodai

2.2.1. Mėlynių ekstrakto ruošimas

Sutrintos mėlynių uogos buvo užpiltos distiliuotu vandeniu (masių santykis 1:1) ir 15 min maišytos magnetine maišykle kambario temperatūroje. Po to, uogų minkštimui atskirti, mišinys filtruotas pro stambų sieta, po to, pro stiklo filtrą, ir, ypač smulkioms nuosėdoms pašalinti, gautas filtratas centrifuguotas 15 min 6000 sūkių per minutę greičiu. Gautas ekstraktas iki bandymų laikytas šaldiklyje -18 °C temperatūroje. Prieš bandymus atšildytas ekstraktas dar kartą centrifuguotas 15 min 9000 sūkių per minutę greičiu.

2.2.2. Antocianinų koncentracijos nustatymas

ATC koncentracijai mėlynių ekstrakto nustatyti panaudotas skirtingų pH verčių tirpalų šviesos absorbcijos metodas [53]. Gautas mėlynių ekstraktas buvo praskiestas 10 arba 20 kartų buferiniais tirpalais, kurių pH = 1 ir pH = 4,5 ir užrašyti šviesos sugerties gautais tirpalais spektrai. ATC koncentracija (g/l) apskaičiuota:

$$C = \frac{(D_{pH1} - D_{pH4,5}) \cdot MM \cdot P}{\varepsilon \cdot l}; \quad (2.1)$$

čia: D_{pH1} ir $D_{pH4,5}$ – šviesos sugertis ATC tirpalu, kurio pH vertė, atitinkamai, 1 ir 4,5; MM – antocianinų molekulinė masė, g; P – tirpalo praskiedimas; ε – molinis ekstinkcijos koeficientas, l/mol · cm; l – matuojamo sluoksnio storis (1 cm).

ATC koncentracija mėlynių ekstrakte išreikšta cianidino-3-gliukozido ($MM=449,2$ g/mol, o $\varepsilon=26900$ l/mol · cm) koncentracija.

Buferinis tirpalas, kurio pH=1, paruoštas sumaišius 125 ml 0,2 M KCl ir 335 ml 0,2 M HCl tirpalo, o pH=4,5 – sumaišius 400 ml 1 M CH₃COONa tirpalo, 240 ml 1 M HCl tirpalo ir 360 ml distiliuoto vandens.

Šviesos sugerties spektrai užrašyti regimosios spinduliuotės spektrofotometru T60 (PG Instruments, Didžioji Britanija).

2.2.3. Hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelių gavimas

HPMC tirpalo ruošimas. Iš vakaro paruoštas 10 % HPMC tirpalas parūgštinamas 0,1 N HCl iki pH vertės 3. Tada įpilama 20 % nuo HPMC masės glicerolio. Paruoštas mišinys gerai išmaišomas. Plėvelėms išlieti imama 30 g paruošto mišinio.

KARG/ATC tirpalo paruošimas. Komplexų sudėtis išreiškiama reaguojančių medžiagų masių santykiu (KARG/ATC). Buvo ruošiami κ -KARG/ATC ir ι -KARG/ATC kompleksai, kuriuose jų masių santykis buvo KARG/ATC=0,6. Atšildytame ir centrifuguotame mėlynių ekstrakto buvo nustatyta ATC koncentracija. Komplexams sudaryti buvo imama 30 ml mėlynių ekstrakto ir tiek iš anksto paruošto 1 g/l κ -KARG ar ι -KARG tirpalo, kad gauti reikiamą masių santykį bei įpilama tiek vandens, kad bendras komplekso tirpalas būtų 60 ml. Medžiagos buvo supilamos maišant magnetine maišykle tokia tvarka: vanduo, KARG tirpalas ir ATC tirpalas.

Plėvelių liejimo mišinio paruošimas. 30 g paruošto HPMC mišinio buvo sumaišoma su 60 ml KARG/ATC kompleksų tirpalo. Plėvelėms, turinčiom tik ATC, gauti, į 10 g HPMC tirpalo buvo įpilamas mišinys sudarytas iš 30 ml ATC ir 30 ml vandens mišinio, o tik HPMC plėvelėms – 60 ml

vandens. Gaunama 90 g plėvelių liejimo mišinio. Oro burbuliukams pašalinti paruošti mišiniai 15 min veikiami ultragarsu vonelėje EMMI® 30 HC.

Plėvelių liejimas. 9,5 cm skersmens Petri lėkštelėse 0,1 g tikslumu atsveriami 25 g gauto plėvelių ruošimo mišinio. Išliejamos 3 plėvelės, kurios išdžiovinamos kambario temperatūroje.

Išdžiūvusios plėvelės atplėšiamos nuo Petri lėkštelės ir laikomos plastikiniuose maišeliuose eksikatoriuje su sausu kalcio chloridu.

2.2.4. Plėvelių ir jų liejimo mišinių spalvos įvertinimas

Plėvelių ir jų liejimo mišinių spalva išmatuota spektrofotometru CM-5 Konica Minolta, turinčiu spalvos koordinačių apskaičiavimo programą SpectraMagic™ NX.

2.2.5. Plėvelių sausų medžiagų masės nustatymas

Stikliniame biukse su dangčiu analitinėmis svarstyklėmis pasverama atkirpta plėvelės dalis ir 2 h džiovinama 105 °C temperatūroje džiovinimo spintoje. Uždengtas biuksas dedamas į eksikatorių ir po 30 min pasveriamas analitinėmis svarstyklėmis. Plėvelės sausų medžiagų kiekis (SM, %) apskaičiuojamas pagal formulę:

$$SM = \frac{m_o - m_1}{m_o} \cdot 100 ; (2.2)$$

čia: m_o – pradinė plėvelės masė, g; m_1 – plėvelės masė po džiovinimo, g.

2.2.6. Vandens garų sugerties plėvelėmis nustatymas

Stikliniuose biuksuose plėvelės, išdžiovintos 105 °C temperatūroje iki absoliučiai sausos masės ir pasvertos analitinėmis svarstyklėmis, patalpintos į 92 % pastovaus drėgnio eksikatorių, užpildytą sočiu KNO₂ tirpalu, kambario temperatūroje (20–22 °C). Tam tikrais laiko momentais

biuksai su uždarytais dangteliais, buvo pasveriami. Absorbuotas vandens garų kiekis apskaičiuotas iš bandinio masės padidėjimų ir išreikštas gramais gramui absoliučiai sausos plėvelės.

2.2.7. Mechaninių plėvelių savybių nustatymas

Mechaninės savybės įvertintos pagal ASTM D882 standarto reikalavimus. Bandymai atlikti tempimo mašina BDO-FBo.5TH (ZwickGmbH, Vokietija) kambario temperatūroje. Iš kiekvienos rūšies plėvelių buvo iškirpti 4 50 x 10 mm dydžio bandiniai. Iš gautų tempimo kreivių apskaičiuoti: stipris, pailgėjimas ir tampros modulis. Rodiklių vertė išreikšta, kaip aritmetinis 4 bandymo rezultatų vidurkis, ir pateikta su apskaičiuota vidutine kvadratine paklaida (žr. 2.3 skyrių).

2.2.8. Plėvelėse imobilizuotų ATC atsparumo šviesos poveikiui įvertinimas

Tyrimo pavyzdys buvo sudarytas iš dviejų plėvelių: viršutinės „apsauginės“ plėvelės – HPMC plėvelė be ir su ATC ar KARG/ATC kompleksu ir apatinės „saugomos“ plėvelės – HPMC plėvele turinti tik ATC. Plėvelės buvo švitinama 1, 4 ir 30 val. lankine ksenono blukinimo lempa, naudojama tekstilės nudažymo atsparumo dirbtinei šviesai pagal LST EN ISO 105-B02:2003 nustatymui VMTI Fizinių ir technologijos mokslų centro Tekstilės instituto Tekstilės medžiagų fizinių – cheminių tyrimų skyriuje.

Po bandymo plėvelės tam tikrais tiksliai atsvertais kiekiais buvo ištirpintos 20 ml vandens maišant magnetine maišykle. Gautame tirpale nustatyta ATC koncentracija ir antioksidacinis efektyvumas.

2.2.9. Antioksidacinių savybių įvertinimas

Antioksidacinės ATC ir jų kompleksų tirpalų savybės įvertintos naudojant 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilą [54]. Stikliniame mėgintuvėlyje sumaišomi 1 ml tiriamojo tirpalo ir 3 ml 0,004 % etanolinio 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilo tirpalo. Mišinys 30 min laikomas tamsoje kambario temperatūroje. Išmatuojama 517 nm monochromatinio spindulio sugertis (spektrofotometru T60, PG

Instruments, Didžioji Britanija) tiriamojo tirpalo. Kaip palyginamasis tirpalas, naudojamas „tuščias“ bandinys. Antioksidacinis efektyvumas (AOEF) apskaičiuojamas pagal formulę:

$$AOEF = \frac{A_K - A_B}{A_K} \cdot 100\%; \quad (2.3)$$

čia: A_K – palyginamojo bandinio šviesos sugertis; A_B – tiriamojo bandinio šviesos sugertis.

2.3. Rezultatų patikimumo įvertinimas

Iš gautų bandymo metu rezultatų buvo skaičiuojami aritmetiniai vidurkiai pagal formulę:

$$x = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N}; \quad (2.4)$$

čia: x – aritmetinis vidurkis; N – bandymų skaičius; x_i – vieno bandymo rezultatas.

Aritmetinio vidurkio vidutinė kvadratinė paklaida apskaičiuojama pagal formulę:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x - x_i)^2}{N - 1}}; \quad (2.5)$$

čia: S – vidutinė kvadratinė paklaida; $\sum_{i=1}^N (x - x_i)^2$ – nukrypimų nuo aritmetinio vidurkio kvadratų suma visiems bandymams; N – bandymų skaičius.

3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

Vykdamas projektą „Sveikas ir saugus maistas“ KTU Polimerų chemijos ir technologijos katedroje atlikti tyrimai parodė, kad mėlynių ekstrakto esantys ATC sudaro kompleksus tiek su viena sulfogrupę turinčiu κ -KARG, tiek su dvi sulfogrupes turinčiu ι -KARG. Kadangi įmobilizavus kompleksuose padidėja ATC stabilumas, jie galėtų būti panaudoti valgomųjų plėvelių apsauginėms savybėms pagerinti. Kaip plėvelę sudarantis polimeras, pasirinktas maisto pramonėje leidžiama HPMC.

Kompleksų pobūdis (tirpus, nano – ar mikrodalelių pavidalo) priklauso tiek nuo kompleksą sudarančių medžiagų masių santykio, tiek nuo jų bendros koncentracijos. Atlikti tyrimai (2014 m. projekto „Sveikas ir saugus maistas“ ataskaita) parodė, kad kai KARG ir ATC masių santykis yra 0,6 g/g ($KARG/ATC=0,6$), į kompleksą sujungiama apie 50 % tirpale esančių ATC. Todėl į paruoštą HPMC plėvelių liejimo mišinį buvo dedama tokios sudėties κ -KARG ir ι -KARG komplekso. Visais atvejais ATC koncentracija liejimo mišinyje buvo tokia pati ir lygi 0,2 %, o KARG – 0,12 %, HPMC koncentracija buvo 8,3 %.

3.1. Hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelių, turinčių antocianinų kompleksų su karagenanais spalvos, įvertinimas

Susidarant ATC kompleksams su anijoniniais polimerais, keičiasi jų spalva dėl hipsochrominio šviesos sugerties maksimumo poslinkio trumpesniųjų bangų link, t.y. tirpalas įgauna raudonesnį, lyginant su ATC tirpalu, atspalvį [27]. Todėl pirmajame tyrimų etape buvo įvertinta tiek liejimo tirpalų, tiek gautų plėvelių, tiek pakartotinai 20 ml vandens ištirpintų plėvelių spalva. Gauti rezultatai pateikti 3.1 lentelėje. Be to, šioje lentelėje pateiktas apskaičiuotas bendras spalvos skirtumas (ΔE_{ab}) tarp plėvelių bei jų tirpalų, kaip etaloną pasirinkus plėvelę ar jos tirpalą turintį tik ATC [55]:

$$\Delta E_{ab} = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} ; (3.1)$$

čia: ΔL – skirtumas tarp pavyzdžio ir etalono spalvos šviesume; Δa ir Δb – skirtumas tarp pavyzdžio ir etalono spalvotumo koordinatų.

Kaip matyti iš lentelėje pateiktų duomenų, daugiausiai skiriasi ATC ir ι-KARG/ATC komplekso turinčių tiek pradinių liejimo tirpalų, tiek gautų plėvelių, tiek pakartotinai ištirpintų plėvelių tirpalų spalva. ι-KARG/ATC komplekso turinčių tirpalų spalva yra tamsesnė ir mažesnio grynumo. Be to, jeigu pradinių liejimo tirpalų turinčių ATC ir ι-KARG/ATC spalvos tonas beveik nesiskiria, tai pakartotinai ištirpinus ι-KARG/ATC komplekso turinčią plėvelę, jos raudona spalva įgauną geltoną atspalvį, kas patvirtina ATC kompleksams būdingą hipsochrominį šviesos sugerties maksimumo persislinkimą. Panašūs spalvos skirtumai, tik mažiau išreikšti, gauti palyginus κ-KARG/ATC komplekso ir tik ATC turinčių plėvelių ir jų tirpalų spalvas.

3.1 lentelė. ATC ir jų kompleksų su KARG turinčių HPMC plėvelių bei jų tirpalų spalvos charakteristikos

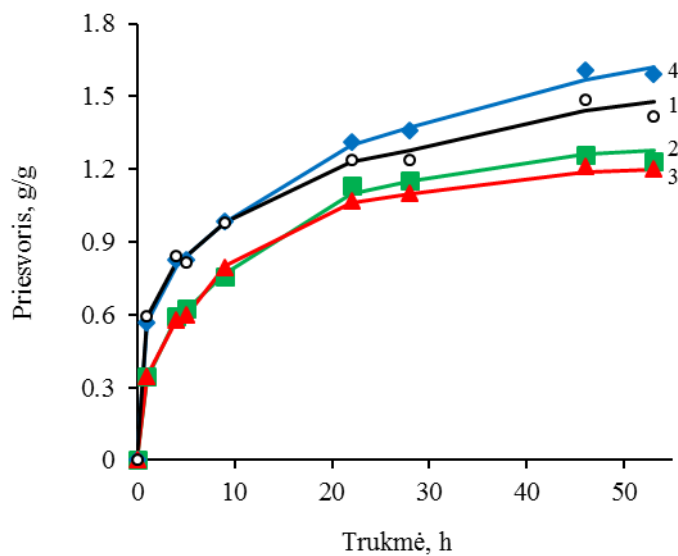
ATC ar jų kompleksas	Spalvos charakteristikos, NBS vienetais*					Bendras spalvos skirtumas ΔE_{ab} , NBS vienetais
	Šviesumas L	Spalvotumo koordinatės		Grynumas C_{ab}	Spalvos tonas H^o_{ab}	
		a	b			
Pradinių plėvelių liejimo mišinių						
ATC	35,4	66,2	58,05	88,1	41	-
κ-KARG/ATC=0,6	34,4	64,7	57,35	86,45	42	1,97
ι-KARG/ATC=0,6	30,8	59,3	52,95	79,5	42	9,71
Plėvelių						
ATC	40,2	75,2	-0,7	75,25	-1	-
κ-KARG/ATC=0,6	41,3	75,2	0,2	76,2	1	1,73
ι-KARG/ATC=0,6	41,1	76,3	3,9	76,4	3	4,84
Plėvelių tirpalų						
ATC	38,9	65,1	53,3	84,2	39	-
κ-KARG/ATC=0,6	40,8	62,7	55,0	82,6	42	4,3
ι-KARG/ATC=0,6	33,2	55,5	52,9	76,7	44	11,2

Pastaba* – išskyrus spalvos toną, kuris matuojamas laipsniais

Gauti skirtumai tarp plėvelių ir jų tirpalų spalvų, ypač pakartotinai ištirpinus plėveles vandenyje, yra vienas iš įrodymų, kad susidarę KARG/ATC kompleksai išlieka tiek plėvelės liejimo tirpale, tiek gautoje plėvelėje.

3.2. Antocianinų ir jų kompleksų su karagenanais įtaka hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelių vandens garų sugerčiai

Plėvelių savybės priklauso tiek nuo plėvėdario, tiek nuo priedų savybių. HPMC ir KARG yra hidrofiliniai polimerai, galintys adsorbuoti aplinkoje esančius vandens garus. Todėl sekančiame darbo etape buvo ištirta ATC ir KARG/ATC kompleksų įtaka vandens garų sugerčiai HPMC plėvele. Tiksliai atsvertos absoliučiai sausos plėvelės buvo patalpintos eksikatoriuje su sočiu kalio nitrato tirpalu ir pastoviu 92 % drėgniu. HPMC kiekis visose tirtose plėvelėse buvo toks pats, tačiau papildomą masę plėvelėms suteikė priedai: ATC arba KARG/ATC kompleksas. Todėl sorbuotas plėvelėmis vandens garų kiekis buvo išreikštas gramais plėvelės masės gramui. Gauti rezultatai pateikti 3.1 pav.



3.1 pav. Sugertų vandens garų kiekio, išreikšto gramai gramui plėvelės masės, priklausomybė nuo trukmės, HPMC plėvele (1) ir HPMC plėvele, turinčia: 2 – ATC; 3 – ι -KARG/ATC=0,6; 4 – κ -KARG/ATC=0,6. Vandens garų drėgnis eksikatoriuje 92 %, temperatūra 21 ± 1 °C

Kaip matyti iš paveiksle pateiktų duomenų, visos plėvelės sparčiai absorbavo vandens garus pirmąsiais 10 h, po to, vandens garų sorbcija sulėtėjo. Priedų įtaka vandens garų sorbcijai HPMC plėvele nevienareikšmė. Palyginus su HPMC plėvele be priedų (3.1 pav., 1 kr.), κ -KARG/ATC=0,6 komplekso priedas padidino sorbuojamą vandens garų kiekį (3.1 pav., 4 kr.). Tuo tarpu plėvelės, turinčios ATC ar ι -KARG/ATC=0,6 komplekso sorbavo mažiau vandens garų. Skirtinga κ -KARG/ATC ir ι -KARG/ATC kompleksų įtaka hidrofilinėms HPMC plėvelės savybėms gali būti paaiškinta skirtingu sulfogrupių kiekiu. ι -KARG turi dvi sulfogrupes, o κ -KARG – vieną sulfogrupę. Kompleksų su ATC sudėtis yra išreiškiama masių santykių, kadangi vandeninėje mėlynių ištraukoje yra skirtingos sudėties ATC [27], o koncentracija išreiškiama cianidino-3-gliukozido ekvivalentais. Todėl, galima galvoti, kad ι -KARG/ATC atveju pasireiškia stipresnė elektrostatinė sąveika tarp ι -KARG sulfogrupių ir teigiamo krūvio ženklo flavilio katijono, kas pakeičia hidrofilinį/hodrofobinį komplekso balansą.

3.3. Antocianinų ir jų kompleksų su karagenanais įtaka hidroksoipilmetilceliuliozės plėvelių mechaninėms savybėms

Iš aukščiau pateiktų duomenų seka, kad esant tam tikram laboratorijos aplinkos oro drėgniui, priklausomai nuo priedo HPMC plėvelės turės skirtingą sausų medžiagų kiekį. Be to, nors HPMC kiekis visose plėvelėse yra toks pat, priedai padidina jų storį. Kaip matyti iš 3.2 lentelėje pateiktų duomenų, plėvelės turinčios ATC ar KARG/ATC komplekso yra beveik 1,5 karto storesnės. Be to, kaip buvo galima tikėtis, HPMC plėvelė be priedo bei plėvelė turinti κ -KARG/ATC=0,6 komplekso turi didesį sorbuotos drėgmės kiekį. Visa tai turi keisti mechanines plėvelių savybes.

3.2 lentelė. ATC ir KARG/ATC kompleksų turinčių HPMC plėvelių charakteristikos

HPMC plėvelėje esantis priedas	Plėvelės storis, μm	Drėgmės kiekis, %
Be priedo	79 $\pm$ 7	23
ATC	120 $\pm$ 5	10
κ -KARG/ATC=0,6	124 $\pm$ 12	28
ι -KARG/ATC=0,6	114 $\pm$ 11	10

Mechaninės savybės įvertintos pagal ASTM D882 standarto reikalavimus. Gauti rezultatai su apskaičiuota vidutine kvadratine nuokrypa pateikti 3.3 lentelėje.

3.3 lentelė. ATC ir KARG/ATC kompleksų įtaka mechaninėms HPMC plėvelių savybėms

HPMC plėvelėje esantis priedas	Stipris tempiant, MPa	Santykinis trūkstamasis pailgėjimas, %	Tampros modulis, N/m ²
Be priedo	44±4	32±4	950±90
ATC	31±3	42±6	390±10
κ-KARG/ATC=0,6	24±4	41±11	300±30
ι-KARG/ATC=0,6	32±2	42±6	410±40

Kaip matyti iš 3.3 lentelėje pateiktų duomenų, pridėjus į HPMC plėvelę ATC ar KARG/ATC komplekso jų stipris tempiant sumažėja, o santykinis trūkstamasis pailgėjimas padidėja. Ypatingai ženkliai, beveik 1,8 karto, sumažėja stipris tempiant, kai plėvelėje yra κ-KARG/ATC=0,6 komplekso. Tuo tarpu HPMC plėvelių, turinčių ATC ar ι-KARG/ATC=0,6 komplekso, stipris tempiant yra panašus ir 1,4 karto mažesnis už HPMC plėvelės be priedų. Santykinis trūkstamasis pailgėjimas HPMC plėvelių turinčių ATC ar KARG/ATC komplekso yra panašus ir 1,3 karto didesnis. HPMC plėvelių tampros modulis, įvertinantis medžiagos atsparumą tempimui, pridėjus ATC ar jų kompleksų su ATC sumažėja daugiau kaip 2 kartus.

Pateikti HPMC plėvelių mechaninių savybių duomenis rodo, kad tiek ATC, tiek jų kompleksai su KARG ženkliai sumažina plėvelės stiprumą. Didžiausi stiprumo nuostoliai gaunami, kai į HPMC plėvelę yra įdėta κ-KARG/ATC=0,6 komplekso.

3.4. Hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelėse įmobilizuotų antocianinų stabilumas švitinant lankine ksenono lempa

Iš literatūros [56] yra žinoma, kad HPMC plėvelėse esantys natūralūs dažikliai, tame tarpe ATC, apsaugo HPMC nuo šviesos inicijuotos polimero destrukcijos, tačiau nėra duomenų apie pačių ATC atsparumą šviesos poveikiui.

Šios darbo dalies tikslas buvo ištirti HPMC plėvelėse įmobilizuotų ATC atsparumą šviesai. Tiriami pavyzdžiai buvo sudaryti iš dviejų plėvelių. Viršutinė plėvelė – HPMC plėvelė be arba turinti ATC ir kompleksų su KARG. Apatinė plėvelė buvo HPMC plėvelė turinti ATC. Plėvelės buvo švitinamos 4 ir 30 h lankine ksenono blukinimo lempa, naudojama tekstilės nudažymo atsparumo dirbtinei šviesai pagal LST EN ISO 105-B02:2003 nustatymui VMTI Fizinių ir technologijos mokslų centro Tekstilės instituto Tekstilės medžiagų fizinių-cheminių tyrimų skyriuje. Po švitinimo visos plėvelės buvo ištirpintos vandenyje ir nustatyta liekamoji ATC koncentracija bei antioksidacinės savybės naudojant 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilą. Iš viršutinėse plėvelėse likusio ATC kiekio (g/g plėvelės) ir antioksidacinio efektyvumo pasikeitimo galima spręsti apie ATC mobilizacijos kompleksuose su KARG įtaką stabilumui švitinant, o apatinėse plėvelėse – apie apsaugines viršutinių plėvelių savybes. Duomenys apie ATC kiekio ir antioksidacinio efektyvumo kitimą viršutinėse plėvelėse pateikti 3.4 lentelėje.

Kaip matyti iš 3.4 lentelėje pateiktų duomenų, nepaisant to, kad ruošiant plėvelių liejimo mišinius buvo įdėtas toks pat ATC kiekis, išdžiovintose plėvelėse jis skiriasi. Viena galimų to priežasčių, kad džiovinant plėvelės ore kambario temperatūroje šviesiu paros metu ATC suskilo ir toks skilimas buvo intensyvesnis kai ATC nebuvo sujungtas į kompleksą su KARG. Lankinės ksenono lempos skleidžiama šviesa yra daug intensyvesnė, todėl ATC destrukcija vyko intensyviai ir mažai priklausė nuo to, ar ATC sujungtas į kompleksą su KARG. Tačiau antioksidacinis efektyvumas nesuskilusios ATC dalies ženkliai skyrėsi. Nors likutinis ATC kiekis plėvelėse po 30 h švitinimo skyrėsi nedaug, antioksidacinis efektyvumas labai skyrėsi. Kai plėvelėje buvo tik ATC, po 30 h švitinimo, likę ATC neturėjo antioksidacinio poveikio. Tuo tarpu įmobilizuotų ATC kompleksuose su KARG antioksidacinis efektyvumas po 30 h vis dar buvo 17–18 %.

3.4 lentelė. HPMC plėvelėje įmobilizuotų ATC ir KARG/ATC kompleksų įtaka ATC stabilumui švitinant lankine ksenono lempa

Švitinimo trukmė, h	ATC kiekis, $\cdot 10^3$ g/g	ATC kiekio sumažėjimas, %	Antioksidacinis efektyvumas, %
ATC			
0	5,9	-	66
4	5,2	13	57
30	2,3	61	0
κ -KARG/ATC=0,6			
0	6,9	-	65
4	5,6	20	64
30	2,4	66	17
ι -KARG/ATC=0,6			
0	7,5	-	67
4	6,2	17	64
30	2,9	62	18

3.5 lentelėje yra pateikti duomenys apie ATC kiekio ir antioksidacinio efektyvumo sumažėjimą plėvelėje, kuri buvo apsaugota nuo tiesioginio ksenono lempos šviesos poveikio HPMC plėvele be priedų ar turinčių ATC tiek vienų, tiek sujungtų į kompleksus. Kadangi po keturių valandų švitinimo tiek ATC kiekis apsaugotose plėvelėse, tiek antioksidacinis efektyvumas nepasikeitė, lentelėje pateikti duomenys po 30 h švitinimo. Kaip matyti iš lentelėje pateiktų duomenų, HPMC plėvelėse esantys ATC buvo geriau apsaugoti nuo ardomojo šviesos poveikio, kai buvo uždengti plėvelėmis turinčiomis ATC. Būdami raudonos spalvos ATC sugeria intensyvesnius mėlynos ir žalios regimosiomis spinduliuotės zonų spindulius, tuo pačiu apsaugodami nuo jų žalingo poveikio. Daugiausiai ATC liko plėvelėje, uždengtoje plėvele turinčia κ -KARG/ATC=0,6 komplekso – liko 78 % ATC, o antioksidacinis efektyvumas sumažėjo tik 0,5 %.

3.5 lentelė. Apsauginės HPMC plėvelės sudėties įtaka saugomoje plėvelėje esančių ATC savybių kitimui po 30 h švitinimo lankine ksenono lempa

HPMC plėvelėje esantis priedas	Sumažėjimas, %, po 30 h švitinimo	
	ATC kiekio	Antioksidacinio efektyvumo
Be priedo	43	6,4
ATC	30	2,7
κ -KARG/ATC=0,6	22	0,5
ι -KARG/ATC=0,6	31	1,7

Išvados

1. Suformuotos hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelės, turinčios antocianinų arba antocianinų kompleksų su κ -karagenanu arba ι -karagenanu. Karagenano ir antocianinų masių santykis komplekse buvo 0,6.

2. Ištirta antocianinų ir jų kompleksų su κ -karagenanu ir ι -karagenanu įtaką hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelių savybėms:

2.1. Išmatavus plėvelių liejimo mišinių, suformuotų plėvelių ir pakartotinai ištirpintų plėvelių tirpalų spalvą gauta, kad tiek κ -karagenano, o ypač ι -karagenano kompleksai keičia plėvelių ir jų tirpalų spalvą bei patvirtina, kad kompleksai nesuyra plėvelių formavimo metu.

2.2. Nustatyta, kad vandens garų adsorbcija hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelėmis priklauso nuo jose esančių priedų: hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelė turinti κ -karagenano ir antocianinų komplekso, kurių masių santykis lygus 0,6, absorbavo daugiau, o plėvelės turinčios antocianinų ar ι -karagenano ir antocianinų komplekso, kurių masių santykis taip pat lygus 0,6 – mažiau vandens garų, palyginus su hidroksipropilmetilceliuliozės plėvele be priedų.

2.3. Hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelių mechaninių savybių tyrimai parodė, kad tiek antocianinai, tiek jų kompleksai su karagenanais ženkliai sumažina plėvelės stiprumą. Didžiausi stiprumo nuostoliai gaunami, kai į hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelę yra įdėta κ -karagenano ir antocianinų komplekso, kurių masių santykis lygus 0,6.

2.4. Įmobilizuotų hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelėse antocianinų stabilumo švitinant tyrimai parodė, kad antocianinų destrukcija vyko intensyviai ir mažai priklausė nuo to, ar antocianinai sujungti į kompleksą su karagenanais, tačiau antocianinų įmobilizuotų kompleksuose su karagenanais antioksidacinis efektyvumas buvo didesnis.

2.5. Hidroksipropilmetilceliuliozės plėvelės su antocianiniais apsaugo nuo ardomojo regimosios šviesos poveikio.

Literatūros sąrašas

1. Castaneda-Ovado A., Pacheco-Hernandez L., Paez-Hernandez E., Rodriguez A. J., Galan-Vidal C. A. Chemical studies of anthocyanins. *Food Chemistry*, 2009, vol. 113, p. 859–871.
2. Cavalcanti R. N., Santos D. T., Meireles M. A. A. Non-thermal stabilization mechanism of anthocyanins in model and food system. *Food Research International*, 2011, vol. 44, p. 499–509.
3. Andersen, M.; Jordheim, M. Flavonoids chemistry, biochemistry and applications. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006, 1237 p.
4. Heredia F. J., Francia-Aricha E. M., Rivas-Gonzalo J. C., Vicario I. M., Santos-Buelga C. Chromatic characterization of anthocyanins from red grapes – 1 pH effect. *Food Chemistry*, 1998, vol. 63, p. 491–498
5. Fleschut J., Kratzer F., Rechkemmer G., Kulling S. E. Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins in vitro. *European Journal of Nutrition*, 2006, vol. 45, p. 7–18.
6. Jimenez N., Bohuon P., Lima J., Dornier M., Vaillant F., Perez A. M. Kinetics of anthocyanin degradation and browning in reconstitute blackberry juice treated at high temperatures (100 – 180 °C). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2010, vol. 58, p. 2314–2322.
7. Giusti M. M., Wrolstad R. E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, 2003, vol. 14, p. 217–225.
8. Thakur B. R., Arya S. S. Studies on stability of blue grape anthocyanins. *International Journal of Food Science and Technology*, 1989, vol. 24, p. 321–326.
9. Rubinskiene M., Viskelis P., Jasutienė I., Viskeliene R., Bobinas C. Impact of various factors on the composition and stability of black currant anthocyanins. *Food Research International*, 2005, vol. 38, p. 867–871.
10. Pacheco-Palencia L. A., Hawken P., Talcott S. T. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of acai (*Euterpe oleracea*. Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. *Food Research International*, 2007, vol. 40, p. 620–628.
11. Kader F., Rovel B., Girardin M., Metche M. Mechanism of Browning in Fresh Highbush Blueberry Fruit (*Vaccinium corymbosum*. L.). Partial Purification and Characterisation of

- Blueberry Polyphenol Oxidase. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1997, vol.73, p. 513–516.
12. Ersus S., Yurdagel U. Microencapsulation of anthocyanins pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. *Journal of Food Engineering*, 2007, vol. 80, p. 805–812.
 13. Xiong S., Melton L. D., Easteal A. J., Siew D. Stability and antioxidant activity of black currant anthocyanins in solutions and encapsulated in glucan gel. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, vol. 54, p. 6201–6208.
 14. Ferreira D. S., Faria A. F., Grosso C. R. F., Mercadante A. Z. Encapsulation of blackberry anthocyanins by thermal gelation of curdlan. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2009, vol. 20, p. 1908–1915.
 15. Hoshino T., Matsumoto U., Goto T. Evidences of the self-association of anthocyanins I. Circular Dichroism of cyanin anhydrobase. *Tetrahedron Letters*, 1980, vol. 21, p. 1751–1754.
 16. Gonzalez-Manzano S., Santos-Buelga C., Duenas M., Rivas-Gonzalo J. C., Escribano-Bailon T. Colour implications of self-association processes of wine anthocyanins. *European Food Research and Technology*, 2008, vol. 226, p. 483–490.
 17. Brouillard R. The in vivo expression of anthocyanins color in plants. *Phytochemistry*, 1983, vol. 22, p. 1311–1323.
 18. Dangles O., Saito N., Brouillard R. Anthocyanin intramolecular copigment effect. *Phytochemistry*, 1993, vol. 34, p. 119–124.
 19. Jasmina M., Petranovic N. A., Baranac J. M. A spectrophotometric study of the copigmentation of malvin with caffeic and ferulic acids. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2000, vol. 48, p. 5530–5536.
 20. Davies A. J., Mazza G. Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1993, vol. 41, p. 716–720.
 21. Brouillard R., Wigand M. C., Dangles O., Cheminat A. pH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine derivatives. *Journal of Chemical Society. Perkin Transactions*, 1991, vol. 2, p. 1235–1241.
 22. Berke B., de Freitas V. A. P. Influence of procyanidin structures on their ability to complex with oenin. *Food Chemistry*, 2005, vol. 90, p. 453–460.

23. He J., Carvalho A. R. F., Mateus N., de Freitas V. Spectral features and stability of oligomeric pyranoanthocyanin-flavanol pigments isolated from red wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2010, vol. 58, p. 9249–9258.
24. Schwarz M., Wabnitz T. C., Winterhalter P. Pathway leading to the formation of anthocyanin-vinylphenol adducts and related pigments in red wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2003, vol. 51, p. 3682–3687.
25. Eiro M. J., Heinonen M. Anthocyanin color behavior and stability during storage: effect of intermolecular copigmentation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2002, vol. 50, p. 7461–7466.
26. Jeong D., Na K. Chondroitin sulfate based nanocomplex for enhancing the stability and activity of anthocyanin. *Carbohydrate Polymers*, 2012, vol. 90, p. 507–515.
27. Klimaviciute R., Navikaite V., Jakstas V., Ivanauskas L. Complexes of dextran sulfate and anthocyanins from *Vaccinium myrtillus*: formation and stability. *Carbohydrate Polymers*, 2015, vol. 129, p. 70-78.
28. Drager, G.; Krause, A.; Moller, L.; Dumitriu, S. Handbook of Biodegradable Polymers. Vokietija: Willey-WCH, 2011, 160-162 p.
29. Van De Velde F., Peppelman H. A., Rollema H. S., Tromp, R. H. On the structure of kappa/iota-hybrid carrageenans. *Carbohydrate Research*, 2001, vol. 331, p. 271-283.
30. Stanley, N: FAO Corporate document repository. USA: FMC Corporation, 2011
31. Shi, X.; Song, E.; Zhang, C. Marine Biomaterials. Characterization, Isolation and Applications. New York: Taylor & Francis Group, 2013, 789-790 p.
32. Macquarrie R. U.S. Patent. 2000, no. 0155200.
33. Karbowski T., Debeaufort F., Champion D., Voilley A. Wetting properties at the surface of iota-carrageenan-based edible films. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2006, vol. 294, p. 400-410.
34. Sanchez-Garcia M. D., Hilliou L., Lagaron J. M. Morphology and Water Barrier Properties of Nanobiocomposites of κ/ι -Hybrid Carrageenan and Cellulose Nanowhiskers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, vol. 58, p. 12847-12857.
35. Embuscado, M. E.; Huber, K. C. Edible Films and Coatings for Food Applications. New York:

Springer New York, 2009, 1-245 p.

36. Leskauskaitė D., Mažuknaitė I., Vinauskienė R., Pukinskytė S., Vinauskaitė R. Valgomųjų išrūgų baltymų plėvelių savybės ir jų įtaka šviežios mėsos kokybei. *Maisto chemija ir technologija*, 2010, T. 44, Nr. 2, p. 35-42
37. Alain, D.; Sabu, T.; Laly, A. P. Biopolymer Nanocomposites: Processing, Properties, and Applications. Hoboken: John Wiley & Sons, 2013, 300-320 p.
38. Mažonienė, E.; Bendoraitienė, J. Pluoštai. Vilnius: Vilniaus pedagoginio universiteto leidykla, 2008, 109-110 p., 67-68 p.
39. Ostrauskaitė, J.; Gražulevičius, J. V. Polimerinių atliekų grįžtamasis perdirbimas. Kaunas: Vitae Litera, 2007, 155-175 p.
40. Skurtys, O.; Acevedo, C.; Pedreschi, F.; Enrione, J.; Osorio, F.; Aguilera, J.M. Food Hydrocolloid Edible Films and Coatings. New York : Nova Science Publishers, 2010, 13-14 p.
41. Vareikis, A. Polimerinės dangos. Vilnius: TEV, 2012, 200 p.
42. Seuvre A. M., Philippe E., Rochard S., Voilley A. Retention of aroma compounds in food matrices of similar rheological behaviour and different compositions. *Food Chemistry*, 2006, vol. 96, p. 104-114
43. Žemaitaitis, A. Polimerų fizika ir chemija: vadovėlis aukštųjų mokyklų studentams. Kaunas: Technologija, 2001, 194-195 p.
44. Bonilla J., Atarés L., Vargas M., Chiralt, A. Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: possibilities and limitations. *Journal of Food Engineering*, 2012, vol. 110, p. 208-213
45. Silva-Weiss A., Ihl M., Sobral P. J. A., Gomez – Guillen M.C., Bifani V. Natural Additives in Bioactive Edible Films and Coatings: Functionality and Applications in Foods. *Food Engineering Reviews*, 2013, vol. 5, p. 200–216
46. Han J. H., Gennadios A. Edible films and coatings: a review. *In Innovations in Food Packaging*, 2005, 503 p.
47. Souza A. C., Benze R., Ferrão E. S., Ditchfield C., Coelho A. C. V., Tadini C. C. Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. *LWT - Food Science and technology*, 2012,

vol. 46, p.110-117

48. Jiménez A., Fabra M. J., Talens P., Chiralt A. Effect of re-crystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids. *Food Hydrocolloids*, 2012, vol. 26, p. 302-310
49. Zhou W., Shao Z. P., Ran R., Jin W. Q., Xu N. P. Functional nano-composite oxides synthesized by environmental-friendly auto-combustion within a micro-bioreactor. *Materials Research Bulletin*, 2008, vol. 43, p. 2248-2259.
50. Gražulevičius, J. V.; Kavaliūnas, R. Medienos cheminė technologija. Vilnius: TEV, 2012, 7-9 p.
51. Savadekar N. R., Karande V. S., Vigneshwaran N., Bharimalla A. K., Mhaske S. T. Preparation of nano cellulose fibers and its application in kappa-carrageenan based film. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2012, vol. 51, p. 1008-1013.
52. Akhtar M. J., Jacquot M., Jasniewski J., Jacquot C., Imran M., Jamshidian M., Paris C., Desobry S. Antioxidant capacity and light-aging study of HPMC films functionalized with natural plant extract. *Carbohydrate Polymers*, 2012, vol. 89, p. 1150–1158.
53. Wrolstad R. E., Durst R. W., Lee J. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science & Technology*, 2005, vol. 16, p. 423–428.
54. Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 1995, vol. 28, p. 25–30.
55. CIE Technical Report. Colorimetry. Third Edition. CIE15.2:2004
56. Akhtar M. J., Jacquot M., Jasniewski J., Jacquot C., Imran M., Jamshidian M., Paris C., Desobry S. Antioxidant capacity and light-aging study of HPMC films functionalized with natural plant extract. *Carbohydrate Polymers*, 2012, vol. 89, p. 1150–1158.