



**Kauno technologijos universitetas**

Cheminės technologijos fakultetas

**Valgomųjų plėvelių su spanguolių išspaudų ekstraktu  
fizikinės-mechaninės ir antimikrobinės savybės bei  
pritaikymas žuvies produktų gamyboje**

Baigiamasis magistro projektas

---

**Gabrielė Urbonavičiūtė**

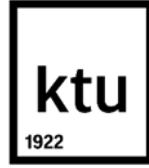
Projekto autorė

**Doc. dr. Aušra Šipalienė**

Vadovė

---

**Kaunas, 2021**



**Kauno technologijos universitetas**  
Cheminės technologijos fakultetas

**Valgomųjų plėvelių su spanguolių išspaudų ekstraktu  
fizikinės-mechaninės ir antimikrobinės savybės bei  
pritaikymas žuvies produktų gamyboje**

Baigiamasis magistro projektas  
Maisto mokslas ir sauga (6211FX011)

---

**Gabrielė Urbonavičiūtė**

Projekto autorė

**Doc. dr. Aušra Šipalienė**

Vadovė

**Lekt. dr. Viktorija Eisinaitė**

Recenzentė

---

**Kaunas, 2021**



**Kauno technologijos universitetas**

Cheminės technologijos fakultetas

Gabrielė Urbonavičiūtė

## **Valgomųjų plėvelių su spanguolių išspaudų ekstraktu fizikinės-mechaninės ir antimikrobinės savybės bei pritaikymas žuvies produktų gamyboje**

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

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

Gabrielė Urbonavičiūtė

*Patvirtinta elektroniniu būdu*

Urbonavičiūtė, Gabrielė. Valgomųjų plėvelių su spanguolių išspaudų ekstraktu fizikinės-mechaninės ir antimikrobinės savybės bei pritaikymas žuvies produktų gamyboje. Magistro baigiamasis projektas / vadovė doc. dr. Aušra Šipalienė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

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

Reikšminiai žodžiai: valgomosios plėvelės, alginatas, pektinas, spanguolių išspaudų ekstraktas, komercinis vynuogių ekstraktas, silkė, biogeniniai aminorai.

Kaunas, 2021. 61 p.

### **Santrauka**

Šiame baigiamajame magistro darbe tirta džiovavimo temperatūros (45, -180 °C), alginato:pektino santykio (1:0–0:1), glicerolio koncentracijos (1, 3, 5 %) ir ekstraktų (komercinio vynuogių, spanguolių išspaudų) įtaka valgomųjų plėvelių savybėms bei plėvelių panaudojimo galimybės silkės gamyboje. Nustatyta, kad didesnėje temperatūroje džiovintos plėvelės pasižymi geresnėmis mechaninėmis savybėmis. Didinant alginato kiekį (mažinant pektino kiekį) bei mažinant glicerolio koncentraciją plėvelės pasižymi didesniu stiprumu ir geresnėmis drėgmės barjerinėmis savybėmis, tačiau mažesniu elastingumu. Palankiausiomis valgomųjų plėvelių savybėmis pasižymi plėvelės, kuriose alginato:pektino santykis yra 7:3 bei naudojama 1 % glicerolio koncentracija. Naudojant ekstraktus, plėvelės pasižymi geresniu slopinamuoju poveikiu prieš *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* ir *Escherichia coli* bakterijas, tačiau mažesnėmis stipruminėmis bei drėgmės barjerinėmis savybėmis. Plėvelės su ekstraktais gali pailginti silkės tinkamumo vartoti trukmę, mažindamos *Listeria monocytogenes* ir *Pseudomonas aeruginosa* bakterijų skaičių. Geriausiu slopinamuoju poveikiu prieš tirtus mikroorganizmus pasižymi silkės mėginiai, kuriose naudotos alginato-pektino plėvelės su komerciniu vynuogių ekstraktu.

Urbonavičiūtė, Gabrielė. Physico-Mechanical, Antimicrobial Properties of Edible Films with Cranberry Pomace Extract and Application in the Production of Fish. Master's Final Degree Project / supervisor assoc. prof. Aušra Šipailienė; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

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

Keywords: edible films, alginate, pectin, cranberry pulp extract, commercial grape extract, herring, biogenic amines.

Kaunas, 2021. 61 pages.

### **Summary**

In this final master's thesis was researched the drying temperatures (45, -180 °C), alginate:pectin ratio (1:0–0:1), glycerol concentration (1, 3, 5 %) and extracts (commercial grapes, cranberry pulp) on the properties of edible films and the possibilities of using the films in the production of herring. Films dried at higher temperatures were found to have stronger mechanical properties. Increasing alginate content (decreasing pectin content) and decreasing glycerol concentration, films have higher strength and better barrier properties, but they have less elasticity. The most favourable properties of edible films are those in which the alginate:pectin ratio is 7: 3 and a glycerol concentration of 1 % is used. When using extracts, the films have a better inhibitory base against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*, but with lower strength and moisture barrier properties. Films with extracts can prolong the shelf life of herring by reducing the number of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas aeruginosa*. Herring samples using alginate-pectin films with commercial grape extract have the best inhibitory effect against the tested microorganisms.

## TURINYS

<b>LENTELIŲ SĄRAŠAS</b> .....	8
<b>PAVEIKSLŲ SĄRAŠAS</b> .....	9
<b>SANTRUMPŲ SĄRAŠAS</b> .....	10
<b>ĮVADAS</b> .....	11
<b>1. LITERATŪROS APŽVALGA</b> .....	12
1.1. Valgomosios plėvelės .....	12
1.1.1. Valgomųjų plėvelių sudėtis .....	12
1.1.2. Polisacharidinės plėvelės .....	13
1.1.2.1. Alginatas .....	14
1.1.2.2. Pektinas.....	14
1.1.2.3. Polisacharidų mišiniai .....	15
1.2. Valgomųjų plėvelių priedai .....	16
1.2.1. Antimikrobiniai priedai .....	17
1.2.1.1. Spanguolės.....	18
1.2.1.2. Vynuogės .....	19
1.3. Valgomųjų plėvelių savybės.....	19
1.4. Valgomųjų plėvelių panaudojimo galimybės .....	21
1.4.1. Valgomųjų plėvelių panaudojimas žuvies gamyboje .....	21
1.5. Tyrimo tikslų ir uždavinių pagrindimas .....	24
<b>2. MEDŽIAGOS IR JŲ TYRIMO METODAI</b> .....	25
2.1. Naudotos medžiagos.....	25
2.2. Tyrimų metodai .....	25
2.2.1. Plėvelių formavimas .....	25
2.2.2. Plėvelių tyrimo metodai .....	27
2.2.3. Ekstraktų ir valgomųjų plėvelių su ekstraktais antimikrobinio aktyvumo nustatymas .....	28
2.2.4. Silkės tyrimai.....	29
<b>3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS</b> .....	25
3.1. Plėvelių sudedamųjų komponentų ir džiovavimo temperatūros įtaka plėvelių savybėms.....	32
3.1.1. Polisacharidinių tirpalų cheminės savybės .....	32
3.1.2. Valgomųjų plėvelių mechaninės savybės.....	32
3.1.3. Valgomųjų plėvelių fizikinės savybės .....	35
3.2. Antimikrobinės savybės .....	38
3.2.1. Ekstraktų antimikrobinis aktyvumas .....	38
3.2.2. Valgomųjų plėvelių su ekstraktais antimikrobinis aktyvumas .....	39
3.3. Ekstraktų įtaka plėvelių savybėms .....	40
3.3.1. Ekstraktų įtaka plėvelių cheminėms savybėms .....	40
3.3.2. Ekstraktų įtaka plėvelių mechaninėms savybėms .....	40

3.3.3. Ekstraktų įtaka plėvelių fizikinėms savybėms .....	41
3.4 Plėvelių įtaka silkės galiojimo trukmei .....	43
<b>IŠVADOS</b> .....	50
<b>LITERATŪROS SĄRAŠAS</b> .....	51
<b>PRIEDAI</b> .....	59
1 priedas. Ekstraktų slopinimo zonos .....	59
2 priedas. Plėvelių su ekstraktais slopinimo zonos .....	60
3 priedas. Plėvelių ir ekstraktų įtaka vizualiems silkės, užkrėstos <i>L. monocytogenes</i> , pokyčiams ..	61

## LENTELIŲ SĄRAŠAS

1 lentelė.	Paruoštų plėvelių sudėtis.....	26
2 lentelė.	Silkės mėginiai.....	30
3 lentelė.	Kalcio chlorido įtaka vizualioms plėvelių savybėms.....	42
4 lentelė.	Plėvelių ir ekstraktų įtaka vizualiems silkės, užkrėstos <i>P. aeruginosa</i> , pokyčiams.	44
5 lentelė.	<i>P. aeruginosa</i> bakterijų skaičiaus įtaka biogeninių aminių kiekiui.....	47
6 lentelė.	<i>L. monocytogenes</i> bakterijų skaičiaus įtaka biogeninių aminių kiekiui.....	48

## PAVEIKSLŲ SĄRAŠAS

1 pav.	Valgomųjų plėvelių klasifikacija.....	12
2 pav.	Alginato cheminė formulė.....	14
3 pav.	Pektino cheminė formulė.....	15
4 pav.	Augalinės kilmės fenolių grupės.....	17
5 pav.	Ekstraktų atsparumo įvertinimas difuzijos į agarą metodu.....	29
6 pav.	Alginato:pektino santykio ir glicerolio koncentracijos įtaka polisacharidinių tirpalų pH.....	32
7 pav.	Plėvelių džiovavimo temperatūros <i>a)</i> 45 °C ir <i>b)</i> -180 °C, alginato:pektino santykio ir glicerolio koncentracijos įtaka plėvelių pradūrimo jėgai.....	33
8 pav.	Džiovavimo temperatūros <i>a)</i> 45 °C ir <i>b)</i> -180 °C įtaka plėvelių išvaizdai, kuriose alginato:pektino santykis 7:3, o glicerolio koncentracija 1 %.....	33
10 pav.	Alginato:pektino santykio ir glicerolio koncentracijos įtaka plėvelių vandens garų pralaidumui.....	35
11 pav.	Alginato:pektino santykio ir glicerolio koncentracijos įtaka plėvelių storiui <i>a)</i> prieš tinklinimą ir <i>b)</i> po tinklinimo.....	36
12 pav.	Alginato:pektino santykio ir glicerolio koncentracijos įtaka plėvelių drėgmės sugėrimui pagal plėvelių <i>a)</i> svorį ir <i>b)</i> plotą.....	37
13 pav.	Alginato:pektino santykio <i>a)</i> 1:0 <i>b)</i> 9:1 <i>c)</i> 8:2 <i>d)</i> 7:3 įtaka plėvelių, su 1 % glicoliu, drėgmės sugėrimui.....	37
14 pav.	Ekstraktų antimikrobinis aktyvumas.....	38
15 pav.	Ekstraktų įtaka <i>a)</i> netinklintų <i>b)</i> tinklintų plėvelių antimikrobiniam aktyvumui.....	39
16 pav.	Ekstraktų įtaka plėvelių pradūrimo jėgai <i>a)</i> ir elastingumui <i>b)</i> .....	40
17 pav.	Ekstraktų įtaka plėvelių vandens garų pralaidumui.....	41
18 pav.	Ekstraktų ir kalcio chlorido įtaka plėvelių storiui.....	42
19 pav.	Ekstraktų įtaka plėvelių drėgmės sugėrimui.....	43
20 pav.	Plėvelių ir ekstraktų įtaka <i>P. aeruginosa</i> bakterijų skaičiui silkės mėginiuose.....	44
21 pav.	Plėvelių ir ekstraktų įtaka <i>L. monocytogenes</i> bakterijų skaičiui silkės mėginiuose.....	45

## SANTRUMPŲ SĄRAŠAS

DE	Metoksilo laipsnis
HMP	Didesnį metoksilo laipsnį (>50 %) turintys pektinai
LMP	Mažesnį metoksilo laipsnį (<50 %) turintys pektinai
FDA	JAV maisto ir vaistų organizacija
WVP	Vandens garų pralaidumas
ZEO	<i>Ziziphora clinopodioides</i> eterinis aliejus
APIE	Obuolių ekstraktas
TP	Arbatos polifenoliai
ZMEO	<i>Zataria multiflora</i> eterinis aliejus
GSE	Vynuogių ekstraktas
SD	Plėvelių drėgmės sugėrimas
PCA	Plate Count Agar terpė
HPLC	Didelio efektyvumo skysčių chromatografija
KVE	Komercinis vynuogių ekstraktas
NSE	Nefrakcionuotas spanguolių išspaudų ekstraktas
MMMSE	Mažos molekulinės masės spanguolių išspaudų ekstraktas
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i>
<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>S. typhimurium</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>E. coli</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>

## ĮVADAS

Valgomosios plėvelės yra plonas biologiškai skaidomų polimerų sluoksnis, naudojamas užtikrinti maisto produktų kokybę, apsaugant produktus nuo biologinių, mechaninių ir fizikinių pakitimų. Jos yra pranašesnės, nei šiuo metu naudojamos sintetinės plėvelės, nes jų panaudojimas leidžia sumažinti iš pakuotės į maistą migruojančių sintetinių medžiagų kiekį bei aplinkos užterštumą, mažinant plastiko atliekų kiekį.

Plėvelės gali būti gaunamos iš atsinaujinančių žaliavų, tokių kaip polisacharidai, lipidai, proteinais ir jų kompozicijos. Tinkamai suderinus kompozicinių plėvelių komponentus ir jų santykį, pavyzdžiui, alginato-pektino, susidaro sinergizmas, kuris sustiprina plėvelių panaudojimui reikalingas savybes, tokias kaip elastingumas ir atsparumas smūgiams bei padidina maisto produktų atsparumą drėgmei. Siekiant užtikrinti optimalias plėvelių savybes į plėveles gali būti papildomai įterpiami plastifikatoriai, pavyzdžiui, glicerolis ir divalenti katijonai, pavyzdžiui, kalcio chloridas.

Plėvelių antimikrobinėms savybėms aktyvinti naudojami natūralūs priedai, tokie kaip eteriniai aliejai ir augalų ekstraktai. Kaip eteriniai aliejai dažniausiai naudojami gvazdikėlio, rozmarinų, citrinžolių ir kt. Kaip augalų ekstraktai gali būti naudojami vynuogių, spanguolių ar kitų uogų ekstraktai. Antimikrobiniai priedai slopina mikrobu augimą ir dauginimąsi, o valgomosios plėvelės veidamos, kaip antimikrobinų priedų nešiotojos, apsaugo maisto produktus nuo mikrobu ir taip padeda išlaikyti maisto produktų kokybę bei pailgina tinkamumo vartoti trukmę.

Mokslinėje literatūroje randama daug duomenų apie valgomųjų plėvelių panaudojimo galimybes vaisių, daržovių ir mėsos pramonėje, tačiau duomenų apie plėvelių pritaikymo galimybės jūros gėrybių gamyboje yra nedaug. Nepaisant to, kad jūros gėrybių įmonės patobulino gamybos procesą ir įgyvendino veiksmingas proceso kontrolės procedūras, tokias kaip „Hazard Analysis Critical Control Point“ sistema, padidėjo su jūros gėrybėmis susijusių maistu plintančių ligų skaičius. Žuvies produktų gedimas dažniausiai siejamas su mikroorganizmų veikla, tokių kaip *L. monocytogenes* ir *P. aeruginosa* ir kt. Jie sukelia žuvies fizikinius, cheminius ir juslinius pokyčius bei išskiria fermentus dekarboksilazes, kurios katalizuoja toksiškų biogeninių aminų susidarymo reakcijas. Tad žuvies tinkamumo vartoti trukmę galima įvertinti pagal žuvyje esančių mikroorganizmų skaičių bei biogeninių aminų kiekį.

**Darbo tikslas:** sukurti alginato-pektino valgomąsias plėveles su spanguolių išspaudų ekstraktu, pritaikant jas silkės produktų gamyboje.

### Darbo uždaviniai:

1. nustatyti alginato-pektino santykio įtaką valgomųjų plėvelių mechaninėms ir fizikinėms savybėms ir atrinkti optimaliomis savybėmis pasižyminčias plėveles.
2. ištirti glicerolio koncentracijos įtaką valgomųjų plėvelių mechaninėms ir fizikinėms savybėms ir atrinkti tinkamiausią glicerolio koncentraciją.
3. nustatyti spanguolių išspaudų ekstrakto įtaką atrinktų plėvelių mechaninėms ir fizikinėms savybėms.
4. ištirti spanguolių išspaudų ekstrakto ir valgomųjų plėvelių su juo antimikrobinės savybes.
5. įvertinti plėvelių su spanguolių išspaudų ekstraktu įtaką *P. aeruginosa* ir *L. monocytogenes* bakterijų skaičiaus pokyčiui ir biogeninių aminų susidarymui silkėje.

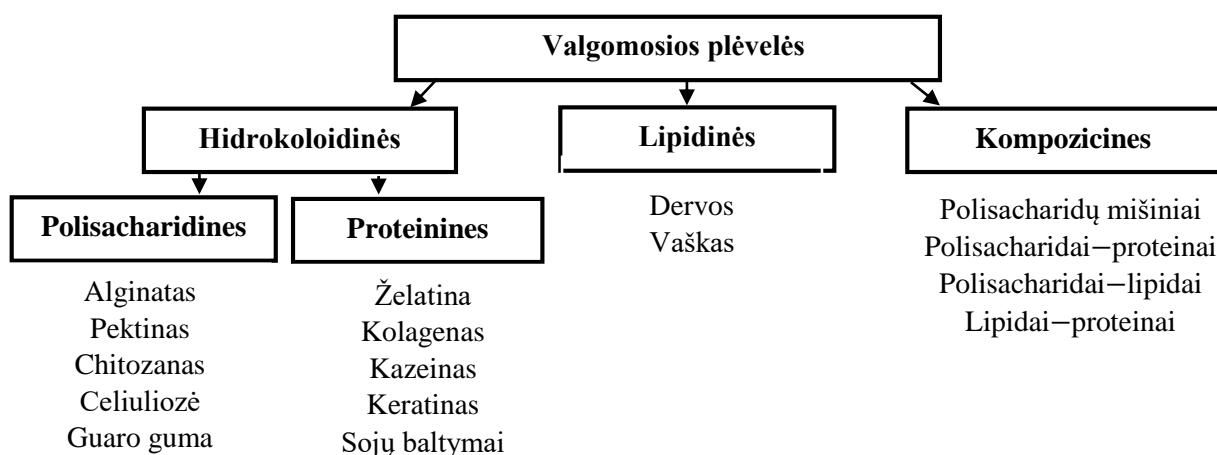
# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. Valgomosios plėvelės

Valgomosios plėvelės yra plonas natūralių polimerų sluoksnis, naudojamas užtikrinti maisto produktų kokybę, apsaugant produktus nuo cheminių, biologinių ir mechaninių pakitimų. Naudojant plėveles maisto produktuose išsaugomos maistinės medžiagos ir pailginama produktų tinkamumo vartoti trukmė. Plėvelės pasižymi specifinėmis savybėmis, tad pagal maisto produktų gamybos, transportavimo ir laikymo sąlygas pritaikomos skirtingiems maisto produktams [1-3]. Siekiant panaudoti valgomasias plėveles maisto pramonėje svarbu, kad plėvelės atitiktų pagrindinius reikalavimus: būtų saugios sveikatai (be toksinų), nesukeltų alergijų bei jų žaliavos būtų biologiškai skaidžios. Tad, valgomųjų plėvelių komponentai turi būti maisto produktai, kurie yra lengvai biologiškai skaidomi, saugūs vartotojams bei aplinkai, pavyzdžiui, polisacharidai, proteinai ar lipidai [4].

### 1.1.1. Valgomųjų plėvelių sudėtis

Valgomosios plėvelės pagal cheminę sudėtį klasifikuojamos į hidrokoloidines, lipidines ir kompozicines plėveles (1 pav.) [1,5].



1 pav. Valgomųjų plėvelių klasifikacija

Dažniausiai gaminamos plėvelės iš polisacharidų, nes jų žaliavos yra gerai žinomos, gamybos kaštai maži, o plėvelės pasižymi stipriomis mechaninės savybės. Tačiau šių plėvelių panaudojimo galimybes sumažina prastos vandens garų barjerinės savybės [1,2,3,5,6]. Pagrindiniai polisacharidai naudojami valgomosiiose plėvelėse yra chitozanas [7,8], celiuliozė [9,10], alginatas [1,11], pektinas [12,13] ir guaro guma [2].

Plėvelės į kurių sudėtį įeina gyvūninės (kazeinas, želatina, kolagenas, išrūgų baltymai) ir augalinės (sojos baltymai) kilmės baltymai vadinamos proteininėmis plėvelėmis [14,15]. Šių plėvelių susidarymo mechanizmas yra baltymų denatūravimas, kuris inicijuojamas šilumos, tirpiklio ar pH poveikiu. Baltymams būdingas struktūras (antrinę, tretinę, ketvirtinę) galima modifikuoti siekiant gauti valgomosioms plėvelėms tinkamas mechanines ir fizikines savybes. Proteininės plėvelės pasižymi tvirtu sukibimu su maisto produktų paviršiumi, mechaniniu stabilumu, mažu dujų

pralaidumu, tačiau kaip ir polisacharidinėms plėvelėms joms būdingas didelis vandens garų pralaidumas [3,5,6].

Lipidinės plėvelės yra hidrofobinės, todėl pasižymi puikiu vandens garų barjeru, lyginant su polisacharidinėmis ar proteininėmis plėvelėmis. Lipidinių plėvelių drėgmės pralaidumo savybės priklauso nuo nesočiųjų riebalų rūgščių kiekio, didinant nesočiųjų rūgščių kiekį didėja plėvelių vandens garų pralaidumas. Nesočioms riebalų rūgštims būdinga mažesnė lydymosi temperatūra, o tai padidina drėgmės pernešimo greitį, lyginant su sočiosiomis. Taip pat, lipidinių plėvelių vandens garų pralaidumui įtakos turi alifatinių grandinių ilgis ir cheminių grupių pasiskirstymas. Vaškai sudaryti iš ilgų alifatinių grandinių ir turi mažai polinių grupių, todėl jie yra atsparesni vandens garų pralaidumui nei dauguma kitų lipidų. Tačiau šių plėvelių panaudojimo galimybes apunkina mažas skaidrumas, trapumas, nestabilumas ir sunkumas sudaryti vientisą paviršiaus plotą. Lipidinės plėvelės dažniausiai gaminamos iš vaško arba dervų [1,5,6].

Siekiant pagerinti valgomųjų plėvelių funkcionalumą gaminamos kompozicinės plėvelės. Tinkamai suderinus plėvelių komponentus susidaro sinergizmas, kuris sustiprina plėvelių panaudojimui tinkamas savybes. Kompozicinės plėvelės gali būti sudaromos iš skirtingų komponentų, tokių kaip, polisacharidai-lipidai [15], polisacharidai-proteinai [16] ar iš skirtingų polisacharidų mišinių [17-19].

### **1.1.2. Polisacharidinės plėvelės**

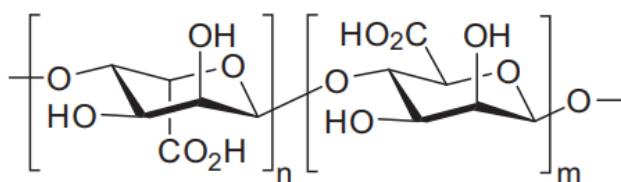
Polisacharidinės plėvelės yra bespalvės, bekvapės, beskonės bei pasižymi valgomosioms plėvelėms tinkamomis mechaninėmis ir antimikrobinėmis savybėmis. Pagrindinis plėvelių, pagamintų iš polisacharidų, minusas yra jų hidrofiliškumas, kuris pasireiškia dideliu vandens garų pralaidumu. Tad, siekiant padidinti šių plėvelių panaudojimo galimybes įvairiais būdais mažinamas jų drėgmės pralaidumas. Vienas iš būdų yra hidrofobinių junginių įtraukimas į polisacharido struktūrą. Kaip hidrofobiniai junginiai gali būti naudojami lipidai, sudarant kompozicinės plėvelės [3,20]. Kitas būdas, yra plėvelių tinklinimas – tai kovalentinių (arba joninių) ryšių sudarymas tarp polimero grandinių. Kaip kryžminis jungiklis gali būti naudojamas glutaraldehidas [9,10] arba divalenčiai katijonai, pavyzdžiui, kalcio chloridas ( $CaCl_2$ ) [11,21].

Polisacharidai – tai trys ar daugiau monomerų sujungtų glikozidinėmis jungtimis. Jiems būdinga specifinė struktūra, kuri lemia iš jų pagamintų valgomųjų plėvelių savybes. Pavyzdžiui, celiuliozei būdinga linijinė struktūra, kurioje molekulės išsidėsto viena greta kitos ir yra sujungtos vandenilinių ryšiais. Didelis vandenilinių ryšių kiekis lemia iš celiuliozės paruoštų plėvelių stiprias mechanines savybes [2].

Chitozanas, dėl savo specifinės struktūros ir cheminės sudėties pasižymi stipriomis antimikrobinėmis savybėmis. Ištirta, kad chitozано antimikrobinės savybės mielėms ir pelėsiams, pasireiškia dėl chitozано struktūroje esančių teigiamų amino grupių ( $NH_2$ ) [3]. Šių grupių susidarymui įtakos turi chitozано diacetilimo laipsnis, kuriam padidėjus amino grupių susidaro daugiau, tad stiprėja chitozано antimikrobinis aktyvumas [7,8]. Taip pat, nustatyta, kad chitozано antimikrobiniam aktyvumui įtakos turi chitozано molekulinė masė. Aidero M. tyrimo rezultatai rodo, kad chitozanas, kurio vidutinė molekulinė masė yra mažesnė nei 10 kDa, turi didesnę antimikrobinę aktyvumą nei didelės molekulinės masės chitozanas [22]. Taigi, dėl antimikrobinės savybių chitozanas yra vienas iš plačiausiai ištirtų ir dažniausiai naudojamų polisacharidų valgomųjų plėvelių gamyboje [2].

### 1.1.2.1. Alginatas

Alginatas yra natūralūs polisacharidas gaunamas iš rudųjų jūros dumblių (lot. *Laminaria hyperborean*, *Macrocystis pyrifera*). Jis sudarytas iš linijinių  $\beta$ -D-manurono (M) ir  $\alpha$ -L-gulurano (G) rūgščių liekanų (blokų) sujungtų 1–4 glikozidiniais ryšiais (2 pav.). M ir G blokų išsidėstymą polimere lemia jūros dumblių rūšis, amžius bei dalis iš kurios jis yra gaunamas [6].



Munurono rūgštis (M blokas)      Gulurano rūgštis (G blokas)

2 pav. Alginato cheminė formulė [6]

Nustatyta, alginato M:G blokų santykio įtaka plėvelių mechaninėms ir drėgmės barjerinėms savybėms. Plėvelėse, kurių sudėtyje didesnis G blokų kiekis susiformuoja mechaniškai stipresni, tankesni geliai, kurie pasižymi geresnėmis drėgmės barjerinėmis savybėmis, lyginant su plėvelėmis, kurių sudėtyje didesnis M blokų kiekis. Didesnis M blokų kiekis sudaro lankstesnius ir daugiau porų turinčius gelius [1,23].

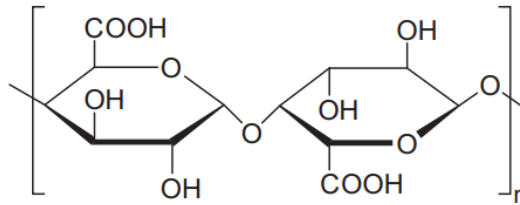
Įkrauta divalenčio alginato būseną pasižymi jonų mainų selektyvumu, kuris palankus plėvelių formavimo savybėms. Į plėvelę įterpus divalentį katijoną, dėl jonų mainų tarp alginato ir divalenčio katijono susidaro hidrogelis, kuris užtikrina stipresnes vandens barjerines savybes [20,24]. Taip pat, jonų mainų selektyvumui įtakos turi alginato cheminė sudėtis. Kohnas R. ir kiti ištyrė, kad didėjant G blokų kiekiui didėja jonų mainų selektyvumas, kai G:M santykis 10:90, jonų mainų selektyvumas ( $K_K^{Ca}$ ) yra 6, o kai 90:10 – 60 [25].

Mokslininkai, tyrinėdami alginato molekulinės masės įtaka plėvelių mechaninėms savybėms nustatė, kad didėjant alginato molekulinei masei stiprėja plėvelių mechaninės savybės. Taip pat, ištirta, kad iš didelės molekulinės masės susidaręs alginato tirpalas pasižymi didesne klampa, lyginant su tirpalu iš mažos molekulinės masės alginato. Didelė tirpalo klampa turi neigiamą įtaką plėvelių panaudojimo galimybėms, tad optimaliausia plėvelės ruošti iš mažų ir didelių molekulinų masių alginato mišinio [26].

Be to, alginatas JAV maisto ir vaistų organizacijos (FDA) ir Europos Komisijos yra pripažintas, kaip saugus maisto priedas (E400-E404), tad yra puiki alternatyva valgomųjų plėvelių gamyboje [27].

### 1.1.2.2. Pektinas

Pektinas yra natūralus polisacharidas, kuris sudaro augalų sienelių pagrindą. Jis sudarytas iš 1,4-D-galakturono rūgšties liekanų ir skirtingų šoninių grandinių (3 pav.) [12,13].



**3 pav.** Pektino cheminė formulė [6]

Pektino plėvelių fizikinėms savybėms įtakos turi metoksilo laipsnis. Šis rodiklis apskaičiuojamas pagal pektine esančio D-galakturono rūgšties ir metanolio santykį; kuo didesnis D-galakturono rūgšties kiekis, tuo metoksilo laipsnis (DE) didesnis. Didesnį metoksilo laipsnį (DE>50 %) turintys pektinai (HMP) pasižymi atsparumu karščiui, todėl naudojami konditerijoje, o mažesnį laipsnį (DE<50 %) turintys pektinai (LMP), esant rūgštiniam pH, su divalenčiais katijonais sudaro hidrogelius, kurie pasižymi stabilia struktūra ir geru vandens barjeru, tad naudojami valgomųjų plėvelių gamyboje [12,24]. Tai patvirtina, Parko S. ir kitų mokslininkų atlikto tyrimo rezultatai, kurie rodo, kad identiškos sudėties plėvelės (0,25 % glicerolis ir 0,5 % spanguolių ekstraktas) iš LMP pasižymi mažesniu vandens garų pralaidumu (80 mm/m<sup>2</sup> dkPa) nei plėvelės iš HPM (88 g mm/m<sup>2</sup> dkPa). Taip pat, ištirta metoksilo laipsnio, įtaka plėvelių mechaninėms. Nustatyta, kad plėvelės, kuriose naudotas LMP pasižymi didesniu tempimo stipriu (4,5 MPa) ir mažesniu elastingumu (16,6 %), lyginant su plėvelėmis iš HMP, atitinkamai, 1,0 MPa ir 47,7 % [28].

Iš pektino pagamintoms plėvelėms būdingas elastingumas ir antimikrobinis aktyvumas [13]. Pagrindinis pektino plėvelių trūkumas yra prastos vandens garų barjerinės savybės. Tačiau pektinas pasižymi gebėjimu su divalenčiais katijonais sudaryti hidrogelius, kurie padeda sustiprinti šių plėvelių vandens garų barjerines savybes [2, 24].

Be to, pektinas JAV maisto ir vaistų organizacijos (FDA) ir Europos komisijos yra pripažintas saugiu, tad yra puiki alternatyva valgomųjų plėvelių gamyboje [13].

### 1.1.2.3. Polisacharidų mišiniai

Valgomosios plėvelės gali būti gaminamos derinant skirtingus polisacharidus, taip panaudojant kiekvieno polisacharido privalumus. Siekiant optimalaus rezultato yra ištirta daug polisacharidų mišinių, tokių kaip, chitozano-hidroksipropilmetilceliuliozė [17], chitozano-krakmolo [18], chitozano-guaro gumos [29], krakmolo-guaro gumos [19], alginato-pektino [24] ir kitų.

Rao M. S. ir kiti mokslininkai, ištyrė plėvelių iš chitozano-guaro gumos mišinio savybes. Plėvelėse naudota skirtinga guaro gumos koncentracija (0, 15, 25, 40, 50 %). Nustatyta, chitozano-guaro gumos plėvelės, naudojant 15 % guaro gumos, pasižymėjo didesniu tempimo stipriu (10 kPa) ir pradūrimo jėga (1,4 N), lyginant su plėvelėmis iš chitozano (0 % guaro gumos), atitinkamai 3,5 kPa ir 0,6 N. Taip pat, ištirtas plėvelių antimikrobinis aktyvumas prieš *Escherichia coli* bakterijų skaičių rodo, kad didžiausiu slopinamuoju poveikiu prieš bakterijas pasižymi chitozano-guaro gumos plėvelės, kuriose naudota 15 % guaro gumos koncentracija (2,5 log KSV/ml), o nenaudojant guaro gumos bakterijų skaičius yra didžiausias (3,8 log KSV/ml). Taigi, sudarant kompozicinės chitozano-guaro gumos plėvelės stiprėja plėvelių mechaninės ir antimikrobinės savybės [29].

Kiti mokslininkai, ištyrė ir palygino alginato-pektino (1:1) mišinio plėveles su plėvelėmis iš vieno polisacharido (alginato arba pektino). Tyrimo metu nustatyta, kad alginato-pektino plėvelės yra beveik du kartus elastingesnės nei plėvelės iš vieno polisacharido. Taip pat, ištirta, kad alginato-pektino plėvelės pasižymi didesniu tempimo stipriu (42,3 MPa), lyginant su plėvelėmis iš pektino (22,5 MPa). Taigi, alginato-pektino plėvelės pasižymi geresnėmis mechaninėmis savybėmis, nei plėvelės iš vieno polisacharido [24].

## 1.2. Valgomųjų plėvelių priedai

Polisacharidinių plėvelių sudėtyje, be pagrindinių medžiagų (polisacharidų), gali būti naudojami priedai, kurie pagerina plėvelių mechanines, fizikines ir antimikrobines savybes. Siekiant padidinti plėvelių elastingumą, atsparumą smūgiams bei sumažinti trapumą įterpiami plastifikatoriai. Jie polisacharidinėse plėvelėse padidina polimerų grandinės lankstumą, tad palaikomas plėvelių vientisumas, išvengiama įtrūkimų ir porų susidarymo [30]. Kaip plastifikatorius gali būti panaudotas glicerolis, sorbitolis [28] ir kiti.

Mokslininkai, tyrinėdami plastifikatoriaus (glicerolio) įtaka alginato-pektino (1:1) plėvelių mechaninėms savybėms, nustatė, kad siekiant optimalių mechaninių savybių glicerolio koncentracija turėtų būti 1–5 %, nes toliau didinant glicerolio koncentraciją iki 15 %, alginato-pektino plėvelių mechaninės savybės silpnėja [31]. Kitame eksperimente ištirta glicerolio koncentracijos įtaka alginato plėvelėms. Nustatyta, kad didėjant glicerolio koncentracijai nuo 0,3 iki 1,1 %, plėvelių tempimo stipris mažėja, o elastingumas didėja. Geriausi rezultatai gauti naudojant 0,9 % glicerolio koncentraciją, kuomet alginato plėvelės pasižymėjo  $8,25 \pm 1,2$  MPa atsparumu tempimui ir  $10,83 \pm 3,82$  % elastingumu [32]. Taigi, atlikti tyrimai rodo, kad plastifikatorius ir jo koncentracija turi įtakos alginato, pektino plėvelių mechaninėms savybėms.

Siekiant padidinti alginato, pektino plėvelių atsparumą drėgmei, naudojami divalenčiai katijonai. Šie priedai veikia kaip sutinklinimo agentai, jie reaguoja su (alginato) gulurano bei (pektino) galakturono rūgštimis ir sudaro hidrogelius, kurie apsaugo plėveles nuo vandens poveikio [33].

Mokslininkai, tyrinėdami divalenčius katijonus nustatė, kad tvirčiausi hidrogeliai susidaro su kalcio, stroncio ir bario divalenčiais katijonais ( $\text{Ca}^{+2} < \text{Sr}^{2+} < \text{Ba}^{2+}$ ) [1]. Kitų mokslininkų eksperimente tyrinėta skirtingų kalcio druskų įtaka alginato hidrogelio susidarymui bei nustatyta, kad kalcio chloridas yra efektyviausias kryžminis jungiklis [34].

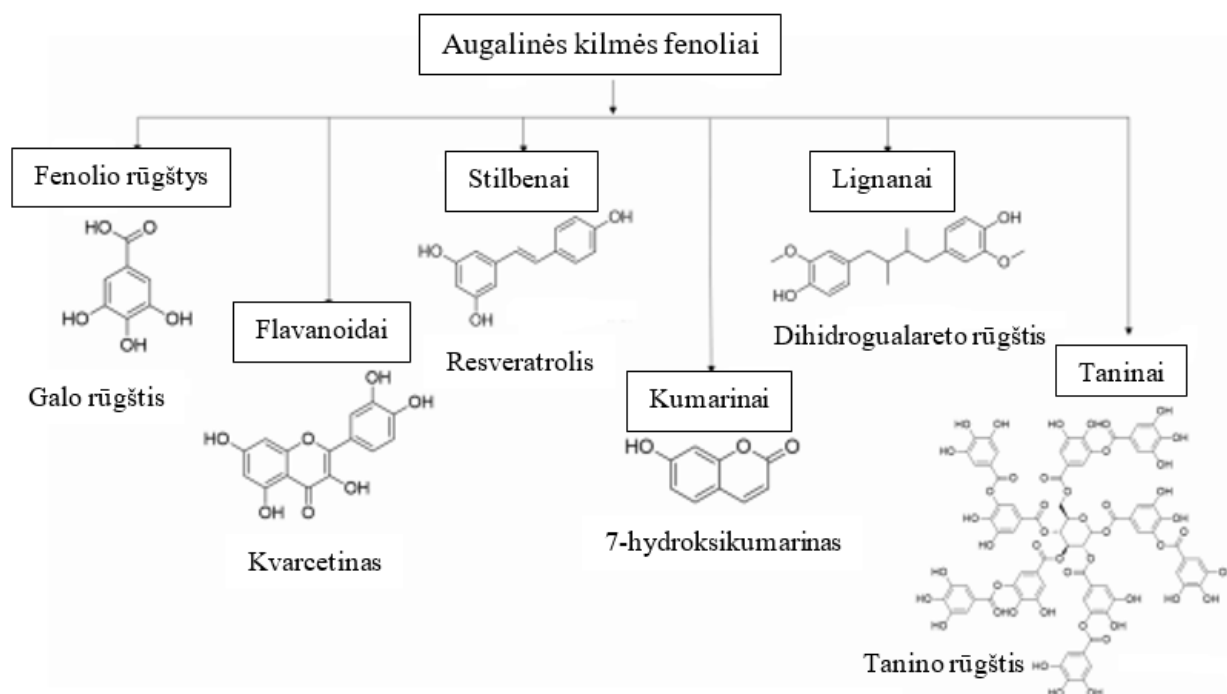
Vertinant kalcio chlorido įtaką alginato plėvelių vandens barjerinėms savybėms nustatyta, kad alginato plėvelės su (1 %) pasižymėjo beveik tris kartus mažesniu vandens garų pralaidumu lyginant su plėvelėmis, kuriose nebuvo naudotas kalcio chloridas [11]. Kitame moksliniame eksperimente tyrinėta kalcio chlorido koncentracijos (3, 5, 7 %) įtaka alginato-pektino (1:1) plėvelių, drėgmės barjerinėms savybėms. Nustatyta, kad plėvelėse su 5 % glicerolio priedu, didėjant  $\text{CaCl}_2$  koncentracijai nuo 3 iki 7 % plėvelių vandens garų pralaidumas mažėja nuo  $8,77 \pm 0,025$  iki  $7,72 \pm 0,014$  ( $\text{g mm/m}^2 \text{ dkPa}$ ) [21]. Taigi, divalentis katijonas ( $\text{CaCl}_2$ ) ir jo koncentracija turi įtakos alginato, pektino plėvelių drėgmės barjerines savybes.

Siekiant sustiprinti plėvelių antimikrobines savybes, naudojami antimikrobiniai priedai, kurie slopina bakterijų augimą ir vystymąsi. Naudojant plėveles su antimikrobiniais priedais ilgiau išlaikoma maisto produktų kokybė ir pailginama tinkamumo vartoti trukmė [1,5].

### 1.2.1. Antimikrobiniai priedai

Antimikrobiniai priedai užima svarbų vaidmenį mažinant maisto produktų gedimą. Jie klasifikuojami į tris pagrindines grupes, tokias kaip probiotikai, cheminiai ir natūralūs junginiai. Probiotikų grupei priskiriamos bakterijos priklausančios *Lactobacillus* ir *Bifidobacterium* gentims, cheminių priedų grupėje vyrauja organinės rūgštys (acto, pieno, sorbo, citrinos) ir jų druskos. Natūralių priedų grupei priskiriami eteriniai aliejai bei augalų ar prieskonių ekstraktai. Eterinių aliejų antimikrobinis aktyvumas yra siejamas su pagrindiniais jų fenolio junginiais, tokiais kaip timolis, eugenolis, karvakrolis ar terpeno junginiai, kurių koncentracijos yra net iki 85 % [35].

Augalų ir prieskonių ekstraktų antimikrobinis veiksmingumas siejamas su dideliu fenolių junginių kiekiu, tokių kaip, fenolio rūgštys, flavonoidai ir kt. Šie junginiai gali slopinti daugelį mikroorganizmų, įskaitant su maistu susijusius patogenus. Kadangi aktyvių junginių molekulės skiriasi savo struktūra ir chemine sudėtimi (4 pav.), jie pasižymi skirtingu antimikrobinu poveikiu mikroorganizmams [36].



4 pav. Augalinės kilmės fenolių grupės [36]

Plačiai ištirta eterinių aliejų įtaka plėvelių antimikrobinėms savybėms. Maizura M. ir kiti mokslininkai, tyrinėdami citrinžolių aliejaus (0,1–0,4 %) įtaką krakmolo-alginato (4:1) plėvelėms nustatė, kad citrinžolių aliejus slopina *Escherichia coli* bakterijų augimą ir vystymąsi. Didinant priedo kiekį nuo 0,1 iki 0,4 % *E. coli* bakterijų slopinimo zona didėja, atitinkamai nuo 50 iki 94 mm<sup>2</sup>. Be to, nustatyta citrinžolių aliejus (0,4 %) beveik keturis kartus padidina krakmolo–alginato plėvelių elastingumą, lyginant su plėvelėmis be priedo. [37].

Kitų mokslininkų eksperimente ištirta skirtingų eterinių aliejų (gvazdikėlio, pankolio, kiparišų, levandų, čiobreljo, pušies, rozmarinų) (25 %) įtaką želatinos–chitozano (3:1) plėvelėms prieš *Lactobacillus acidophilus*, *Listeria innocua*, *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Photobacterium phosphoreum*, *Shewanella putrefaciens* bakterijas. Nustatyta, kad stipriausiu antimikrobinu poveikiu

pasižymėjo plėvelės su gvazdikėlių eteriniu aliejumi, kuris stipriausiai slopino *S. putrefaciens* bakterijų augimą [16]. Antimikrobines eterinių aliejų savybes patvirtina ir kitų mokslininkų tyrimų rezultatai [38-41].

Taip pat, ištirta augalinių ekstraktų, tokių kaip uogos, įtaka valgomųjų plėvelių antimikrobinėms savybėms. Genowsky E. ir kiti ištyrė makai uogų (lot. *Aristotelia chilensis*) (0,5 ir 1 %) įtaką chitozano plėvelių antimikrobinėms savybėms. Nustatyta, kad naudojant makai uogas plėvelės pasižymėjo antimikrobinio veiksmingumu septynioms (lot. *Alcaligenes faecalis*, *Serratia marcescens*, *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii*, *S. putrefaciens*, *P. fluorescens*, *Achromobacter denitrificans*) bakterijoms, o chitozano plėvelėse be uogų tik dviem (lot. *S. putrefaciens*, *P. fluorescens*) bakterijoms [42]. Uogų antimikrobinį aktyvumą patvirtina ir kitas tyrimas, kuriame tirta murta uogų (lot. *Ugni molinae Turcz*) (0,25 %) įtaka plėvelėms iš metilceliuliozės. Nustatyta, kad plėvelės su murta uogomis pasižymėjo net tris kartus didesniu antimikrobinio aktyvumu, lyginant su plėvelėmis be uogų [10].

Sivaroobanis T. ir kiti mokslininkai, ištyrė vynuogių ekstrakto (1 %) įtaką sojų baltymų plėvelių antimikrobinėms savybėms. Tyrimo rezultatai rodo, kad vynuogių ekstraktas mažina *Listeria monocytogenes* ir *Salmonella typhimurium* bakterijų skaičių iki  $5,6 \pm 0,1$  ir  $6,3 \pm 0,1$  log KSV (kolonijas sudarantys vienetai) /ml, lyginant su plėvelėmis, kuriose nenaudotas vynuogių ekstraktas, bakterijų skaičius, atitinkamai  $6,4 \pm 0,1$  ir  $6,5 \pm 0,1$  log KSV/ml [43].

#### 1.2.1.1. Spanguolės

Spanguolėse gausu įvairios prigimties biologiškai aktyvių medžiagų, kurių kiekybinė sudėtis priklauso nuo augalo rūšies, klimato sąlygų, geografinės vietovės ir derliaus nuėmimo laiko. Spanguolės kaupia biologiškai aktyvius junginius, tokius kaip, flavanoidai ir fenolinės rūgštys. Flavanoidų grupėje dominuoja flavanoliai (miricetinas, kvercetinas, kemferolis), flavan-3-oliai (katechinas), antocianinai ir proantocianidinai, o fenolinių rūgščių grupėje hidroksibenzoinės ir hidroksicinamono rūgšties dariniai [44]. Taip pat, spanguolės yra geras vitaminų (C, A, B, E, K), mineralų (kalcio, magnio, geležies, fosforo, kalio, cinko) bei organinių rūgščių (citrinų, chinino, benzoinė) šaltinis [45].

Spanguolių išspaudos yra spanguolių gamybos šalutiniai produktai, kuriose lieka didelis kiekis vertingų medžiagų, tokių kaip, flavanoidai (24 %), antocianinai (42 %) ir fenoliai (36 %). Tačiau tik maža dalis jų yra panaudojami kompostui, o likusios išspaudos patenka į atliekas [46].

Dalis mokslininkų teigia, kad spanguolių (ir jų išspaudų) antimikrobiniam aktyvumui turi įtakos jų cheminė sudėtis, antocianinai, proantocianidai, flavanoliai ir mažos molekulinės masės polifenolinės rūgštys. Aktyvūs junginiai gali paveikti patogeninių bakterijų struktūrą, vientisumą, tačiau tikslus jų antimikrobinio veikimo principas nėra žinomas [45].

Nustatyta, kad spanguolės (lot. *Vaccinium oxycoccus*), kurių bendras fenolonių junginių skaičius yra 330 mg, slopina *E. coli* 50, *E. coli* CM871 ir *Salmonella enterica* SH-5014 bakterijas, atitinkamai 6, 7 ir 6 mm<sup>2</sup> plotą. Taip pat, ištirta, kad spanguolės pasižymi slopinamuoju poveikiu prieš *Enterococcus faecalis*, *E. coli* 50 ir *S. enterica* bakterijas. Stipriausias slopinimas nustatytas, po 3 val., tiriant *S. enterica* bakterijas, kai jų skaičius sumažėjo nuo  $10^7$  iki  $10^4$  KSV/ml [47]. Spanguolių slopinamąjį poveikį prieš *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis*, *Bacillus subtilis* ir *Salmonella typhimurium* bakterijas patvirtina ir kiti tyrimai [48].

Kitame moksliniame eksperimente, ištirta spanguolių (lot. *Vaccinium macrocarpon*) išspaudų ekstrakto įtaka *L. monocytogenes* bakterijų skaičiui. Po 24 val., 4 mg/ml spanguolių išspaudų ekstraktas sumažino *L. monocytogenes* bakterijų skaičių iki 3,5 log KSV/ml, kai bakterijų skaičius be spanguolių ekstrakto – 8,2 log KSV/ml [46]. Taigi, spanguolės (ir jų išspaudos) slopina su maistu susijusių patogenų augimą, dauginimąsi, tad gali būti panaudotos, kaip antimikrobinis priedas.

### 1.2.1.2. Vynuogės

Vynuogės (ir jų išspaudos) yra gausiu fenolių junginių šaltinis. Apie 70 % vynuogių išspaudų sudaro fenolio rūgštys, alkoholiai, flavan-3-oliai ir flavonolis. Šių junginių kiekis turi įtakos vynuogių antimikrobinėms savybėms [49].

Ištirta, vynuogių įtaką *S. aureus*, *E. coli O157:H7* bakterijų skaičiui. Nustatyta, kad 5 % vynuogių ekstraktas, po 1 val., visiškai sustabdė *S. aureus* augimą, kai kontrolės mėginiuose rastas 6,8 log KSV/ml *S. aureus* bakterijų skaičius. Po 24 val., 5 % vynuogių ekstraktas visiškai sustabdė ir *E. coli* augimą, kai mėginiuose be ekstrakto rastas 5–6 log KSV/ml *E. coli* bakterijų skaičius [50]. Kito mokslininkų tyrimo rezultatai, rodo vynuogių (lot. *Vitis vinifera*) ekstrakto slopinamąjį poveikį prieš *S. typhimurium* ir *P. aeruginosa* bakterijas. Nustatyta, kad 10 % vynuogių ekstraktas atitinkamai, pasižymi 22,0–27,0 mm ir 27,7–22,0 mm bakterijų slopinimo zoną, priklausomai nuo vynuogių rūšies [51].

Taip pat, ištirta, kad vynuogių išspaudos pasižymi slopinamuoju poveikiu prieš *L. monocytogenes* bakterijas. Po 10 minučių, naudojant 1250 µg/ml koncentracijos vynuogių išspaudų ekstraktą beveik du kartus sumažėjo *L. monocytogenes* bakterijų skaičius [52]. Taigi, vynuogės (ir jų išspaudos) pasižymi slopinamuoju poveikiu prieš su maistu susijusius patogenus, tad gali būti panaudotos, kaip antimikrobinis priedas.

### 1.3. Valgomųjų plėvelių savybės

Be pagrindinių saugos reikalavimų valgomųjų plėvelių panaudojimo galimybes lemia jų mechaninės, antimikrobinės savybės, dujų ir drėgmės pralaidumas bei juslinis faktorius. Šioms plėvelių savybėms įtakos turi plėvelių žaliavos (struktūra, molekulinė masė, krūvis, koncentracija), gamybos sąlygos (temperatūra, pH) ir priedai (tipas, koncentracija). Taip pat, siekiant pritaikyti plėveles pramonei gamybai svarbi paprasta jų gamybos technologija ir žemos žaliavų kainos [4].

Maisto produktų dengimo, laikymo ir transportavimo metu ypač svarbios valgomųjų plėvelių mechaninės savybės, tokios kaip, tempimo stipris, elastingumas, atsparumas pradūrimui ir kt. Šios savybės lemia plėvelių įtrūkimus, kurie gali sukelti ankstyvą maisto produktų gedimą [35].

Valgomųjų plėvelių mechaninėms savybėms įtakos turi jų sudedamosios dalys. Silva M. A. ir kiti mokslininkai, tyrinėjo alginato, pektino ir alginato-pektino (1:1) mišinio plėvelių įtaka mechaninėms savybėms savybėms. Ištirta, kad tomis pačiomis sąlygomis paruoštos plėvelės (10 % glicerolis, 0,04 g  $CaCl_2$ ) pasižymėjo skirtingomis mechaninėmis savybėmis, alginato plėvelių tempimo stipris yra 110 MPa o elastingumas – 5 %, alginato-pektino mišinio plėvelių, atitinkamai 58 MPa ir 9 %, o pektino plėvelių – 54 MPa ir 12 % [31]. Taip pat, plėvelių mechaninėms savybėms įtakos turi plėvelėse naudojamo polimero molekulinė masė. Nustatyta, kad didėjant chitozano molekulinėi masei didėja plėvelių tempimo stipris bei mažėja jų elastingumas [53].

Dalis mokslininkų teigia, kad didesnė plėvelėse naudojamo antimikrobinio priedo koncentracija gali sumažinti plėvelių stiprumą ir padidinti jų elastingumą. Tai galima paaiškinti tuo, kad antimikrobiniai priedai sustiprina plėvelių plastifikacijos efektą, kuris pagerina plėvelių tamprumą [35]. Sogut E. atliktame tyrime, nustatyta, kad chitozano plėvelėse didinant vynuogių ekstrakto koncentraciją nuo 5 iki 15 %, mažėja plėvelių tempimo stipris (nuo 39,21 iki 21,30 MPa) bei didėja plėvelių elastingumas (nuo 10,25 iki 18,63 %) [54]. Tai rodo, kad alginatas pasižymi geresnėmis stipruminėmis, o pektinas didesniu elastingumu. Taigi, atlikti tyrimai patvirtina, kad plėvelių sudedamosios dalys lemia plėvelių mechanines savybes.

Be mechaninių savybių didelę įtaką plėvelių panaudojimo galimybėms turi jų antimikrobinės savybės, kurios lemia maisto produktų tinkamumo vartoti trukmę. Plėvelės veikia kaip antimikrobinų junginių nešėjai, tad jų antimikrobinį aktyvumą lemia juose naudojami antimikrobiniai priedai [4].

Kita svarbi savybė plėvelių panaudojimui yra dujų (deguonies, anglies dioksido) pralaidumas. Deguonis ( $O_2$ ) yra pagrindinis aplinkos veiksnys galintis sukelti oksidaciją, kuri turi įtakos nepageidaujamiems pokyčiams (blogas kvapas, spalva, skonis) maisto produktuose. Anglies dioksidas ( $CO_2$ ) susidaro maisto produktuose dėl juose vykstančių kvėpavimo reakcijų ir turėtų būti pašalintas iš pakuotės. Plėvelės pasižymi dujų barjerinėmis savybėmis, o tai padeda išvengti greito maisto produktų gedimo. Valgomųjų plėvelių dujų pralaidumui įtakos turi plėvelių sudedamosios dalys. Mokslininkai, tyrinėdami pektino, alginato ir metilceliuliozės plėveles, nustatė, kad stipriausiomis dujų pralaidumo savybėmis pasižymi plėvelės paruoštos iš alginato –  $5,66 \text{ cm}^3 \mu\text{m}/\text{m}^2 \text{dkaPa}$ , kai plėvelių iš pektino dujų pralaidumas  $19,49 \text{ cm}^3 \mu\text{m}/\text{m}^2 \text{dkaPa}$ , o iš metilceliuliozės –  $268,63 \text{ cm}^3 \mu\text{m}/\text{m}^2 \text{dkaPa}$  [55].

Drėgmės pralaidumo savybes (vandens garų) svarbios užtikrinant drėgmės judėjimo kontrolę (garų difuziją), kuri lemia drėgmės kiekį maisto produktuose. Valgomosiose plėvelėse palankus mažas vandens garų pralaidumas (WVP), nes jos naudojamos siekiant išvengti drėgmės pernešimo tarp maisto produktų ir aplinkos, taip išlaikant maisto produktų kokybę ir pailginant jų galiojimo trukmę [35].

Plėvelių drėgmės pralaidumui įtakos turi plėvelių komponentai ir jų koncentracija. Shahrampouras D. ir kitų mokslininkų atliktame tyrime stebėta alginato:pektino santykio (1:0, 3:1, 1:1, 1:3, 0:1) įtaka plėvelių vandens garų pralaidumui. Nustatyta, kad didinant alginato kiekį bei mažinant pektino kiekį, plėvelių vandens garų pralaidumas mažėja. Optimaliu vandens garų pralaidumu pasižymėjo plėvelės, kuriose yra didžiausias alginato kiekis (1:0) –  $0,78 \cdot 10^{-10} \text{ gm}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ pa}^{-1}$ , alginato-pektino mišinio (1:1) plėvelių –  $1,38 \cdot 10^{-10} \text{ gm}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ pa}^{-1}$ , o pektino plėvelių (0:1) –  $1,78 \cdot 10^{-10} \text{ gm}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ pa}^{-1}$ . Tai rodo, kad alginatas pasižymi geresnėmis drėgmės barjerinėmis savybėmis, lyginant su pektinu [56].

Taip pat, plėvelių drėgmės barjerinėms savybėms turi įtakos juose naudojami antimikrobiniai priedai ir jų koncentracija. Dažniausiai šių priedų įtraukimas į plėveles gali padidinti plėvelių vandens garų pralaidumą, nes priedai gali veikti, kaip plastifikatoriai [35]. Taigi, plėvelėse naudojami komponentai lemia plėvelių drėgmės barjerines savybes.

Spalva, skonis, kvapas, tekstūra – tai plėvelių juslinės savybės, kurios tiesiogiai veikia vartotojų pasirinkimą. Plėvelės turėti būti kuo arčiau permatomos (bespalvės) spalvos, beskonės arba jų juslinės savybės turėtų atitikti dengiamo maisto produkto savybes [4].

#### **1.4. Valgomųjų plėvelių panaudojimo galimybės**

Daugelis maisto produktų yra greitai gendantys dėl savo biologinės ir cheminės sudėties. Mikroorganizmų augimas yra didžiausia maisto gedimo problema, dėl kurios gali prastėti maisto kokybė, saugumas bei sumažėti tinkamumo vartoti trukmė. Antimikrobinės plėvelės yra perspektyvus būdas sudaryti ilgalaikį antimikrobinį poveikį maisto paviršiui bei taip sumažinti maisto produktų gedimą. Šių plėvelių panaudojimas siekiant išlaikyti maisto produktų kokybę, pagerinti maisto saugą ir pailginti maisto produktų tinkamumo vartoti trukmę gali būti taikomas įvairiems maisto produktams, tokiems kaip mėsa, jūros gėrybės, vaisiai ir daržovės [35].

Plačiai ištirtos antimikrobinų plėvelių panaudojimo galimybės mėsos pramonėje, siekiant apsaugoti vištieną [54,57], jautieną [58], kiaulieną [59,60]. Taip pat, atlikti tyrimai patvirtina plėvelių panaudojimo galimybės šviežių vaisių ir daržovių pramonėje [12,61]. Tačiau trūksta duomenų apie antimikrobinų plėvelių panaudojimą jūros gėrybėse.

##### **1.4.1. Valgomųjų plėvelių panaudojimas žuvies gamyboje**

Šviežios žuvies gedimas gali būti vertinimas pagal kokybės rodiklius, kurie apibūdina žuvies kokybės požymius ir jų pokyčius laikant žuvį. Žuvies gedimas gali vykti dėl mikroorganizmų ir jų fermentų veiklos, cheminės oksidacijos ar antrinio mikrobiologinio užkrato. Žuvies gedimas dažniausiai siejamas su mikroorganizmų veikla kuri sukelia žuvies fizikinius, cheminius ir juslinius pokyčius [62].

Gyvos žuvies raumeninis audinys paprastai laikoma steriliu, tačiau jos išorėje (odoje ir žiaunose) aptinkamas skirtingas mikroorganizmų skaičius ( $10^2 - 10^9$  KSV /cm<sup>2</sup>). Kai žuvis miršta sutrinka jos atsparumo mechanizmas: sumažėja žuvies raumenų atsparumas mikroorganizmams, gleivės tampa mikroorganizmų mitybine terpe, o pro odos paviršių ir žiaunas į audinius aktyviai pradeda skverbtis mikroorganizmai. *Pseudomonas* ir *Altermonas putrefaciens* yra pagrindinės bakterijų rūšys kurios sukelia žuvies gedimą. Šie mikroorganizmai gali naudoti žuvyje esančius azoto junginius, dėl kurių susidaro nemalonus kvapo lakieji junginiai, tokie kaip trimetilamino oksidas [62]. Taip pat, po žuvies mirties jų produktams būdingi dideli drėgmės nuostoliai, kurie turi įtakos žuvies tekstūrai, spalvai, skoniui bei tinkamumo vartoti trukmei [6].

Silkėje (iš Baltijos jūros) randama apie 70–77 % vandens, 18–19 % baltymų ir 3,5–10 % riebalų kiekis [63]. Lyginant su kitais maisto produktais žuvyje nustatomi dideli tirpių baltymų (laisvųjų aminorūgščių ir lakiųjų azoto bazių) kiekiai. Dėl šių medžiagų žuvis yra greitai gendantis produktas, tad net ir neilgai laikant žuvį, joje gali susidaryti toksiški biogeniniai aminai. Biogeniniai aminai žuvies produktuose susidaro dekarboksilinantis atitinkamoms amino rūgštims: iš histidino susidaro histaminas, iš lizino – kadaverinas, iš tirozino – tiraminas, iš ornitino – putrescinas, iš kurio susidaro sperminas. Susidarę biogeniniai aminai yra termostabilūs, tad jų nėra galimybės pašalinti maisto ruošimo metu [64,65].

Biogeninių aminų susidarymui įtakos turi žuvies paviršiuje esančios bakterijos, jos išskiria fermentus dekarboksilazes, kurios katalizuoja biogeninių aminų susidarymo reakcijas. Biogeninių aminų

susidarymą lemiantys mikroorganizmai veikia ne vienodu aktyvumu, pavyzdžiui, histamino susidarymą labiausiai veikia *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* ir *Alfai Hafnia* bakterijos, tačiau jo susidarymui įtakos turi ir kitos bakterijos (lot. *Clostridium spp.*, *Pseudomonas spp.*) [65].

Hao R. ir kitų mokslininkų, atliktame eksperimente tyrinėta alginato plėvelių su antimikrobiniais priedais (bambakų ūglių (3,5 %) ir rozmarinų (3,5 %) ekstraktais) įtaka abalonų biogeninių aminų susidarymui. Nustatyta, kad mažiausiai biogeninių aminų susidarė alginato plėvelės su rozmarinų ekstraktu. Po 12 parų, gautas mažesnis putrescino (4,23 karto), kadaverino (2,93 karto), spermino (1,87 karto) ir tiramino (1,34 karto) kiekis, lyginant su abalonų mėginiais be plėvelių. Tam gali turėti įtakos sumažėjęs *Pseudomonas spp.* bakterijų skaičius, kuris abalono mėginiuose su alginato ir rozmarino plėvele 4,9 log KSV/g, o mėginiuose be plėvelės 7,9 log KSV/g ir. Taigi, *Pseudomonas spp.* bakterijų skaičius gali turėti įtakos abalono biogeninių aminų susidarymui [66].

Taigi, patogeniniai mikroorganizmai ir biogeniniai aminai yra vieni iš pagrindinių rizikos veiksnių, kuriuos svarbu įvertinti žuvų produktų gamyboje, siekiant ilgiau išsaugoti žuvies produktų kokybę ir pailginti tinkamumo vartoti trukmę.

Mokslininkai, tyrinėjo polisacharidinių plėvelių su antimikrobiniais priedais įtaką karpių tinkamumo vartoti trukmei. Ariaii P. ir kiti, nustatė, kad metilceliuliozės plėvelės su ožiažolių eteriniu aliejumi (1 %) gali pailginti sidabrinių karpių tinkamumo vartoti trukmę iki 12 dienų, kai karpių tinkamumo vartoti trukmė be plėvelės yra 4 dienos [67]. Kitame tyrime iširta alginato-karboksimetilceliuliozės (3:1) mišinio plėvelių su *Ziziphora clinopodioides* eteriniu aliejumi (ZEO), obuolių ekstraktu (APE) ir cinko oksidu (ZnO) įtaka antimikrobinėms savybėms tyrimuose su vaivorykštiniais karpiais. Optimaliomis savybėmis pasižymėjo karpių mėginiai su plėvele ir 0,5 % ZEO, 1 % APIE ir 0,5% ZnO priedais. Po 14 parų, šios plėvelės sumažino bendrą bakterijų skaičių (nuo 10 iki 5,1 log KSV/g) bei slopino psichrotrofinių (nuo 10 iki 4,5 log KSV/g), enterobakterijų (nuo 6,5 iki 3,1 log KSV/g), *Pseudomonas spp.* (nuo 8,8 iki 3,5 log KSV/g), *Pseudomonas fluorescens* (nuo 7,8 iki 3,5 log KSV/g) bakterijų skaičių, lyginant su karpių mėginiais be plėvelės [68].

Taip pat, Zhangas L. ir kiti, ištyrė chitozano plėvelių su acto rūgšties (1 %) ar arbatos polifenolių (TP) (0,5 %) priedais įtaką žolėdžių karpių (lot. *Ctenopharyngodon idellus*) cheminiams pokyčiams. Po 13 parų, nustatyta, kad geriausiomis cheminėmis savybėmis pasižymėjo karpis, kuris buvo padengtas chitozano plėvele su 1 % acto rūgšties ir 0,5 % TP priedais. Ši plėvelė aštuonis kartus sumažino lipidų oksidaciją ir beveik tris kartus bendrą azoto junginių skaičių karpuose [69]. Teigiamą chitozano plėvelių įtaką karpių galiojimo trukmei patvirtina ir kiti mokslininkai [70]. Atlikti eksperimentai rodo, kad antimikrobinės plėvelės gali būti panaudotos pailginti karpių tinkamumo vartoti trukmę.

Kiti mokslininkai, tyrinėjo polisacharidinių plėvelių įtaką upėtakio tinkamumo vartoti trukmei. Volpe M. G. ir kiti, nustatė, kad karageino plėvelės su citrinų eteriniu aliejumi (1 %) gali pailginti upėtakių (lot. *Oncorhynchus mykiss*) tinkamumo vartoti trukmę 7 dienomis [71]. Taip pat, iširta alginato plėvelių įtaką vaivorykštinio upėtakio (lot. *Oncorhynchus mykiss*) cheminiams pokyčiams. Po 20 parų, nustatyta, kad alginato plėvelė sumažino upėtakio lakiųjų azoto junginių susidarymą (nuo 33 iki 15 mg/100g), lipidų oksidaciją (tiobarbito rūgšties reaktyviosios medžiagos nuo 0,19 iki 0,14 mg) bei peroksidų susidarymą (nuo 16 iki 13 meq/Kg), lyginant su upėtakio mėginiais be plėvelės [72].

Be to, iširta karboksimetilceliuliozės plėvelių su *Zataria multiflora* eterinio aliejaus (ZMEO) (1 ir 2 %) ir vynuogių ekstrakto (GSE) (1 ir 0,5 %) priedais įtaka upėtakio antimikrobinėms savybėms.

Optimaliomis savybėmis pasižymėjo karboksimetilceliuliozės plėvelės su ZMEO (2 %) ir GSE (1 %) priedais. Po 20 parų, šios plėvelės sumažino *Pseudomonas* spp. (nuo 7,2 iki 4,5 log KSV/g) ir pieno rūgšties (nuo 5,6 iki 3,1 log KSV/g) bakterijų skaičių, lyginant su upėtakių mėginiais be plėvelės [73]. Antimikrobinis pokyčius patvirtina ir Jasouras M. S. ir kitų mokslininkų atliktas tyrimas, kuriame ištirta chitozano plėvelių su laktoperoksidazės (0,5 %) priedu įtaka upėtakio antimikrobinėms savybėms. Po 16 parų, chitozano plėvelės su priedu, sumažino *S. putrefaciens* (nuo 6,33 iki 3,27 log KSV/g), *P. fluorescens* (nuo 6,23 iki 3,76 log KSV/g), psichrotrofinių (nuo 8,47 iki 4,59 log KSV/g), mezofilinių (nuo 7,93 iki 5,28 log KSV/g) bakterijų skaičių, lyginant su upėtakio mėginiais be plėvelės [74]. Atlikti tyrimai, patvirtina, kad polisacharidinės plėvelės gali pailginti upėtakių tinkamumo vartoti trukmę.

Remiantis moksliniais duomenimis, nustatyta teigiama polisacharidinių plėvelių su antimikrobiniais priedais įtaka jūros ešerio tinkamumo vartoti trukmei. Li T. ir kiti, tyrinėjo chitozano plėvelių su vynuogių (0,2 %) ar arbatos polifenolių (TP) (0,2 %) priedais įtaką jūros ešerio (lot. *Sciaenopsocellatus*) tinkamumo vartoti trukmei. Optimaliausi rezultatai pasiekti naudojant chitozano plėveles su TP (0,2 %) priedais. Ši plėvelė 6–8 dienomis pailgino jūros ešerio tinkamumo vartoti trukmę [75].

Taip pat, nustatyta chitozano plėvelių su citrinos rūgšties (0,6 %) ar saldymedžio ekstrakto (1 %) priedais įtaką jūros ešerio (lot. *Japansesea*) cheminiams pokyčiams. Mažiausi cheminiai pokyčiai nustatyti naudojant chitozano plėveles su acto rūgšties (0,6 %) priedu. Po 12 parų, ši plėvelė du kartus sumažino bendrą azoto junginių skaičių, lyginant su ešerio mėginiais be plėvelės [76]. Papildomai, ištirta alginato plėvelių su arbatos polifenoliais (TP) (0,5 %) įtaka Japonijos jūros ešerių (lot. *Lateolabrax japonicas*) cheminiams pokyčiams. Po 20 parų, alginato plėvelė beveik du kartus sumažino azoto junginių apykaitą, slopino lipidų oksidaciją (TBARS atitinkamai 0,85 ir 0,7 mg) bei padėjo išlaikyti jūros ešerių juslines savybes lyginant su ešerių mėginiais be plėvelės [77].

Be to, ištirta chitozano plėvelių įtaka jūros ešerio (lot. *Dicentrarchus labrax*) antimikrobinėms savybėms. Po 10 parų, nustatyta, kad chitozano plėvelė sumažino psichrotrofinių (nuo 8,5 iki 4,8 log KSV/g) ir mezofilinių (nuo 8,6 iki 5,3 log KSV/g) bakterijų skaičių, lyginant su jūros ešerio mėginiais be plėvelės [78]. Antimikrobinis pokyčius patvirtina ir Cai L. ir kitų mokslininkų atliktas eksperimentas. Tyrime stebėta alginato plėvelių su  $\epsilon$ -polilizino priedu įtaka jūros ešeriui (lot. *Lateolabrax japonicas*). Po 16 parų, plėvelė sumažino enterobakterijų, mezofilinių ir psichrotropinių bakterijų kiekį lyginant su ešerio mėginiais be plėvelės [79]. Tai patvirtina ir kiti mokslininkai [80]. Taigi, polisacharidinės plėvelės gali pailginti jūros ešerio galiojimo trukmę.

Papildomai, ištirtos ir kitos žuvys. Lu F. ir kiti tyrinėjo alginato plėvelių su nizino (2 %) ir EDTA (3 %) priedais įtaką paprasto žalčiagalvio (lot. *Channa argus*) mikrobiologiniams, fizikiniams ir jusliniams pokyčiams. Po 7 parų, nustatyta, kad alginato plėvelė su priedais slopino žalčiagalvio mėginiuose bakterijų gyvybingumą, daugiau nei tris kartus sumažino žuvies drėgmės nuostolius bei geriau išsilaikė žalčiagalvio juslinės savybės. Taigi, alginato plėvelės su nizino, EDTA priedais gali pailginti žalčiagalvio galiojimo trukmę [81].

Silkės (lot. *Clupea harengus*) ir menkių (lot. *Gadus morhua*) tinkamumo vartoti trukmę naudojant skirtingo molekulinio svorio chitozano (14, 57, 360 cP) plėveles tyrinėjo Jeon Y. ir kiti mokslininkai. Po 12 parų, nustatyta, kad naudojant 360 cP chitozano plėvelės menkių bendras bakterijų skaičius sumažėjo nuo 7 iki 5 log KSV/g, o silkių nuo 8 iki 5,3 log KSV/g, lyginant su žuvų mėginiais be

plėvelės. Taip pat, ištirta, kad naudojant plėvelės tris kartus sumažėjo trimetilamino kiekis bei du kartus hipokstantino kiekis. Taigi, chitozano plėvelės gali būti panaudotos pailginti silkės ir menkės galiojimo trukmę [82].

Karšių (lot. *Megalobrama amblycephala*) mikrobiologinius, cheminius ir juslinius pokyčius naudojant alginato plėveles su arbatos polifenolių (TP) (0,3 %) ar vitamino C (5 %) priedais tyrinėjo Song Y. Po 17 parų, nustatyta, kad plėvelės su TP (4,1 log KSV/g) ar vitamino C (3,8 log KSV/g) priedais slopino bendrą bakterijų gyvybingumą, lyginant su karšių mėginiais be plėvelės (8 log KSV/g). Optimaliausios cheminės ir juslinės savybės pastebėtos naudojant alginato plėveles su vitamino C priedu. Šios plėvelės slopindamos lipidų oksidaciją beveik dešimt kartų sumažino tiobarbituro rūgšties kiekį, išlaikė karšio raumenų šviežumą bei juslines savybes. Taigi, alginato plėvelės su vitamino C priedu gali pailginti karšių galiojimo trukmę [83]. Polisacharidinių plėvelių su antimikrobiniais priedais įtaką lašišos [84] ir sardinių [85] tinkamumo vartoti patvirtina ir kiti moksliniai tyrimai.

### **1.5. Tyrimo tikslų ir uždavinių pagrindimas**

Nors vis dar nėra pakankamai mokslinių duomenų, patvirtinančių realias grėsmes sveikatos problemoms, susijusias su sintetinėmis pakuotėmis, tačiau nėra jokių abejonių, kad aplinkosaugos ir toksikologinių savybių reikalavimai taps vis griežtesni. Tad, pakuotės iš natūralių biologiškai skaidomų žaliavų yra puiki alternatyva sintetinėms pakuotėms.

Moksliniai duomenys rodo, kad plačiausiai ištirtos valgomųjų plėvelių panaudojimo galimybės vaisių, daržovių ir mėsos pramonėje, tačiau duomenų apie plėvelių panaudojimą žuvies gamyboje yra nedaug. Šviežios žuvies produktai yra labiau gendantys nei dauguma kitų maisto produktų, o jų gedime dažniausiai vyrauja mikroorganizmų veikla. Tad, siekiant išsaugoti žuvies tinkamumo vartoti trukmę svarbu užkirsti kelią mikroorganizmų veiklai.

Nustatyta, kad dažniausiai tiriamos valgomosios plėvelės iš chitozano. Duomenų apie kitų polisacharidų ar jų mišinių plėveles yra nedaug. Todėl pasirinkta ištirti valgomasias plėveles iš alginato ir pektino mišinio. Šios medžiagos pasižymi mechaniniu tvirtumu ir gebėjimu su divalenčiais katijonais sudaryti hidrogelius, kurie sustiprina plėvelių vandens barjerines savybes.

Dauguma mokslininkų pritaria, kad valgomųjų plėvelių antimikrobines savybes gali sustiprinti eteriniai aliejai, tačiau apie uogų, kaip puikaus antimikrobinių medžiagų šaltinio, panaudojimą žinoma nedaug. Todėl pasirinkta ištirti vynuogių ir spanguolių išspaudų ekstraktų įtaką valgomųjų plėvelių mechaninėms, fizikinėms ir antimikrobinėms savybėms bei įvertinti jų pritaikymo galimybes žuvies gamyboje.

## 2. NAUDOTOS MEDŽIAGOS IR JŲ TYRIMO METODAI

### 2.1. Naudotos medžiagos

Valgomosioms plėvelėms gauti naudotas natrio alginatas („Sigma Life Science“) iš rudųjų jūros dumblių ir >74 % galakturono rūgšties, turintis pektinas („Sigma Life Science“, Danija) iš citrusinių vaisių žievelių.

Plėvelių funkcinėms savybėms aktyvinti naudoti 99,5 % glicerolio („Eurochemicals“, Europos sąjunga), kaip plastifikatoriaus ir bevandenio kalcio chlorido („Eurochemicals“, Slovakija), kaip sutinklinimo agento, priedai.

Plėvelėse naudoti antimikrobiniai priedai:

1. Spanguolių (lot. *Vaccinium macrocarpon*) išspaudų ekstraktas:

- Nefrakcionuotas spanguolių išspaudų ekstraktas (NSE);
- Mažos molekulinės masės spanguolių išspaudų ekstraktas (MMSE), gautas nefrakcionuotą spanguolių išspaudų ekstraktą frakcionuojant 50 % etanoliu. Etanolis išgarintas 40 °C temperatūroje rotaciniu garintuvu ir išdžiovintas liofilizatoriuje. Frakcionavimo būdu atskirtos didelės ir mažos molekulinės masės spanguolių išspaudų ekstraktai.

2. Komercinis vynuogių ekstraktas (KVE) (Prancūzija, „DRT The Best of Nature“).

Šviežia silkės file gauta iš UAB „Orkos“ ir užtikrinant  $3 \pm 2$  °C temperatūrą atvežta į laboratoriją.

### 2.2. Tyrimų metodai

#### 2.2.1. Plėvelių formavimas

Alginato-pektino kompozicinių plėvelių sudėtis modeliuojama ir optimizuojama keičiant polisacharidų (alginato, pektino) santykį, glicerolio koncentraciją bei plėvelių gamybos būdą.

Pirmiausia, paruošiami skirtingų koncentracijų (1; 3; 5 %) glicerolio – vandens mišiniai. Ruošiant 1 % glicerolio tirpalą, 99 g vandens ( $H_2O$ ) ištirpinamas 1 g ( $C_3H_8O_3$ ) glicerolio. Paruoštose glicerolio tirpaluose ištirpinamos plėvelių formavimui naudojamos medžiagos į tirpalus įdedant po 3 g alginato, pektino arba alginato-pektino mišinio ir 30 minučių maišoma „BIOSAN“ magnetine maišykle. Paruoštų plėvelių tirpalų sudėtis pateikta 1 lentelėje.

**1 lentelė.** Paruoštų plėvelių sudėtis

Mišinio Nr.	Glicerolio koncentracija, %	Alginato:pektino santykis
I	1	1:0
II		9:1
III		8:2
IV		7:3
V		6:4
VI		5:5
VII		0:1
VIII	3	1:0
IX		9:1
X		8:2
XI		7:3
XII		6:4
XIII		5:5
XIV		0:1
XV	5	1:0
XVI		9:1
XVII		8:2
XVIII		7:3
XIX		6:4
XX		5:5
XXI		0:1

Gauti homogeniški tirpalai 20 minučių patalpinami į „Bandelin sonorex“ ultragarso vonelę, po kurios liejimo būdu, po 10 ml, išpilstomi į stiklines Petri lekšteles.

Identiškos sudėties plėvelės gaminamos dviem būdais, naudojant skirtingas plėvelių džiovavimo temperatūras:

1. Plėvelės 24 val. džiovinamos 45 °C temperatūroje „TFC 200“ termostate;
2. Plėvelės užšaldomos šaldiklyje (-18 °C temperatūra) ir patalpinamos į „VirTis SP Scientific“ liofilizatorių, kuriame 24 val. džiovinamos -180 °C temperatūroje.

Plėvelių sutinklinimui paruošti skirtingų koncentracijų (1 ir 5 %) kalcio chlorido tirpalai. Plėvelėms su skirtingais alginato ir pektino kiekiais naudotas 1 % kalcio chlorido tirpalas, o įdėjus ekstraktų naudotas 5 % kalcio chlorido tirpalas (sumažinamas kalcio chlorido kiekis reikalingas plėvelių sutinklinimui, siekiant sumažinti ekstraktų išplovimą iš plėvelių). Išdžiovintos plėvelės 20 minučių panardinamos į 30 ml 1 % kalcio chlorido tirpalą arba apipurškiamos 5 % kalcio chlorido tirpalu. Po 20 minučių, sutinklintos plėvelės perplaunamos distiliuotu vandeniu.

Atliekami paruoštų plėvelių be ekstraktų mechaninių ir fizikinių savybių tyrimai. Įvertinus gautus rezultatus, atrenkama plėvelių džiovavimo temperatūra (45 °C) ir optimaliausiomis savybėmis pasižyminčios plėvelės (mišinio nr. IV). Į atrinktų plėvelių sudėtį įterpiami 5 % antimikrobiniai

priedai: nefracionuotas spanguolių išspaudų ekstraktas, mažos molekulinės masės spanguolių išspaudų ekstraktas ar komercinis vynuogių ekstraktas. Ekstraktai ištirpinami glicerolio tirpale kartu su plėvelės formuojančiomis medžiagomis (alginatu ir pektinu). Plėvelės su ekstraktais džiovinamos žemesnėje temperatūroje (30 °C).

### 2.2.2. Plėvelių tyrimo metodai

#### Plėvelių tirpalų pH nustatymas

Plėvelių tirpalų pH išmatuoti naudojant „OAKTON“ pH matuoklį. Vieno tirpalo pH nustatyti atlikti trijų tos pačios sudėties tirpalų matavimai ir iš gautų verčių išvestas vidurkis.

#### Plėvelių storio nustatymas

Plėvelių storis nustatytas naudojant „Mitutoyo“ skaitmeninį mikrometrą, kurio tikslumas yra  $\pm 3 \mu\text{m}$ . Vienos plėvelės storiui nustatyti naudojami trys mėginiai, o po matavimų išvedamas gautų verčių vidurkis.

#### Mechaninių savybių nustatymas

Plėvelių pradūrimo jėga ir elastingumas nustatomi naudojant „TA.XT.PLUS“ (Texture analyzer) analizatorių, kuris prijungtas prie kompiuterinės programos. Tyrimas atliekamas 25 °C temperatūroje. Vienos plėvelės pradūrimo jėgai ir elastingumui nustatyti naudojami trys mėginiai. Plėvelė uždedama ant matavimo platformos ir pritvirtinama. Pradinis atstumas tarp plėvelės ir spaustuko yra 0,2 mm. Tuomet kompiuteryje paleidžiama programa ir spaustukas juda link plėvelės 2 mm/s greičiu. Spaustukas spaudžia plėvelę, kol praduria ir grįžta atgal. Kompiuteryje pateikiamos plėvelių pradūrimo jėgos (Niutonais) ir elastingumo (mm) vertės. Tyrimas kartojamas tris kartus ir iš gautų rezultatų išvedamas vidurkis.

#### Vandens garų pralaidumo nustatymas

Plėvelių vandens garų pralaidumas (WVP) nustatytas pagal ASTM E-96-95 standartą [86]. Vienos plėvelės vandens garų pralaidumui nustatyti naudoti trys plėvelių mėginiai, kurių storis nuo 0,1–0,5 mm. Plėvelių mėginiais (paviršiaus plotas  $1,803 \text{ m}^2$ ) sandariai uždengtos stiklinės, kuriose yra 3 g kalcio chlorido. Užlenkti plėvelių kraštai apsukami „Parafilm“ plėvele. Stiklinės su mėginiais patalpinamos į eksikatorių, kuriame palaikoma 25 °C temperatūra ir 75 % drėgmė. Tuomet 7 paras, kas 24 val. fiksuojamas kalcio chlorido kiekis stiklinėse, pagal kurį apskaičiuojamas plėvelių vandens garų pralaidumas (1):

$$\text{WVP} = \frac{M_p \cdot \text{storis}}{A \cdot t \cdot \Delta p}; \text{ gmm/m}^2 \text{ dkPa} \quad (1)$$

Čia: WVP – vandens garų pralaidumas,  $\text{gmm/m}^2 \text{ dkPa}$ ;  $M_p$  – absorbuotas drėgmės kiekis, g; plėvelių storis, mm; A – tiriamas plėvelės plotas,  $\text{m}^2$ ;  $\Delta p$  – slėgių skirtumas, atm; t – laikas, s [55].

#### Drėgmės sugėrimo nustatymas

Plėvelių drėgmės sugėrimo tyrimas atliktas matuojant tris kiekvienos plėvelės mėginius. Plėvelės pasveriamos “KERN” analitinėmis svarstyklėmis 0,001 g tikslumu ir plantimetru išmatuojamas

plėvelių plotas. Tuomet plėvelių mėginiai 30 minučių panardinami į distiliuotą vandenį (100 ml), užtikrinant 25 °C temperatūrą. Išimti iš vandens mėginiai iš abiejų pusių nusausinami, pasveriami ir planimetru išmatuojamas jų plotas. Plėvelių drėgmės sugėrimas apskaičiuojamas pagal pateiktas formules (2,3):

$$SD_{svoris} = \frac{m_w - m_o}{m_o} \quad (2)$$

$$SD_{plotis} = \frac{S_w - S_o}{S_o} \quad (3)$$

Čia:  $SD_{svoris}$ ,  $SD_{plotis}$  – plėvelių drėgmės sugėrimas;  $m_o$  – plėvelės masė prieš laikymą vandenyje, g;  $m_w$  – plėvelės masė po laikymo vandenyje, g;  $S_o$  – plėvelės plotis prieš laikymą vandenyje,  $mm^2$ ;  $S_w$  – plėvelės plotis po laikymo vandenyje [31].

### 2.2.3. Ekstraktų ir valgomųjų plėvelių su ekstraktais antimikrobinio aktyvumo nustatymas

Ekstraktų ir plėvelių antimikrobiniam aktyvumui nustatyti atitinkamai taikyti įdubų ir diskų difuzijos į agarą metodai. Tyrimo metu naudotos Kauno technologijos universiteto mikroorganizmų kultūros:

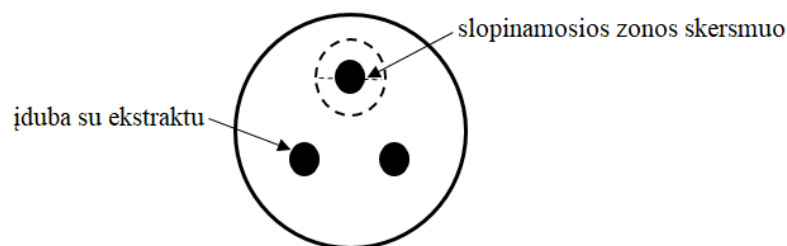
- *Staphylococcus aureus* ATCC25923;
- *Listeria monocytogenes* ATCC19117;
- *Salmonella typhimurium* ATCC14028;
- *Escherichia coli* ATCC 8739;
- *Escherichia coli* NTCT 12900.

Mikroorganizmai sterilia kilpele persėti ant nuožulnaus agarą (Plate Count agar, REF247940) ir 24 val. inkubuojami 37 °C temperatūroje. Po 24 val. užaugę mikroorganizmai paimami kilpele ir įdedami į mėgintuvėlį, kuriame yra 10 ml sterilaus izotoninio vandens. Mėgintuvėlio turinys 60 s, 1400 aps./min. greičiu maišomas „JK MS1 Minishaker“ maišykle.

Naudota mitybos agarą („Difco Plate Count Agar“ (PCA)) terpė, kuri paruošta pagal gamintojo nurodymus. Į 200 ml distiliuoto vandens įdėta 4,7 g agarą pagrindo, sumaišoma ir 15 min autoklavuojama 121 °C temperatūroje. Atvėsinus terpę iki 45–50 °C temperatūros į atskirus terpių buteliukus įdedama po 2 ml paruoštų bakterijų kultūrų (lot. *S. aureus*, *L. monogenase*, *S. typhynarium*, *E. Coli 8739*, *E. Coli NTCT 12900*), kuriose yra  $10^6$  bakterijų. Užkrėtus PCA terpę ji po 12–15 ml išpilstoma į sterilias Petri lėkšteles ir paliekama ant horizontalaus paviršiaus sustingti.

Ekstraktų antimikrobiniam aktyvumui nustatyti paruošiami 5 % ekstraktų tirpalai: nefrakcionuoto spanguolių išspaudų ekstrakto, mažos molekulinės masės spanguolių išspaudų ekstrakto ir komercinio vynuogių ekstrakto. Ruošiant 2 ml ekstrakto tirpalo 1,9 g distiliuoto vandens ištirpinama 0,1 g ekstrakto. Vynuogių ekstrakto tirpumui padidinti papildomai naudotas 96 % etanolis (0,1 g ekstrakto, 1,7 g distiliuoto vandens ir 0,2 g etanolio).

Sustingus PCA terpei, joje padaromos trys 6–8 mm skersmens įdubos. Į kiekvieną įdubą įlašinama po 0,05 ml paruoštų ekstraktų tirpalų. 5 paveiksle pateikta lėkštelių su įdubomis schema.



**5 pav.** Ekstraktų atsparumo įvertinimas difuzijos į agarą (įdubų) metodu

Plėvelių su ekstraktais antimikrobiniam aktyvumui nustatymui naudotos trys  $25 \pm 2 \text{ mm}^2$  ploto plėvelės, kurios sustingus PCA terpei uždedamos ant terpės paviršiaus.

Įlašinus ekstrakto ar uždėjus plėveles su ekstraktais lėkštelės 24 val. laikomos  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  temperatūroje ir tuomet vertinami gauti rezultatai. Lėkštelėse auga bakterijos, o aplink įdubą ar plėvelę susidaro jautrios bakterijų augimo slopinimo zonos, kurios aiškiai matomos išaugusių bakterijų fone. Liniuote išmatuojamos skaidrios (slopinimo) zonos skersmuo ir įvertinamas mikroorganizmų jautrumas atitinkamam ekstraktui. Vieno ekstrakto slopinamai zonai nustatyti matuoti trys bandiniai, iš kurių išvestas vidurkis.

#### 2.2.4. Silkės tyrimai

##### Silkės mikrobiologinis tyrimas

Plėvelių įtaka *Pseudomonas aeruginosa* ir *Listeria monocytogenes* bakterijoms nustatyta pagal bendrą šių mikroorganizmų skaičiaus pokytį silkės mėginiuose.

Tyrimui reikalingos terpės („Oxoid“ *Pseudomonas* Agar Base, CM559 ir „Biolife“ Agar *Listeria* Ottaviani Agosti, REF 4016052) paruoštos laikantis gamintojų reikalavimų. Atvėsinus terpes iki  $45\text{--}50 \text{ }^\circ\text{C}$  temperatūros į *Pseudomonas* Agar Base terpę įdedamas CFC Supplement (SR103) priedas, o į Agar *Listeria* Ottaviani Agosti terpę įdedami ALOA Enrichment Supplement (REF 423501) ir ALOA Selective Supplement (REF 423501) (prieš tai ištirpinamas 5 ml vandens:etanolio (1:1) mišinyje) priedai. Terpės gerai išmaišomos ir išpilstomos į Petri lėkšteles sudarant  $0,4 \pm 0,05 \text{ mm}$  sluokslį.

Šviežios silkės file steriliai supjaustomos po 10–12 g. Silkės mėginiai padengiami paruoštomis plėvelėmis (2 lentelė) ir užtikrinant  $3\text{--}6 \text{ }^\circ\text{C}$  temperatūrą laikomi 18 parų.

**2 lentelė.** Silkės mėginiai

Silkės mėginio Nr.	Bakterija	Kontrolė	Kontrolė su plėvelė be ekstrakto	Plėvelė su NSE	Plėvelė su KVE
I	Nėra	+			
II			+		
III	<i>P. aeruginosa</i>	+			
IV			+		
V				+	
VI					+
VII	<i>L. monocytogenes</i>	+			
VIII			+		
IX				+	
X					+

Periodiškai (po 1, 2, 4, 6, 12, 18 parų) atliekami mikrobiologiniai silkės mėginių tyrimai. Po 1 paros, silkė steriliai išimama iš plėvelės (jei yra) ir “KERN” svarstyklėmis (0,001 g tikslumu) atsveriamą 10 g mėginio. Atsvertas mėginys įdedamas sterilų maišelį ir įpilama 90 ml sterilaus izotoninio vandens. Mišinys 90 s homogenizuojamas „Interscience“ grūstuvėje ir tokiu būdu gaunama pradinė mėginio suspensija. Taikant serijinį skiedimą, ruošiami dešimkarčiai skiedimai ir į Petri lėkštelės atliekamas atitinkamas skiedimas, pagal tikėtiną mėginio mikrobiologinį užterštumą.

Pagal reikalavimus, kontrolės mėginiai (I, II) paviršiniu sėjimo būdu sėjami ant abiejų selektyvių terpių (Pseudomonas Agar Base, Agar Listeria Ottaviani Agosti), *P. aeruginosa* užkrėsti mėginiai (III–VI) ant Pseudomonas Agar Base terpės, o *L. monocytogenes* užkrėsti mėginiai (VII–X) ant Agar Listeria Ottaviani Agosti. terpės. Lėkštelės 72 val. inkubuojamos 37 °C temperatūroje. Po to atpažįstami mikroorganizmai ir nustatomas jų skaičius [87].

### Kiekybinis biogeninių aminių nustatymas

Silkės biogeninių aminių nustatymas ir kiekybinė analizė atlikta taikant didelio efektyvumo skysčių chromatografiją (HPLC) KTU Maisto Instituto laboratorijoje.

Šviežios silkės file supjaustytos po 5–6 g ir mėginiai padengti plėvelėmis (2 lentelė). Silkės mėginiai laikomi 18 parų užtikrinant 3–6 °C temperatūrą ir periodiškai (po 1, 2, 4, 6, 12, 18 parų) atliekami silkės biogeninių aminių tyrimai.

Po 1 paros, silkė išimama iš plėvelės (jei yra) ir “KERN” svarstyklėmis (0,001 g tikslumu) atsveriamą 5 g silkės mėginio. Biogeniniai aminai išskirti homogenizuotą silkės mėginį ekstrahuojant perchloro rūgštimi ( $HClO_4$ ). Į 50 ml mėgintuvėlį įdedami 5 g silkės, 20 ml perchloro rūgšties (0,4 mol/l) ir 250 μl vidinio etaloninio 1,7–diaminoheptano tirpalo (1 mg/ml). Gautas mišinys 15 min, 4000 aps./min. greičiu, centrifuguojamas (Hermle Z 306, Vokietija). Tuomet centrifūgatas filtruojamas Whatman Nr.1 filtriniu popieriumi (180 μm storio ir 11 μm dalelių sulaikymo koeficientas esant 98 % efektyvumui), o gautas filtratas praskiedžiamas 0,4 ml/l perchloro rūgšties tirpalu. Į 500 μl ekstrakto mėginio įpilama 100 μl natrio hidroksido tirpalo (2 mol/l), 150 μl prisotinto natrio bikarbonato ir 1 ml dansilchlorido ( $C_{12}H_{12}ClNO_2S$ ) tirpalo (10 mg/ml) bei su purtyklės maišytuvu („Reax Top VWR“, Vokietija) sumaišoma. Gautas reakcijos mišinys 45 min. derivatizuojamas 40 °C temperatūroje. Atlikus derivatizaciją, mišinys atvėsina iki kambario temperatūros (25 ± 2 °C) ir dansilchlorido likutis pašalinamas 25 % 50 μl amoniaku ( $NH_3$ ). Po 30 min. įpilama 5 ml amonio

acetato (0,1 mol/l) – acetonitrilo mišinio (1:1) ir sumaišoma purtyklėje. Tuomet mišinys filtruojamas per 0,20 μm nailono filtrą (UptiDisc, Interchim, Prancūzija), o gautas filtratas (20 μl) įpurškiamas į analizės kolonėlę.

Tyrimui naudota kolonėlė (YMC Co., Ltd., Japonija) ir YMC išankstinė kolonėlė (YMC Co., Ltd., Japonija), ProC18 (10 × 3,0 mml.D, S–3μm, 12 nm). LC judanti A fazė: amonio acetatas (0,1 mol/l), B fazė: acetonitrilas. Veikimo sąlygos: srautas 0,9 ml/min; injekcijos tūris 20 μL; kolonos temperatūra 40 °C. Smailės nustatytos 254 nm. Gradientas nuo 50 % B iki 90 % B per 19 minučių; bėgimo laikas 20 minučių; po bėgimo prieš kitą bandymą, 50 % B, 8 minutės.

Kiekybiškai įvertinti penki biogeniniai aminai: putrescinas ( $C_4H_{12}N_2$ ), kadaverinas ( $C_5H_{14}N_2$ ), histaminas ( $C_5H_9N_3$ ), tiraminas ( $C_8H_{11}NO$ ) ir sperminas ( $C_{10}H_{26}N_4$ ). Kiekvieno amino pradiniai tirpalai (1 mg/ml) buvo paruošti 0,1 N HCl ir laikomi  $4\pm 1$  °C temperatūroje. Aminų identifikavimui atskirų biogeninių aminų standartiniai tirpalai buvo chromatografuojami atskirai ir sumaišomi, kad būtų galima nustatyti kiekvieno sulaikymo laiką ir atsaką. Standartinės kreivės su koreliacijos koeficientais pradiniam tirpalams buvo gautos naudojant išorinį standartinį metodą. Visi rezultatai buvo išreikšti mg/kg.

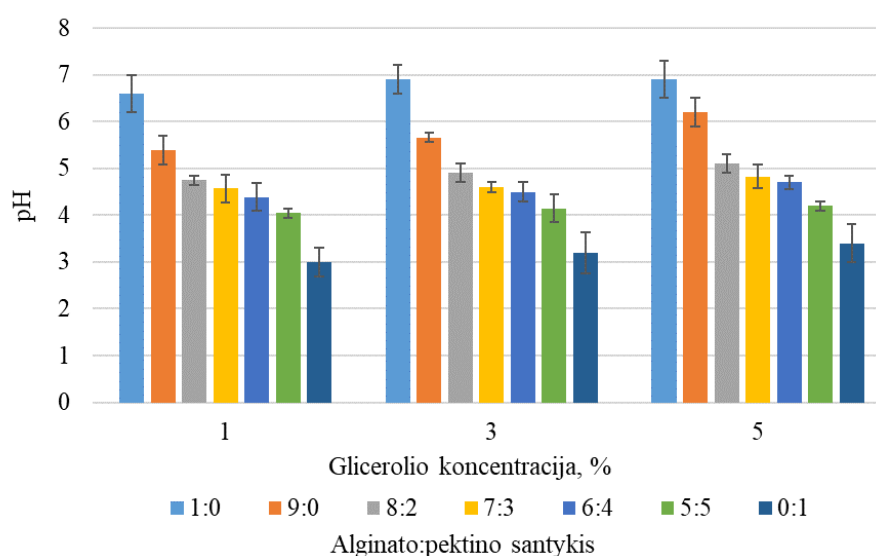
### 3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APITARIMAS

#### 3.1. Plėvelių sudedamųjų komponentų ir džiovavimo temperatūros įtaka plėvelių savybėms

Valgomųjų plėvelių panaudojimo galimybės maisto pramonėje priklauso nuo plėvelių cheminių, mechaninių ir fizikinių savybių, kurias lemia plėvelių sudedamosios dalys ir džiovavimo temperatūra. Šioje dalyje tirta plėvelių džiovavimo temperatūros (45, -180 °C), alginato:pektino santykio (1:0 – 0:1), glicerolio koncentracijos (1, 3, 5 %) ir kalcio chlorido įtaka plėvelių cheminėms, mechaninėms ir fizikinėms savybėms.

##### 3.1.1. Polisacharidinių tirpalų cheminės savybės

Polisacharidinių tirpalų pH yra vienas iš pagrindinių faktorių apibūdinančių plėvelių chemines savybes. Plėvelių sudedamųjų komponentų įtaka polisacharidinių tirpalų pH pateikta 6 paveiksle.

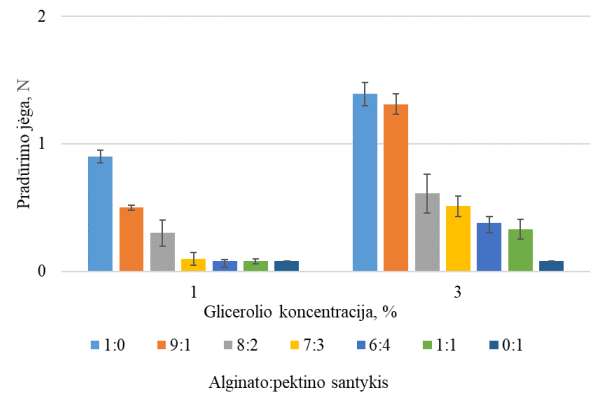
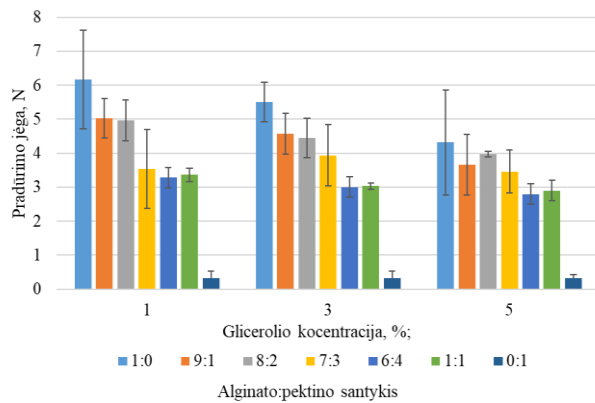


6 pav. Alginato:pektino santykio ir glicerolio koncentracijos įtaka polisacharidinių tirpalų pH

Gauti rezultatai (6 pav.) rodo, kad alginato:pektino santykis ir glicerolio koncentracija turi įtakos polisacharidinių tirpalų pH. Nustatyta, kad didėjant alginato kiekiui ir mažėjant pektino kiekiui nuo 0:1 iki 1:0, tirpalų pH didėja iki neutralaus ( $7 \pm 0,42$ ), o mažėjant alginato kiekiui – tirpalų pH mažėja iki rūgštaus ( $3 \pm 0,30$ ). Nors glicerolio koncentracijos įtaka polisacharidinių tirpalų pH yra nedidelė, tačiau nustatyta, kad jai didėjant nuo 1 iki 5 % tirpalų pH vidutiniškai padidėja 7,88 %.

##### 3.1.2. Valgomųjų plėvelių mechaninės savybės

Valgomųjų plėvelių mechaninės savybės yra vienas iš svarbiausių faktorių, turinčių įtakos plėvelių panaudojimo galimybėms maisto pramonėje. Plėvelių pradūrimo jėga ir elastingumas yra pagrindiniai plėvelių mechaninių savybių rodikliai. Džiovavimo temperatūros įtaka plėvelių pradūrimo jėgai pateikta 7 paveiksle.



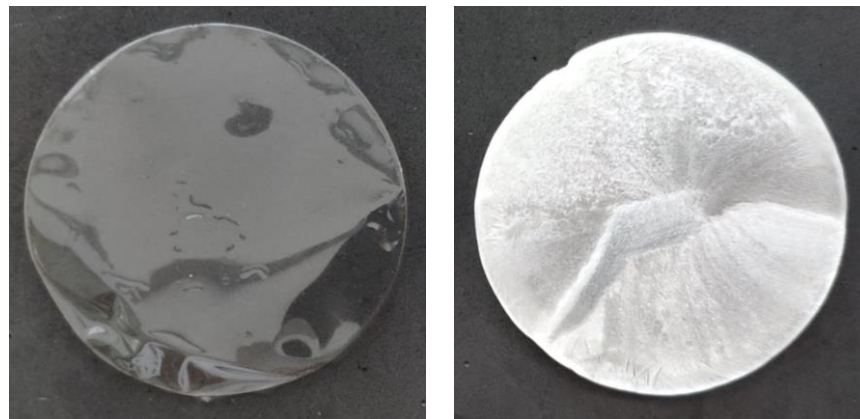
a)

b)

**7 pav.** Plėvelių džiovavimo temperatūros a) 45 °C ir b) -180 °C, alginato:pektino santykio ir glicerolio koncentracijos įtaka plėvelių pradūrimo jėgai

Gauti rezultatai (7 pav.) rodo, kad džiovinant plėvelės žemesnėje temperatūroje (-180 °C) plėvelės pasižymi mažesniu stiprumu, nei aukštesnėje temperatūroje (45 °C) džiovintos plėvelės. Vieni iš didžiausių, pradūrimo jėgos skirtumų, nustatyti plėvelėse, kuriose alginato:pektino santykis yra 7:3, o glicerolio koncentracija – 1 %. Šios sudėties plėvelių, džiovintų 45 °C temperatūroje, pradūrimo jėga yra  $3,54 \pm 1,15$  N, o -180 °C temperatūroje džiovintų plėvelių –  $0,1 \pm 0,05$  N. Tai kad, žemesnėje temperatūroje (-180°C) džiovintos plėvelės pasižymi mažesne pradūrimo jėga, gali lemti šaldymo metu susidarę dideli ledo kristalai. Jie sukelia procesus, kurie gali pažeisti valgomųjų plėvelių struktūrą [88].

Džiovinimo temperatūros įtaką plėvelių struktūrai patvirtina ir plėvelių išvaizda (8 pav.).



a)

b)

**8 pav.** Džiovinimo temperatūros a) 45 °C ir b) -180 °C įtaka plėvelių išvaizdai, kuriose alginato:pektino santykis 7:3, o glicerolio koncentracija 1 %

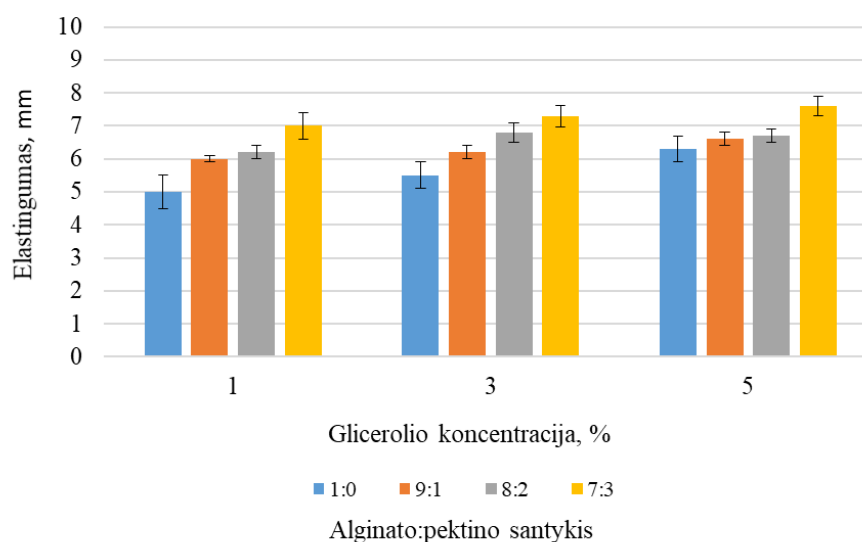
Plėvelės džiovintos 45 °C temperatūroje (8 pav.a)) pasižymi vientisumu ir skaidrumu, o -180 °C temperatūroje (8 pav. b)) – porėtu, nevienalyčiu paviršiumi ir mažu skaidrumu. Taigi, įvertinus rezultatus, toliau analizuoti pasirinkta tik 45 °C temperatūroje džiovintos plėvelės.

Plėvelių, džiovintų 45 °C temperatūroje pradūrimo jėgos rezultatai (7 pav. a)) rodo, kad plėvelių sudedamosios dalys turi įtakos plėvelių mechaninėms savybėms. Nustatyta, kad plėvelėse didėjant alginato kiekiui ir mažėjant pektino kiekiui nuo 0:1 iki 1:0 didėja plėvelių pradūrimo jėga, atitinkamai su 1 % gliceroliu, nuo  $0,33 \pm 0,10$  iki  $6,17 \pm 1,46$  N. Tai rodo, kad aglinatas pasižymi geresnėmis stipruminėmis savybėmis nei pektinas. Gautus rezultatus patvirtina ir kitų mokslininkų atliktas tyrimas, kuriame nustatyta, kad plėvelėse didėjant alginato kiekiui ir mažėjant pektino kiekiui nuo 1:0 iki 0:1 plėvelių tempimo stipris didėja nuo 19 iki 64 MPa [56].

Taip pat, tyrinėta glicerolio koncentracijos įtaka plėvelių pradūrimo jėgai (7 pav.a)), nustatyta, kad didėjant glicerolio koncentracijai nuo 1 iki 5 % plėvelių pradūrimo vidutiniškai sumažėja 25,55 %. Tai patvirtina, Silva M. A. ir kitų mokslininkų atliktas tyrimas, kuriame nustatyta, kad alginato:pektino (1:1) plėvelėse didėjant glicerolio koncentracijai nuo 1 iki 5 %, plėvelių tempimo stipris sumažėja 25,64 % [31].

Įvertinus rezultatus, galima teigti, kad stipriausia pradūrimo jėga pasižymi plėvelės, kuriose alginato kiekis yra didžiausias (alginato:pektino santykis 1:0), o glicerolio koncentracija yra mažiausia (1 %), tad toliau pasirinkta tirti tik tas plėveles, kuriose alginato:pektino santykis yra 1:0, 9:1, 8:2 ir 7:3.

Be to, ištirta valgomųjų plėvelių sudedamųjų dalių įtaką plėvelių elastingumui (9 pav.).



**9 pav.** Alginato:pektino santykio ir glicerolio koncentracijos įtaka plėvelių elastingumui

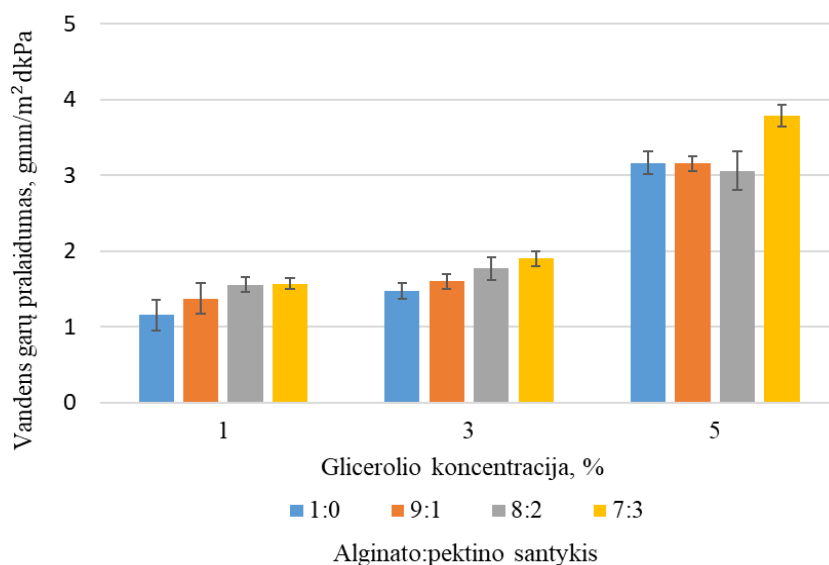
Nustatyta (9 pav.), kad mažėjant alginato kiekiui ir didėjant pektino kiekiui nuo 1:0 iki 7:3, plėvelių elastingumas didėja, su 1 % gliceroliu, nuo  $5,00 \pm 0,50$  iki  $7,00 \pm 0,45$  mm, su 3 % gliceroliu nuo  $5,50 \pm 0,40$  iki  $7,30 \pm 0,32$  mm, o su 5 % gliceroliu nuo  $6,30 \pm 0,40$  iki  $7,60 \pm 0,30$  mm. Tai rodo, kad pektinas pasižymi geresniu elastingumu nei alginatas. Gautus rezultatus patvirtina Shahrapouro D. ir kitų mokslininkų atliktas tyrimas, kuriame ištirta, kad mažėjant alginato kiekiui ir didėjant pektino kiekiui nuo 1:0 iki 1:1 plėvelių elastingumas, didėja nuo 8 iki 13 % [56].

Nors glicerolio koncentracijos įtaka plėvelių elastingumui yra nedidelė, tačiau nustatyta, kad didėjant glicerolio koncentracijai nuo 1 iki 5 %, plėvelių elastingumas vidutiniškai padidėja 11,39 %. Tai patvirtina ir kitų mokslininkų atliktas tyrimas, kuriame nustatyta, kad alginato:pektino (1:1) plėvelėse didėjant glicerolio koncentracijai nuo 1 iki 5 %, plėvelių elastingumas vidutiniškai padidėja 18,88 % [31]. Taigi, optimaliu elastingumu pasižymi valgomosios plėvelės, kuriose pektino kiekis (alginato:pektino santykis 7:3) ir glicerolio koncentracija (5 %) yra didžiausi.

Apibendrinant rezultatus, galima teigti, kad palankiausiomis plėvelių mechaninėmis savybėmis pasižymi 45 °C temperatūroje džiovintos kompozicinės plėvelės, kuriose alginato:pektino santykis yra 7:3, jų pradūrimo jėga yra  $3,54 \pm 1,15$  N, o elastingumas –  $7 \pm 0,45$  mm.

### 3.1.3. Valgomųjų plėvelių fizikinės savybės

Kitas svarbus faktorius, turintis įtakos valgomųjų plėvelių panaudojimo galimybėms, yra plėvelių drėgmės barjerinės savybės, tokios kaip, vandens garų pralaidumas ir drėgmės sugėrimas. Alginato:pektino santykio ir glicerolio koncentracijos įtaka plėvelių vandens garų pralaidumui pateikta 10 paveiksle.

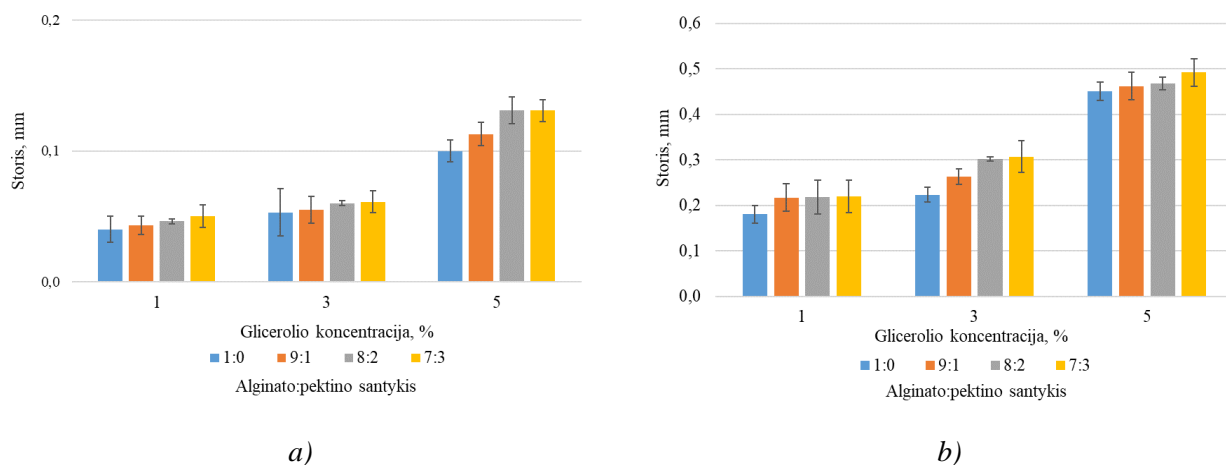


**10 pav.** Alginato:pektino santykio ir glicerolio koncentracijos įtaka plėvelių vandens garų pralaidumui

Gauti rezultatai (10 pav.) rodo, kad plėvelių vandens garų pralaidumui įtakos turi alginato:pektino santykis ir glicerolio koncentracija. Didžiausia alginato:pektino santykio įtaka nustatyta plėvelėse su 5 % gliceroliu, kai mažėjant alginato kiekiui ir didėjant pektino kiekiui nuo 1:0 iki 7:3 plėvelių vandens garų pralaidumas, atitinkamai didėja nuo  $3,16 \pm 0,07$  iki  $3,79 \pm 0,27$  gmm/m<sup>2</sup> dkPa. Tai rodo, kad alginatas pasižymi geresnėmis drėgmės barjerinėmis savybėmis, nei pektinas. Gautus rezultatus patvirtina ir kitų mokslininkų atliktas tyrimas, kuriame nustatyta, kad mažėjant alginato kiekiui ir didėjant pektino kiekiui nuo 1:0 iki 1:1 plėvelių vandens garų pralaidumas vidutiniškai padidėja 31,14 % [24].

Taip pat, iširta, kad didėjant glicerolio koncentracijai nuo 1 iki 5 %, plėvelių vandens garų pralaidumas padidėja 2,3 karto. Taigi, palankiausiomis plėvelių drėgmės barjerinėmis savybėmis pasižymi plėvelės, kuriose alginato:pektino santykis 1:0, o glicerolio koncentracija 1 %.

Valgomųjų plėvelių drėgmės barjerinėms savybėms gali turėti įtakos plėvelių storis (11 pav.). Nustatyta, kad mažiausiu vandens garų pralaidumu ( $1,15 \pm 0,20$  gmm/m<sup>2</sup>dkPa) pasižymi plėvelės, kurių storis po tinklinimo kalcio chloridu yra mažiausias ( $0,18 \pm 0,02$  mm), o toliau didėjant plėvelių storiui plėvelių vandens garų pralaidumas nuosekliai didėja ir didžiausiu vandens garų pralaidumu ( $3,79 \pm 0,27$  gmm/m<sup>2</sup>dkPa) pasižymi storiiausios plėvelės ( $0,49 \pm 0,03$  mm).

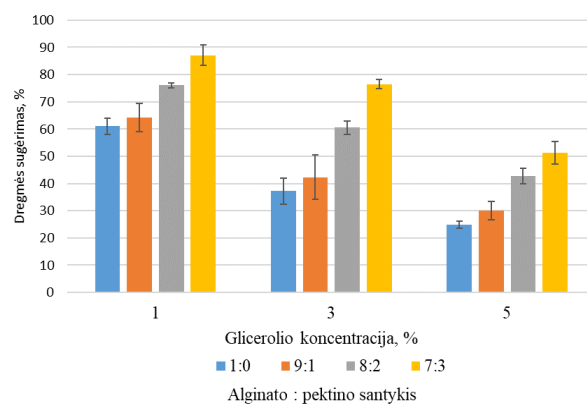
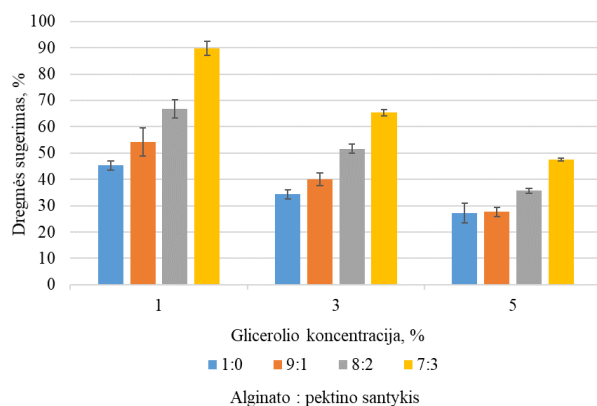


**11 pav.** Alginato:pektino santykio ir glicerolio koncentracijos įtaka plėvelių storiui a) prieš tinklinimą ir b) po tinklinimo

Plėvelių storio rezultatai (11 pav.) rodo, kad jų storiui įtakos turi tinklinimas kalcio chloridu. Nustatyta, kad taikant tinklinimo metodą, plėvelių, kuriose alginato:pektino santykis 3:7, storis su 1 % gliceroliu padidėjo nuo  $0,05 \pm 0,01$  iki  $0,22 \pm 0,02$  mm, su 3 % nuo  $0,06 \pm 0,01$  iki  $0,31 \pm 0,02$  mm, o su 5 % nuo  $0,13 \pm 0,01$  iki  $0,49 \pm 0,03$  mm. Taigi, tinklinimas kalcio chloridu 4-5 kartus padidina visų plėvelių storį.

Taip pat, plėvelių storiui įtakos turi alginato:pektino santykis ir glicerolio koncentracija. Nustatyta, kad mažėjant alginato kiekiui ir didėjant pektino kiekiui nuo 1:0 iki 7:3 netinklėtų ir tinklėtų plėvelių storis, atitinkamai padidėja 18,92 ir 18,03 %. Tai patvirtina ir kitų mokslininkų gauti rezultatai, kurie rodo, kad mažėjant alginato kiekiui ir didėjant pektino kiekiui nuo 1:0 iki 1:1 tinklėtų (2 %  $CaCl_2$ ) plėvelių storis padidėja nuo  $0,07 \pm 0,01$  iki  $0,11 \pm 0,01$  mm [56]. Didėjant glicerolio koncentracijai nuo 1 iki 5 % plėvelių storis vidutiniškai padidėja 2,2 karto.

Be to, ištirtos plėvelių drėgmės sugėrimo savybės (12 pav.) pagal plėvelių svorį ir plotą.

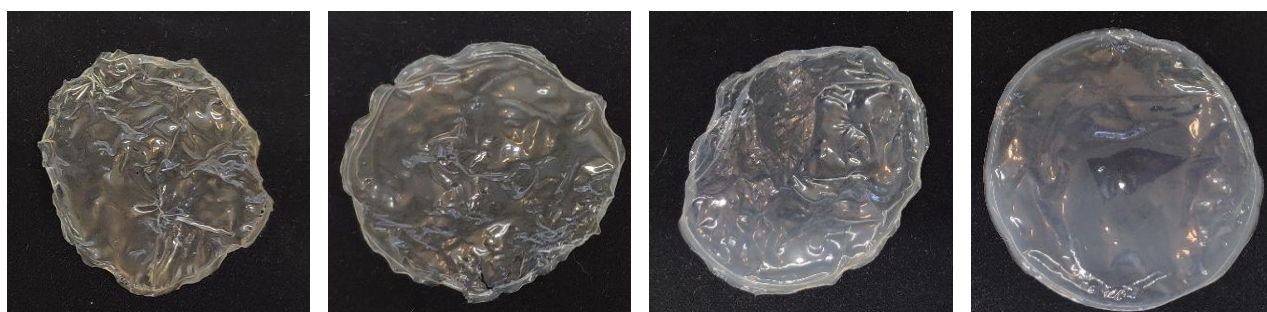


a)

b)

**12 pav.** Alginato:pektino santykio ir glicerolio koncentracijos įtaka plėvelių drėgmės sugėrimui pagal plėvelių a) svorį ir b) plotą

Plėvelių drėgmės sugėrimo rezultatai pagal plėvelių svorį (12 pav. a)) rodo, kad mažėjant alginato kiekiui ir didėjant pektino kiekiui nuo 1:0 iki 7:3 plėvelių drėgmės sugėrimas vidutiniškai padidėja 46,09 %. Tai patvirtina plėvelių drėgmės sugėrimo rezultatai pagal plėvelių plotą (12 pav. b)) ir plėvelių išvaizda (13 pav.). Plėvelių, kuriose glicerolio koncentracija yra 1 % drėgmės sugėrimas kinta priklausomai nuo alginato:pektino santykio, kai jis 1:0 –  $61,01 \pm 0,21$  %, 9:1 –  $64,22 \pm 0,15$  %, 8:2 –  $76,4 \pm 0,18$  %, o 7:3 –  $87,13 \pm 0,12$  %. Tam įtakos gali turėti, skirtingas polisacharidų (alginato, pektino) kryžminių jungčių (su  $Ca^{2+}$ ) skaičius. Pektinui būdingas mažesnis jungčių skaičius su  $Ca^{2+}$ , tad didėjant jo kiekiui plėvelės absorbuoja daugiau drėgmės, o alginatas pasižymi didesniu jungčių su  $Ca^{2+}$  skaičiumi, tad didėjant jo kiekiui plėvelių drėgmės sugėrimas mažėja [89,90].



a)

b)

c)

d)

**13 pav.** Alginato:pektino santykio a) 1:0 b) 9:1 c) 8:2 d) 7:3 įtaka plėvelių, su 1 % gliceroliu, drėgmės sugėrimui

Taip pat, plėvelių drėgmės sugėrimui įtakos turi ir glicerolio koncentracija. Nustatyta, kad didėjant glicerolio koncentracijai nuo 1 iki 5 % plėvelių drėgmės sugėrimas vidutiniškai sumažėja 1,70 karto. Tai patvirtina ir kitų mokslininkų gauti rezultatai, kurie rodo, kad alginato:pektino (1:1) plėvelėse didėjant glicerolio koncentracijai nuo 1 iki 5 % plėvelių drėgmės sugėrimas, po 30 minučių, padidėja 16,25 % [31]. Taigi, plėvelės, kuriose pektino kiekis yra didžiausias (alginato:pektino santykis 7:3), o glicerolio koncentracija mažiausia (1 %) pasižymi didžiausiu drėgmės sugėrimu.

Apibendrinant plėvelių fizikines savybes, galima teigti, kad palankiausiomis fizikinėmis savybėmis pasižymi plėvelės, kuriose glicerolio koncentracija yra 1 %. Plėvelių sudedamųjų komponentų įtaka

yra dvejopa: mažiausiu vandens garų pralaidumu pasižymi plėvelės, kuriose alginato:pektino santykis yra 1:0, o didžiausiu drėgmės sugėrimu – 7:3.

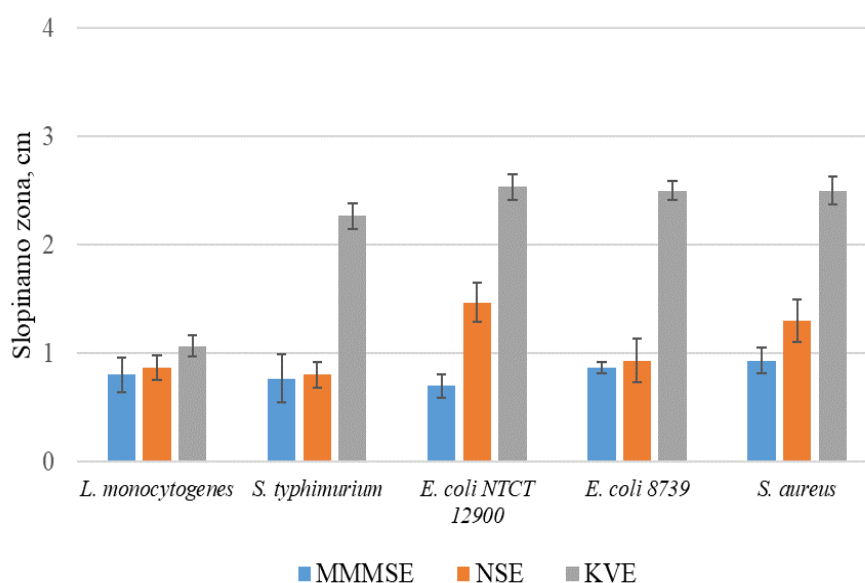
Įvertinus plėvelių chemines, mechanines ir fizikines savybes, galima teigti, kad palankiausiomis plėvelių savybėmis (elastingumu, drėgmės sugėrimu) pasižymi plėvelės, kuriose alginato:pektino santykis yra 7:3, o glicerolio koncentracija – 1 %. Tad, tolimesniems tyrimams pasirinkta naudoti tik šios sudėties plėveles.

### 3.2. Antimikrobinės savybės

Plėvelių antimikrobinės savybės yra vienas iš pagrindinių faktorių, turinčių įtakos plėvelių panaudojimo galimybėms maisto pramonėje, tad svarbu įvertinti plėvelėse naudojamų ekstraktų antimikrobinį aktyvumą. Šioje dalyje tirtos spanguolių išspaudų ekstrakto (nefrakcionuoto ir mažos molekulinės masės) ir komercinio vynuogių ekstrakto slopinamasis poveikis prieš *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* NTCT 12900, *Escherichia coli* 8739, *Staphylococcus aureus* bakterijas bei įvertintas ekstraktų ir kalcio chlorido poveikis atrinktų plėvelių antimikrobinėms savybėms.

#### 3.2.1. Ekstraktų antimikrobinis aktyvumas

Nefrakcionuoto spanguolių išspaudų ekstrakto (NSE), mažos molekulinės masės spanguolių išspaudų ekstrakto (MMMSE) ir komercinio vynuogių ekstrakto (KVE) slopinimo zonos prieš mikroorganizmų kultūras pateiktos 14 paveiksle.



14 pav. Ekstraktų antimikrobinis aktyvumas

Rezultatai (14 pav.) rodo, kad ekstraktai aktyviausiai slopina *E. coli* NTCT 12900 bakterijas. Didžiausiu antimikrobinio aktyvumu šioms bakterijoms pasižymi komercinis vynuogių ekstraktas ( $2,53 \pm 0,11$  cm), lyginant su nefrakcionuotų spanguolių išspaudų ekstraktu ( $1,47 \pm 0,18$  cm) ir mažos molekulinės masės spanguolių išspaudų ekstraktu ( $0,70 \pm 0,12$  cm). Mažiausiu antimikrobinio aktyvumu ekstraktai pasižymi prieš *L. monocytogenes* bakterijas, kuomet komercinio vynuogių ekstrakto slopinimo zona yra  $1,07 \pm 0,16$  cm, nefrakcionuoto spanguolių išspaudų ekstrakto –  $0,87 \pm 0,11$  cm, o mažos molekulinės masės spanguolių išspaudų ekstrakto –  $0,80 \pm 0,16$  cm.

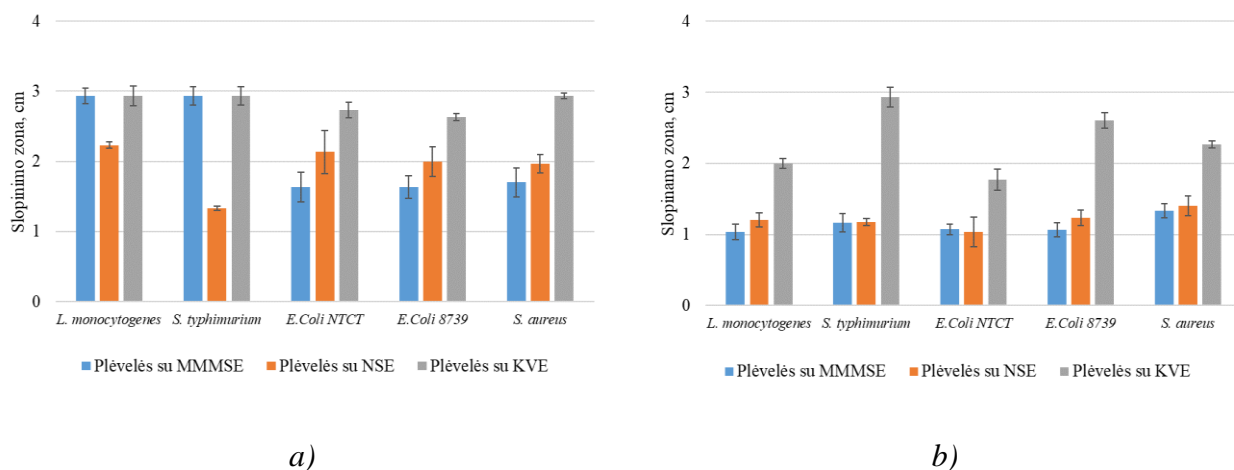
Analogiški rezultatai gauti prieš *S. typhimurium*, *E. coli* 8739 ir *S. aureus* bakterijas, kurie rodo, kad komercinis vynuogių ekstraktas pasižymi didžiausiu antimikrobinium aktyvumu, o spanguolių išspaudų ekstraktams būdingas mažesnis antimikrobinis aktyvumas.

Taip pat, rezultatai rodo, kad skirtingiems spanguolių išspaudų ekstraktams būdingas nevienodas antimikrobinis aktyvumas. Nustatyta, kad NSE pasižymėjo didesniu slopinamuoju poveikiu prieš *L. monocytogenes* ( $0,87 \pm 0,11$  cm), *S. typhimurium* ( $0,80 \pm 0,12$  cm), *E. coli* NTCT 12900 ( $1,47 \pm 0,18$  cm), *E. coli* 8739 ( $0,93 \pm 0,20$  cm) ir *S. aureus* ( $1,30 \pm 0,20$  cm) bakterijas, lyginant su MMMSE, atitinkamai slopinimo zonos  $0,80 \pm 0,16$ ;  $0,77 \pm 0,22$ ;  $0,70 \pm 0,12$ ;  $0,87 \pm 0,05$  ir  $0,93 \pm 0,12$  cm. Gautus rezultatus patvirtina ir ekstraktų slopinimo zonų vizualizacijos pateiktos prieduose (1 priedas). Tam įtakos gali turėti, frakcionavimo metu atskirti didelės molekulinės masės junginiai, kurių kiekis NSE yra didesnis, nei MMSE.

Taigi, didžiausiu antimikrobinium aktyvumu pasižymi komercinis vynuogių ekstraktas, lyginant su nefrakcionuotu spanguolių išspaudų ekstraktu ir mažos molekulinės masės spanguolių ekstraktu, atitinkamai antimikrobinis aktyvumas mažesnis 50,61 ir 62,57 %.

### 3.2.2. Valgomųjų plėvelių su ekstraktais antimikrobinis aktyvumas

Ekstraktų ir kalcio chlorido įtaka atrinktų plėvelių slopinimo zonoms pateikta 15 paveiksle.



15 pav. Ekstraktų įtaka a) netinklėtų b) tinklėtų plėvelių antimikrobiniam aktyvumui

Rezultatai (15 pav.) rodo, kad plėvelių antimikrobiniam aktyvumui įtakos turi tinklinimas kalcio chloridu. Nustatyta, kad plėvelių su KVE, NSE ir MMSE antimikrobinis aktyvumas po plėvelių tinklinimo sumažėjo, atitinkamai 18,35; 37,55 ir 47,66 %. Po tinklinimo, plėvelių su KVE antimikrobinis aktyvumas išliko nepakitęs prieš *S. typhimurium*, o prieš *E. coli* NTCT sumažėjo daugiausiai – 35,36 %. Analogiški rezultatai gauti plėvelių su NSE, kai mažiausias pokytis nustatytas prieš *S. typhimurium*, o didžiausias prieš *E. coli* NTCT, atitinkamai slopinimo zonos sumažėjo 12,25 ir 51,56 %. Skirtinga kalcio chlorido įtaką nustatyta plėvelėms su MMSE, kuomet po tinklinimo, daugiausiai sumažėjo slopinimo zona prieš *L. monocytogenes* (3 kartus), o mažiausiai - prieš *S. aureus* (0,25 karto). Rezultatus patvirtina ir plėvelių slopinimo zonų vizualizacijos pateiktos prieduose (2 priedas).

Vertinant plėvelių slopinimo zonas po tinklinimo (15 pav. b)), nustatyta, kad stipriausiu antimikrobinium aktyvumu pasižymi plėvelės su KVE. Šių plėvelių, didžiausios slopinimo zonos

nustatytos prieš *S. typhimurium* ( $2,93 \pm 0,14$  cm). Spanguolių išspaudų ekstraktai (NSE ir MMMSE) didžiausiu antimikrobiniu aktyvumu pasižymi prieš *S. aureus*, atitinkamai slopinimo zonos  $1,40 \pm 0,14$  ir  $1,33 \pm 0,10$  cm. Nors spanguolių išspaudų ekstraktai pasižymi panašiu antimikrobiniu aktyvumu, tačiau didesnės slopinimo zonos prieš *L. monocytogenes*, *E. coli* 8739 ir *S. aureus* bakterijas nustatytos plėvelių su NSE.

Taigi, įvertinus ekstraktų ir plėvelių antimikrobines savybes, nustatyta, kad didžiausiu antimikrobiniu aktyvumu prieš tirtas mikroorganizmų kultūras pasižymi komercinis vynuogių ekstraktas ir nefrakcionuotas spanguolių ekstraktas, tad tolimesniems plėvelių tyrimams pasirinkta naudoti tik šiuos ekstraktus.

### 3.3. Ekstraktų įtaka plėvelių savybėms

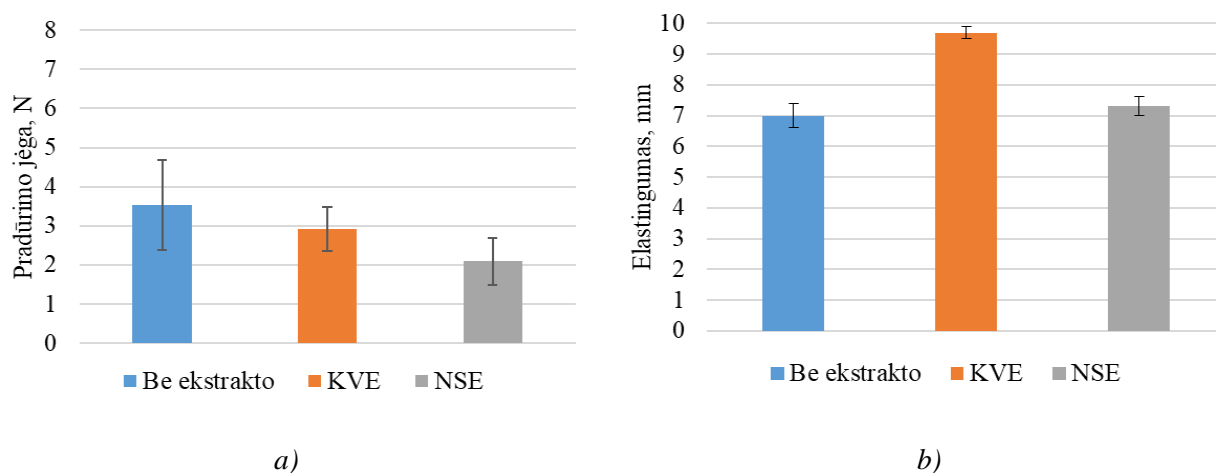
Remiantis moksliniais duomenimis, antimikrobinių priedų įterpimas į valgomasias plėveles gali turėti įtakos plėvelių savybėms [35]. Tad, šioje dalyje tirta ekstraktų įtaka plėvelių cheminėms, mechaninėms ir fizikinėms savybėms.

#### 3.3.1. Ekstraktų įtaka plėvelių cheminėms savybėms

Komercinis vynuogių ekstraktas ir nefrakcionuotas spanguolių išspaudų ekstraktas turi įtaką polisacharidinių tirpalų pH. Ekstraktai mažina (rūgština) tirpalų pH, komercinis vynuogių ekstraktas iki  $3,95 \pm 0,15$  o spanguolių ekstraktas iki  $3,55 \pm 0,18$  lyginant su tirpalų pH be ekstraktų –  $4,64 \pm 0,21$ .

#### 3.3.2. Ekstraktų įtaka plėvelių mechaninėms savybėms

Ekstraktų įtaka valgomųjų plėvelių mechaninėms savybėms pateikta 16 paveiksle.



16 pav. Ekstraktų įtaka plėvelių pradūrimo jėgai a) ir elastingumui b)

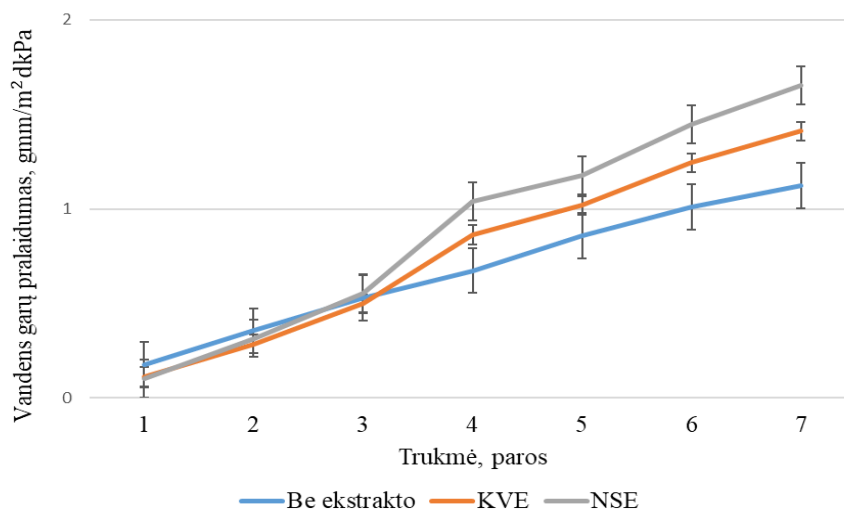
Plėvelių pradūrimo jėgos rezultatai (16 pav. a)) rodo, kad ekstraktai sumažina plėvelių stiprumines savybes. Naudojant komercinį vynuogių ekstraktą (KVE) ir nefrakcionuotą spanguolių išspaudų ekstraktą (NSE), plėvelių pradūrimo jėga atitinkamai sumažėjo iki  $2,92 \pm 0,55$  ir  $2,09 \pm 0,60$  N, lyginant su plėvelėmis be ekstraktų ( $3,54 \pm 1,15$  N).

Plėvelių elastingumo rezultatai (16 pav. b)) rodo, kad ekstraktai padidina plėvelių elastingumą. Nustatyta, kad plėvelių su KVE elastingumas padidėjo 38,57 %, o su NSE – 4,10 %, lyginant su plėvelėmis be ekstraktų. Tai galima paaiškinti tuo, kad ekstraktai veikė, kaip plėvelių plastifikatoriai,

kurie sumažino plėvelių stiprumines savybes, tačiau padidino plėvelių elastingumą [35]. Taigi, galima daryti išvadą, kad palankiausiomis plėvelių mechaninėmis savybėmis pasižymi plėvelės su komerciniu vynuogių ekstraktu.

### 3.3.3. Ekstraktų įtaka plėvelių fizikinėms savybėms

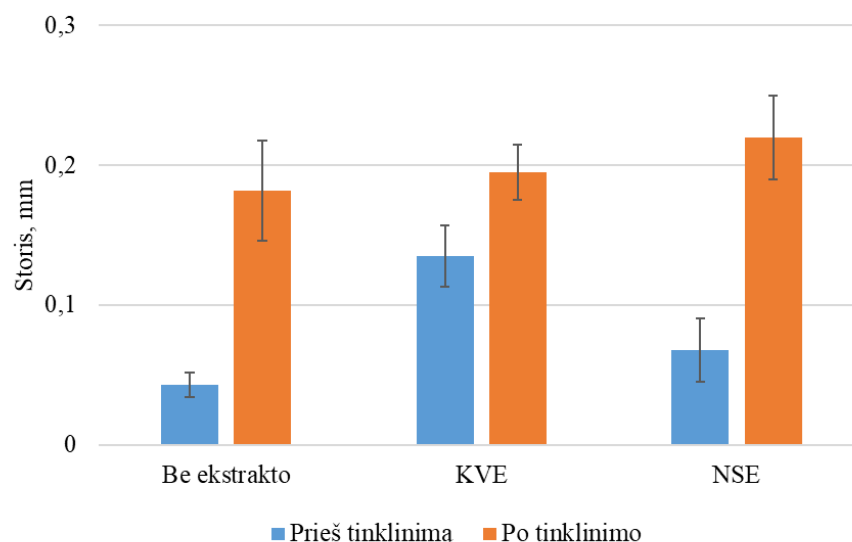
Antimikrobinį priedų įtaka plėvelių vandens garų pralaidumui pateikta 17 paveiksle.



17 pav. Ekstraktų įtaka plėvelių vandens garų pralaidumui

Nors tyrimo pradžioje (po 1–3 parų) visų plėvelių vandens garų pralaidumas rezultatai buvo panašūs, tačiau po 4 parų, nustatyta, kad plėvelėse naudojami ekstraktai padidina plėvelių vandens garų pralaidumą (17 pav.). Ryškiausias skirtumas nustatytas po 7 parų, kai plėvelėse su NSE vandens garų pralaidumas padidėjo 47,74 %, o plėvelėse su KVE – 26,05%, lyginant su plėvelėmis be ekstraktų.

Plėvelių drėgmės barjerines savybes gali lemti plėvelių storis (18 pav.). Nustatyta, kad mažiausiu vandens garų pralaidumu pasižymi plėvelės be ekstrakto ( $1,15 \pm 0,21$  gmm/m<sup>2</sup>dkPa), kurių storis yra mažiausias ( $0,18 \pm 0,02$  mm), o toliau didėjant plėvelių storiui didėja ir vandens garų pralaidumas. Plėvelėse su KVE vandens garų pralaidumas yra  $1,41 \pm 0,12$  gmm/m<sup>2</sup> dkPa, storis –  $0,19 \pm 0,02$  mm, o plėvelėse su NSE atitinkamai  $1,65 \pm 0,18$  gmm/m<sup>2</sup> dkPa ir  $0,22 \pm 0,03$  mm.



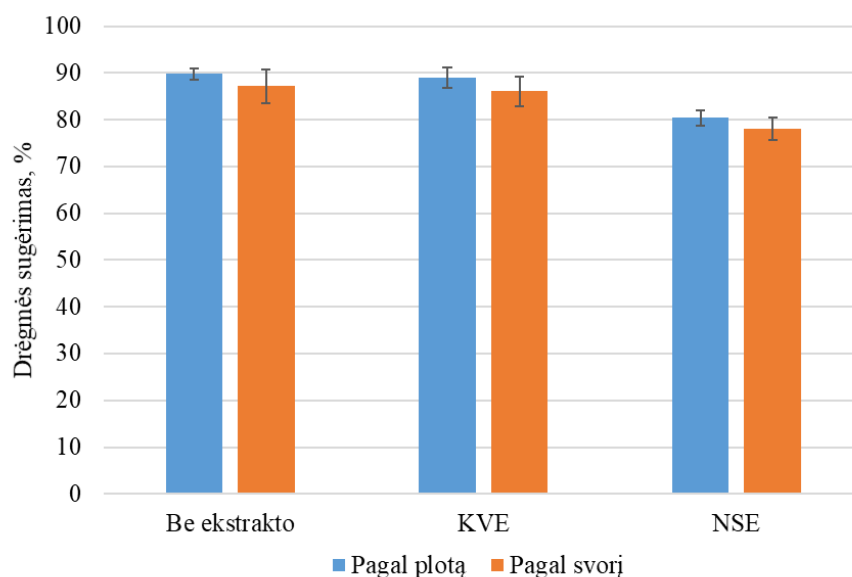
**18 pav.** Ekstraktų ir kalcio chlorido įtaka plėvelių storiui

Plėvelių storiui įtakos turi juose naudojami ekstraktai ir tinklinimas kalciu chloridu. Nustatyta, kad sutinklinus plėveles jų storis padidėjo: be priedo – 4,23 karto, su KVE – 1,44 karto, o su NSE – 3,23 karto. Nors prieš tinklinimą didžiausias plėvelių storis nustatytas plėvelių su KVE ( $0,13 \pm 0,02$  mm), tačiau po tinklinimo didžiausias plėvelių storis nustatytas su NSE ( $0,22 \pm 0,03$  mm). Rezultatus patvirtina ir plėvelių išvaizda (19 pav.).

**3 lentelė.** Kalcio chlorido įtaka vizualioms plėvelių savybėms

	Plėvelės be ekstrakto	Plėvelės su NSE	Plėvelės su KVE
Prieš tinklinimą			
Po tinklinimo			

Be to, ištirta ekstraktų įtaka valgomųjų plėvelių drėgmės sugėrimui (19 pav.).



**19 pav.** Ekstraktų įtaka plėvelių drėgmės sugėrimui

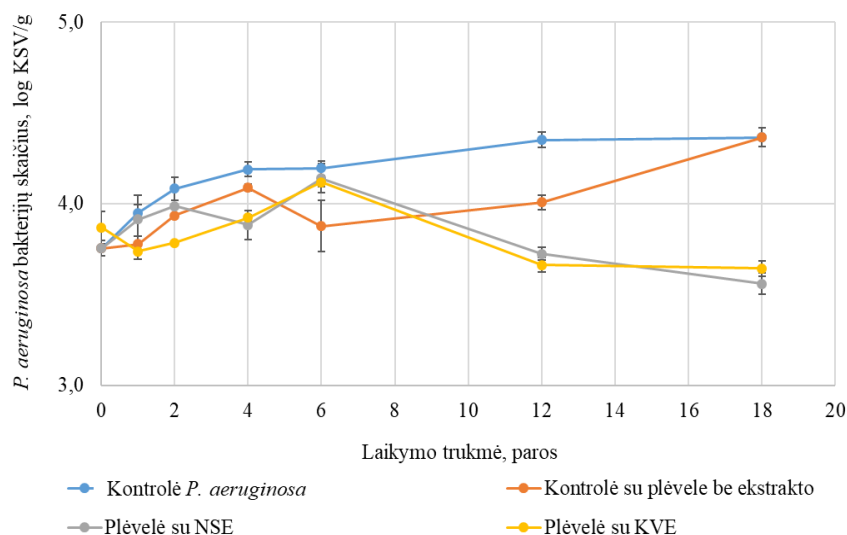
Rezultatai rodo (19 pav.), kad ekstraktai sumažina plėvelių drėgmės sugėrimą. Nustatyta, kad plėvelėse su KVE plėvelių drėgmės sugėrimas (pagal plotą) sumažėjo nežymiai (1,2 %), o plėvelėse su NSE sumažėjimas yra didesnis (10,49 %). Plėvelių drėgmės sugėrimo rezultatus patvirtina ir plėvelių svoris.

Apibendrinus rezultatus, galima teigti, kad ekstraktai sumažina plėvelių pradūrimo jėgą ir drėgmės sugėrimą, tačiau padidina plėvelių elastingumą bei vandens garų pralaidumą. Taigi, plėvelių mechaninių ir fizikinių savybių pokyčiai su ekstraktais yra nereikšminiai lyginant su ekstraktų įtaka plėvelių antimikrobiniam aktyvumui.

### 3.4 Plėvelių įtaka silkės galiojimo trukmei

Remiantis moksliniais duomenimis valgomųjų plėvelių panaudojimo galimybės priklauso nuo plėvelių ir maisto produkto suderinamumo. Tad, šioje dalyje tirta atrinktų plėvelių (alginato:pektino santykis 7:3, glicerolio koncentracija 1 %) su antimikrobiniais priedais (KVE, NSE) įtaka *Listeria monocytogenes* ir *Pseudomonas aeruginosa* bakterijų skaičiui (kolonijas sudarančius vienetus (KSV)/g) bei biogeninių aminių (histamino, kadaverino, putrescino, tiramino, spermino) susidarymui silkės mėginiuose.

Plėvelių ir ekstraktų įtaka *P. aeruginosa* bakterijų skaičiui silkės mėginiuose pateikta 20 paveiksle.



**20 pav.** Plėvelių ir ekstraktų įtaka *P. aeruginosa* bakterijų skaičiui silkės mėginiuose

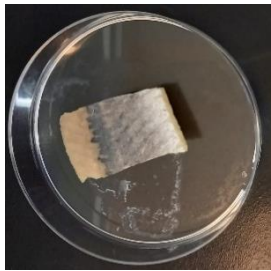
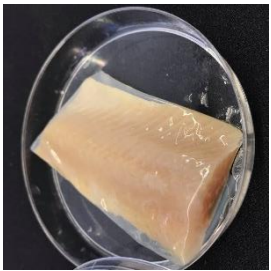
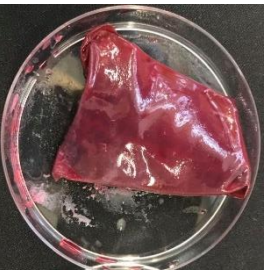
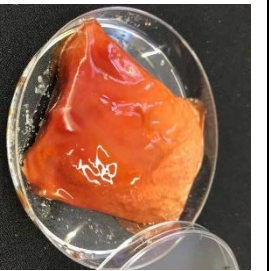
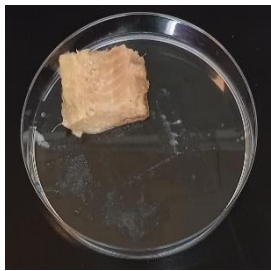

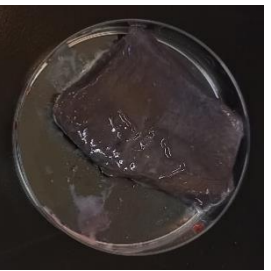
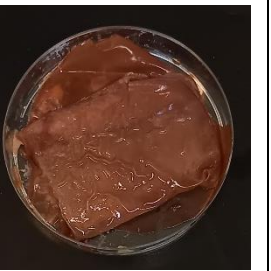
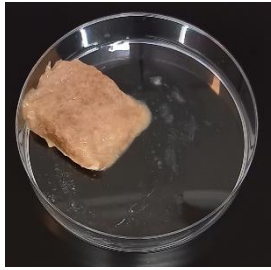


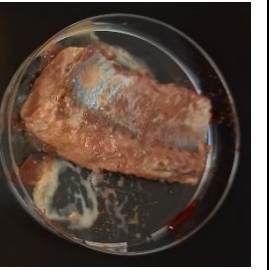
Mikrobiologiniai rezultatai rodo (20 pav.), kad plėvelės ir juose naudojami ekstraktai turi įtakos užkrėstos silkės *P. aeruginosa* bakterijų skaičiui. Tyrimo pradžioje nustatytas panašus *P. aeruginosa* bakterijų skaičius visuose silkės mėginiuose ( $3,78 \pm 0,05$  log KSV/g). Plėvelių ir ekstraktų įtaką *P. aeruginosa* bakterijų skaičiui galima pastebėti po 12 parų, kuomet didžiausias bakterijų skaičius nustatytas silkės mėginiuose be plėvelės ( $4,35 \pm 0,04$  log KSV/g), o mažiausias silkės mėginiuose su plėvelėmis, kuriose naudojami KVE ( $3,66 \pm 0,04$  log KSV/g) ir NSE ( $3,72 \pm 0,03$  log KSV/g).

Analogiški rezultatai gauti po 18 parų, kai didžiausias bakterijų skaičius nustatytas silkės mėginiuose be plėvelės ( $4,36 \pm 0,01$  log KSV/g) ir su plėvele be ekstrakto ( $4,36 \pm 0,05$  log KSV/g). Naudojant plėveles su NSE ir KVE, nustatytas *P. aeruginosa* bakterijų slopinimas, bakterijų skaičius atitinkamai  $3,56 \pm 0,05$  log KSV/g ir  $3,64 \pm 0,06$  log KSV/g. Taigi, stipriausiu slopinamuoju poveikiu prieš *P. aeruginosa* bakterijų augimą ir dauginimąsi pasižymi plėvelės su komerciniu vynuogių ir nfracionuotu spanguolių išspaudų ekstraktais.

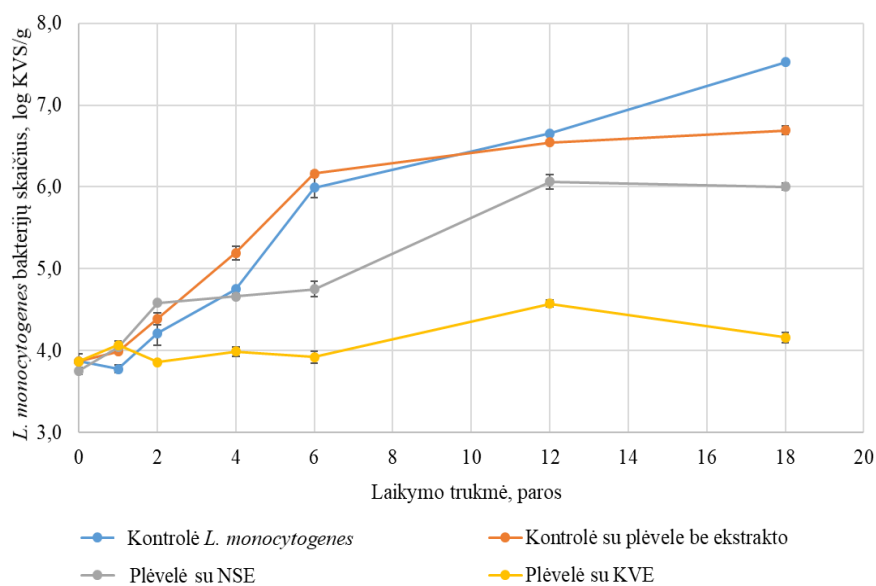
Gautus rezultatus patvirtina ir silkės išvaizdos pokyčiai (4 lentelė). Tyrimo pradžioje visų silkės mėginių paviršius yra sausas ir švarus, o raumeninio audinio tekstūra – standi. Po 12 parų, nustatyta, kad silkės mėginiai be plėvių pasižymi tamsesne spalva ir pasikeitusia silkės raumeninio audinio tekstūra, t. y. raumeninis audinys tapo minkštu, o silkės mėginiai su plėvelėmis ir ekstraktais mažiau pakitusia spalva bei standžia raumeninio audinio tekstūra, t. y. raumeninis audinys išliko tvirtas.

Po 18 parų nustatyti ryškesni silkės išvaizdos skirtumai. Nors nuo visų mėginių jaučiamas nemalonus kvapas, tačiau silkės mėginiai be plėvelės ir su plėvele be ekstrakto pasižymi lipnesniu paviršiumi bei dar labiau pakitusia spalva, lyginant su silkės mėginiais, kuriose naudotos plėvelės su ekstraktais. Taigi, plėvelės su KVE ir NSE priedais sumažina silkės mėginių paviršiaus lipnumą bei padeda išlaikyti silkės raumenų tekstūrą.

**4 lentelė.** Plėvelių ir ekstraktų įtaka vizualiems silkės, užkrėstos *P. aeruginosa*, pokyčiams

	Kontrolė <i>P. aeruginosa</i>	Kontrolė su plėvele be ekstrakto	Plėvelė su NSE	Plėvelė su KVE
0 parų				
12 parų				
18 parų				

Taip pat, ištirta plėvelių ir ekstraktų įtaka *L. monocytogenes* bakterijų skaičiui silkės mėginiuose (21 pav.).



**21 pav.** Plėvelių ir ekstraktų įtaka *L. monocytogenes* bakterijų skaičiui silkės mėginiuose

Rezultatai rodo (21 pav.), kad plėvelės su ekstraktais turi įtakos *L. monocytogenes* bakterijų skaičiui silkės mėginiuose. Tyrimo pradžioje, visuose silkės mėginiuose *L. monocytogenes* bakterijų skaičius

yra panašus ( $3,84 \pm 0,05 \log \text{ KSV/g}$ ). Po 6 parų, nustatyta plėvelių su ekstraktais įtaka *L. monocytogenes* bakterijų skaičiui, kuomet didžiausias jų skaičius nustatytas silkės mėginiuose su plėvele be ekstrakto, o beveik du kartus mažesnis mėginiuose su plėvele, kurioje naudotas KVE. Analogiški rezultatai gauti po 12 parų.

Ryškiausi pokyčiai silkės mėginiuose nustatyti po 18 parų, kai silkėje su plėvele be ekstraktų *L. monocytogenes* bakterijų skaičius sumažėjo iki  $6,69 \pm 0,05 \log \text{ KSV/g}$ , naudojant plėveles su NSE iki  $6,0 \pm 0,04 \log \text{ KSV/g}$ , o naudojant plėveles su KVE iki  $4,16 \pm 0,06 \log \text{ KSV/g}$ , lyginant su silkės mėginiais be plėvelės ( $7,52 \pm 0,02 \log \text{ KSV/g}$ ). Taigi, stipriausiu slopinamuoju poveikiu prieš *L. monocytogenes* bakterijų augimą ir dauginimąsi pasižymi plėvelė su komerciniu vynuogių ekstraktu. Gautus rezultatus patvirtina ir silkės išvaizdos pokyčiai pateikti prieduose (3 priedas).

Skirtingą sumažėjusį *L. monocytogenes* ir *P. aeruginosa* bakterijų skaičių silkės mėginiuose, naudojant plėveles ir ekstraktus, gali lemti, plėvelių polisacharidinių tirpalų pH. Didžiausias *P. aeruginosa* bakterijų skaičius silkėje nustatytas naudojant plėveles be ekstrakto, kurių pH yra didžiausias (4,64), nes tai *P. aeruginosa* bakterijų augimui tinkama terpė (4,5 – 9,5), o naudojant plėveles su NSE ir KVE priedais bakterijų skaičius yra mažesnis, nes tirpalų pH yra netinkamas bakterijų augimui, atitinkamai pH  $3,55 \pm 0,18$  ir  $3,95 \pm 0,21$ .

*L. monocytogenes* bakterijų augimui palanki terpė yra nuo 4,0 iki 9,5 [91], tad didžiausias bakterijų skaičius nustatytas silkės mėginiuose su plėvele be ekstrakto, o mažesnis silkės mėginiuose su plėvelėmis ir ekstraktais. Tačiau sumažėjus tirpalų pH <4 tolimesnio tiesioginio ryšio tarp pH ir bakterijų skaičiaus nenustatyta. Taigi, plėvelių polisacharidinių tirpalų pH gali turėti įtakos *L. monocytogenes* ir *P. aeruginosa* bakterijų skaičiui.

Taip pat, nustatyta, kad tie patys ekstraktai nevienodai sumažina *P. aeruginosa* ir *L. monocytogenes* bakterijų skaičių. Plėvelės su NSE ir KVE beveik 3 kartus veiksmingiau sumažina *L. monocytogenes* bakterijų skaičių, lyginant su *P. aeruginosa*. Tai gali lemti, tai kad tirtos skirtingų rūšių bakterijos: *P. aeruginosa* yra gramneigiamos, o *L. monocytogenes* – gramteigiamos. Dauguma tyrimų parodė didesnę antimikrobinį ekstraktų veiksmingumą prieš gramteigiamas bakterijas, nei gramneigiamas. Taip yra dėl ląstelės sienelės lipopolisacharidų arba gramneigiamų bakterijų išorinių membranų apsaugos, kurie galėtų slopinti ekstraktų difuziją į ląstelę ir taip sumažinti antimikrobinį medžiagų poveikį bakterijoms [35].

Apibendrinant mikrobiologinius rezultatus, galima daryti išvadą, kad plėvelės su komerciniu vynuogių ir nefrakcionuotu spanguolių išspaudų ekstraktu, gali pailginti silkės galiojimo trukmę, slopindamos bakterijų dauginimąsi ir sumažindamos jų skaičių. Stipriausiu slopinamuoju poveikiu *P. aeruginosa* ir *L. monocytogenes* bakterijoms pasižymėjo plėvelė su komerciniu vynuogių ekstraktu.

Dėl *P. aeruginosa* ir *L. monocytogenes* bakterijų vykdomo metabolizmo silkėse gali susidaryti biogeniniai aminai. *P. aeruginosa* biogeninių aminių susidarymas silkėje pateiktas 5 lentelėje.

5 lentelė. *P. aeruginosa* bakterijų skaičiaus įtaka biogeninių aminų kiekiui

Biogeniniai aminai	Silkės mėginiai	0 parų	6 parų	12 parų	18 parų
<b>Histaminas</b>	Kontrolė <i>P. aeruginosa</i>	<5	<5	43±1,8	118±1,1
	Kontrolė su plėvele be ekstrakto	<5	<5	93±2,8	53±3,3
	Plėvelė su NSE	<5	19±0,8	38±0,9	20±1,5
	Plėvelė su KVE	<5	<5	9±1,1	31±1,8
<b>Kadaverinas</b>	Kontrolė <i>P. aeruginosa</i>	<5	14±0,8	127±1,5	283±2,9
	Kontrolė su plėvele be ekstrakto	<5	<5	185±1,1	198±1,7
	Plėvelė su NSE	<5	51±1,2	26±1,3	104±0,9
	Plėvelė su KVE	<5	<5	26±0,3	162±2,4
<b>Putricinas</b>	Kontrolė <i>P. aeruginosa</i>	<5	6±0,5	26±1,2	101±1,6
	Kontrolė su plėvele be ekstrakto	<5	10±0,8	26±1,8	87±1,5
	Plėvelė su NSE	<5	7±0,9	24±1,3	15±0,9
	Plėvelė su KVE	<5	8±1,1	20±1,1	57±1,2
<b>Tiraminas</b>	Kontrolė <i>P. aeruginosa</i>	<5	<5	7±0,8	6±0,5
	Kontrolė su plėvele be ekstrakto	<5	<5	23±1,2	28±1,2
	Plėvelė su NSE	<5	<5	17±0,9	48±1,9
	Plėvelė su KVE	<5	<5	7±0,5	53±1,5
<b>Spreminas</b>	Kontrolė <i>P. aeruginosa</i>	<5	<5	<5	<5
	Kontrolė su plėvele be ekstrakto	<5	<5	<5	<5
	Plėvelė su NSE	<5	<5	<5	<5
	Plėvelė su KVE	<5	<5	<5	<5

Biogeninių aminų rezultatai (5 lentelė) rodo, kad *P. aeruginosa* bakterijų skaičius gali turėti įtakos histamino, kadaverino ir putrescino susidarymui. Nors po 1-4 paros biogeninių aminų kiekis silkės mėginiuose nekito (<5 mg/kg), tačiau po 12 parų, didžiausi histamino, kadaverino ir putrescino kiekiai nustatyti silkės mėginiuose su plėvele be ekstrakto (93±2,8; 185±1,1; 26±1,8 mg/kg), o mažiausi šių biogeninių aminų kiekiai gauti silkės mėginiuose su plėvelėmis ir KVE (9±1,1; 26±0,3; 20±1,1). Tai gali lemti *P. aeruginosa* bakterijų skaičius, nes mažiausias jų skaičius nustatytas silkės mėginiuose su plėvele ir KVE (3,66±0,04 log KSV/g).

Po 18 parų gauti rezultatai rodo, kad mėginiuose be plėvelės nustatytas didžiausias *P. aeruginosa* bakterijų skaičius (3,64±0,01 log KSV/g) bei didžiausi histamino, kadaverino ir putrescino kiekiai, atitinkamai 118±1,1; 283±2,9 ir 101±1,6 mg/kg, o mėginiuose su plėvele ir NSE nustatytas mažiausias *P. aeruginosa* bakterijų skaičius (3,56±0,06 log KSV/g) bei mažiausi šių biogeninių aminų kiekiai, atitinkamai 20±1,5; 104±0,9 ir 15±0,9 mg/kg.

Taigi, histamino, kadaverino ir putrescino susidarymui turi įtakos *P. aeruginosa* bakterijų skaičius, kuriam didėjant šių biogeninių aminų susidaro daugiau. Tai galima paaiškinti tuo, kad *P. aeruginosa* bakterijos išskiria fermentus dekarboksilazes, kurios katalizuoja aminų susidarymo reakcijas. Tai patvirtina ir Hao R. ir kitų gauti rezultatai, kurie rodo, kad mažėjant *Pseudomonas sp.* bakterijų skaičiui nuo 7,1±0,05 iki 3,9±0,15 log KSV/g, mažėja kadaverino (nuo 25,36 iki 8,63 mg/kg) ir putrescino (nuo 43,48 iki 10,17 mg/kg) kiekis [66].

Tiramino kiekio priklausomybė tarp *P. aeruginosa* (gramneigiamų) bakterijų kiekio nenustatyta, nes jo susidarymui maisto produktuose reikalingas laisvas tirozinas ir gramteigiami mikroorganizmai, kurie sudaro sąlygas skatinančias dekarboksilazės aktyvumą ir tiramino susidarymą [92].

Taip pat, nustatyta, kad spermino kiekis žuvies laikymo metu nekito (<5 mg/kg). Tai galima paaiškinti tuo, kad sperminas yra putrescino pirmtakas ir į produktą gali patekti tik su nekokybiška žaliava [93]. Taigi, *P. aeruginosa* bakterijų skaičius turi įtakos tik histamino, kadaverino ir putrescino susidarymui.

Taip pat, nustatyta *L. monocytogenes* bakterijų skaičiaus įtaka silkės biogeninių aminų susidarymui pateikta 6 lentelėje.

**6 lentelė.** *L. monocytogenes* bakterijų skaičiaus įtaka biogeninių aminų kiekiui

Biogeniniai aminai	Silkės mėginiai	0 parų	1 paros	2 parų	4 parų	6 parų	12 parų	18 para
<b>Histaminas</b>	Kontrolė <i>L. monocytogenes</i>	<5	<5	<5	<5	<5	69±2,1	47±1,8
	Kontrolė su plėvele be ekstrakto	<5	<5	<5	<5	<5	119±2,4	190±1,2
	Plėvelė su NSE	<5	<5	<5	8±0,9	56±1,1	244±1,5	208±1,2
	Plėvelė su KVE	<5	<5	<5	13±0,5	139±1,2	150±1,3	121±1,1
<b>Kadaverinas</b>	Kontrolė <i>L. monocytogenes</i>	<5	<5	<5	<5	<5	165±2,1	120±1,9
	Kontrolė su plėvele be ekstrakto	<5	<5	<5	<5	<5	126±2,2	259±3,2
	Plėvelė su NSE	<5	<5	<5	21±1,2	46±0,5	148±2,8	382±3,8
	Plėvelė su KVE	<5	24±0,5	12±0,9	82±0,7	110±1,2	134±2,9	218±3,5
<b>Putrescinas</b>	Kontrolė <i>L. monocytogenes</i>	<5	<5	<5	<5	16±1,1	38±2,5	80±2,1
	Kontrolė su plėvele be ekstrakto	<5	<5	<5	<5	<5	29±1,4	200±2,3
	Plėvelė su NSE	<5	<5	<5	<5	<5	11±0,5	58±1,2
	Plėvelė su KVE	<5	<5	<5	<5	<5	33±0,8	26±1,5
<b>Tiraminas</b>	Kontrolė <i>L. monocytogenes</i>	<5	<5	<5	<5	<5	12±0,5	8±1,0
	Kontrolė su plėvele be ekstrakto	<5	<5	<5	<5	<5	19±0,5	26±0,9
	Plėvelė su NSE	<5	<5	<5	<5	7±0,5	45±2,1	104±2,5
	Plėvelė su KVE	<5	6±0,8	7±0,5	11±0,8	28±0,9	60±1,8	101±2,1
<b>Sperminas</b>	Kontrolė <i>L. monocytogenes</i>	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
	Kontrolė su plėvele be ekstrakto	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
	Plėvelė su NSE	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
	Plėvelė su KVE	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5

Rezultatai (6 lentelė) rodo, *L. monocytogenes* bakterijų skaičiaus įtaka histamino, kadaverino, putrescino ir tiramino kiekiui silkės mėginiuose yra skirtinga. Tam įtakos gali turėti, žuvyje nevienodai pasiskirstęs amino rūgščių ir *L. monocytogenes* bakterijų skaičius bei ne vienodu aktyvumu veikiantys mikroorganizmai.

Gauti analogiški, spermino rezultatai, rodo, kad jo kiekis, nepriklausomai nuo *L. monocytogenes* bakterijų skaičiaus silkės mėginiuose nekito ( $< 5$  mg/kg), nes į maisto produktus jis gali patekti tik su žaliava. Tai patvirtina ir kitų mokslininkų gauti rezultatai [93].

Taigi, galima daryti išvadą, kad silkėje dominuojantis aminas yra kadaverinas, kurio visuose silkės mėginiuose yra daugiausia, tačiau nenustatyta tiesioginė priklausomybė tarp mikrobiologinio užterštumo ir biogeninių aminų kiekio kaitos silkėje.

Apibendrinus gautus rezultatus, galima teigti, kad plėvelės su ekstraktais gali būti panaudotos silkės galiojimo trukmei pailginti, nes plėvelės slopina *P. aeruginosa* ir *L. monocytogenes* bakterijų dauginimąsi ir sumažina jų skaičių.

## IŠVADOS

1. Nustatyta, kad didėjant alginato kiekiui bei mažėjant pektino kiekiui nuo 1:0 iki 7:3, didėja plėvelių pradūrimo jėga (nuo  $3,54 \pm 1,15$  iki  $6,17 \pm 1,46$  N), tačiau mažėja plėvelių elastingumas (nuo  $5,0 \pm 0,50$  iki  $7,0 \pm 0,45$  mm), vandens garų pralaidumas (nuo  $1,15 \pm 0,20$  iki  $1,57 \pm 0,07$  gmm/m<sup>2</sup>dkPa) bei drėgmės sugėrimas (nuo  $45,33 \pm 1,70$  iki  $89,79 \pm 1,20$  %), esant pastoviai glicerolio koncentracijai (1 %). Įvertinus plėvelių mechanines ir fizikines savybes atrinktos palankiausiomis valgomųjų plėvelių savybėmis pasižyminčios plėvelės, kuriose alginato:pektino santykis 7:3.
2. Ištirta, kad didėjant glicerolio kiekiui nuo 1 iki 5 % mažėja plėvelių pradūrimo jėga (nuo  $3,54 \pm 1,15$  iki  $3,46 \pm 0,63$  N) ir drėgmės sugėrimas (nuo  $89,79 \pm 1,20$  iki  $47,44 \pm 0,10$  %), tačiau didėja plėvelių vandens garų pralaidumas (nuo  $1,57 \pm 0,07$  iki  $3,79 \pm 0,27$  gmm/m<sup>2</sup>dkPa) ir elastingumas (nuo  $7,0 \pm 0,45$  iki  $7,6 \pm 0,30$  mm), esant pastoviam alginato:pektino santykiui (7:3). Įvertinus plėvelių mechanines ir fizikines savybes pasirinkta naudoti 1 % glicerolio koncentraciją.
3. Nustatyta, kad spanguolių išspaudų ekstraktas padidina plėvelių elastingumą (nuo  $7,0 \pm 0,45$  iki  $7,3 \pm 0,31$  mm) ir vandens garų pralaidumą (nuo  $1,15 \pm 0,20$  iki  $1,65 \pm 0,18$  mm/m<sup>2</sup>dkPa), tačiau sumažina plėvelių pradūrimo jėgą (nuo  $3,54 \pm 1,15$  iki  $2,09 \pm 0,60$  N), drėgmės sugėrimą (nuo  $89,79 \pm 1,20$  iki  $80,37 \pm 1,60$  %).
4. Ištirta, kad skirtingiems spanguolių išspaudų ekstraktams būdingas nevienodas antimikrobinis aktyvumas. Stipresnėmis antimikrobinėmis savybėmis pasižymi nefrakcionuotas spanguolių išspaudų ekstraktas prieš *L. monocytogenes*, *S. typhimurium*, *E. coli* NTCT 12900, *E. coli* 8739 ir *S. aureus* bakterijas, lyginant su mažos molekulinės masės spanguolių išspaudų ekstraktu. Įterpus spanguolių ekstraktus į plėveles ir jas sutinklinus, nustatyta, kad plėvelės su NSE ir MMMSE didžiausiu antimikrobinio aktyvumu pasižymi prieš *S. aureus*, atitinkamai slopinimo zonos  $1,40 \pm 0,14$  ir  $1,33 \pm 0,10$  cm. Taip pat, prieš kitas mikroorganizmų kultūras spanguolių ekstraktai pasižymi panašiu antimikrobinio aktyvumu, tačiau didesnės slopinimo zonos prieš *L. monocytogenes*, *E. coli* 8739 ir *S. aureus* bakterijas nustatytos plėvelių su NSE.
5. Nustatyta, kad plėvelės su komerciniu vynuogių ir nefrakcionuotu spanguolių išspaudų ekstraktais gali pailginti silkės galiojimo trukmę, slopinamos *P. aeruginosa* ir *L. monocytogenes* bakterijų dauginimąsi ir sumažindamos jų skaičių. Po 18 parų, didžiausiu slopinamuoju poveikiu prieš *P. aeruginosa* pasižymi plėvelės su NSE, o didžiausiu slopinamuoju poveikiu prieš *L. monocytogenes* – plėvelės su KVE. *P. aeruginosa* bakterijų kiekis turi įtakos kadaverino, histamino ir putrescino susidarymui. Kuomet silkės mėginiuose nustatytas didžiausias *P. aeruginosa* bakterijų skaičius ( $7,52 \pm 0,02$  log KSV/g) kadaverino, histamino ir putrescino kiekiai, taip pat, yra didžiausi, atitinkamai  $283 \pm 2,9$ ;  $118 \pm 1,1$  ir  $101 \pm 1,6$  mg/kg, o mažiausiu bakterijų skaičiumi pasižymintys silkės mėginiai ( $4,16 \pm 0,06$  log KSV/g), taip pat, turi ir mažiausią biogeninių aminų kiekį, atitinkamai  $162 \pm 2,4$ ;  $31 \pm 1,8$  ir  $57 \pm 1,2$  mg/kg. Tačiau, tarp *L. monocytogenes* bakterijų skaičiaus ir biogeninių aminų kiekio kaitos silkėje tiesioginė priklausomybė nenustatyta.

## LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. PARREIDT, T. S., K. MÜLLER ir M. SCHMID. Alginate-Based Edible Films and Coatings for Food Packaging Applications. *Foods* [interaktyvus]. 2018, 7 (10), 170 [žiūrėta 2019-12-09]. Prieiga per: <https://doi.org/10.3390/foods7100170>.
2. DHANAPAL, A. ir kiti. Edible films from Polysaccharides. *Food Science and Quality Management* [interaktyvus]. 2012, 3 [žiūrėta 2019-30-11]. ISSN 2225-0557.
3. SHIT, S. C. ir P. M., SHAH. Edible Polymers: Challenges and Opportunities. *Journal of Polymers* [interaktyvus]. 2014 [žiūrėta 2020-05-10]. Prieiga per: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/427259>.
4. ERKMEN, O. ir A. O., BARAZI. General Characteristics of Edible Films. *Journal of Food Biotechnology Research* [interaktyvus]. Turkey, 2018, 2 [žiūrėta 2019-12-09]. Prieiga per: <http://www.imedpub.com/articles/general-characteristics-of-edible-films.php?aid=22339>.
5. HAN, H. J. Chapter 9 - Edible Films and Coatings: A Review. *Innovations in Food Packaging (Second Edition)* [interaktyvus]. USA, 2014, p. 213-255 [žiūrėta 2019-12-01]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394601-0.00009-6>.
6. DEHGHANI, S., S. V., HOSSEINI ir J. M., REGENSTEINC. Edible films and coatings in seafood preservation: A review. *Food Chemistry* [interaktyvus]. 2018, 240 (1), p. 505-513 [žiūrėta 2019-12-09]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.034>.
7. DUTTA, P. K. ir kiti. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry* [interaktyvus]. 2009, 114 (4), p. 1173-1182 [žiūrėta 2019-12-17]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.047>.
8. ELSABEE, M. Z. ir E. S., ABDOU. Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering: C* [interaktyvus]. 2013, 33(4), p. 1819-1841 [žiūrėta 2019-12-08]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.01.010>.
9. DICASTILLO, C. L. ir kiti. Antioxidant films based on cross-linked methyl cellulose and native Chilean berry for food packaging applications. *Carbohydrate Polymers* [interaktyvus]. 2016, 136, p. 1052-1060 [žiūrėta 2019-11-29]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.10.013>.
10. DICASTILLO, C. L. ir kiti. Cross-linked methyl cellulose films with murta fruit extract for antioxidant and antimicrobial active food packaging. *Food Hydrocolloids* [interaktyvus]. 2016, 60, p. 335-344 [žiūrėta 2019-11-28]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.03.020>.
11. COSTA, M. J. ir kiti. Physicochemical properties of alginate-based films: Effect of ionic crosslinking and mannuronic and guluronic acid ratio. *Food Hydrocolloids* [interaktyvus]. 2018, 81, 442-448 [žiūrėta 2021-04-01]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.014>.
12. VALDÉS, A. ir kiti. Natural Pectin Polysaccharides as Edible Coatings. *Coatings* [interaktyvus]. 2015, 5(4), 865-886 [žiūrėta 2020-06-03]. Prieiga per: <https://doi.org/10.3390/coatings5040865>.
13. PÉREZESPITIA, P. J. ir kiti. Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. *Food Hydrocolloids* [interaktyvus]. 2014, 35, p. 287-296 [žiūrėta 2019-12-27]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.005>.
14. AHMAD, M. ir kiti. Quality changes of sea bass slices wrapped with gelatin film incorporated with lemongrass essential oil. *International Journal of Food Microbiology* (interaktyvus). 2012, 155, p. 171-178 [žiūrėta 2020-08-03]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.01.027>.
15. LIULIU ir kiti. Composite Films from Pectin and Fish Skin Gelatin or Soybean Flour Protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [interaktyvus]. 2007, 55 (6), p. 2349-2355 [žiūrėta 2019-12-22]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1021/jf062612u>.

16. GOMEZ-ESTACA, J. Ir kiti. Biodegradable gelatin–chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology* [interaktyvus]. 2010, 27 (7), p. 889-896 [žiūrėta 2019-12-01]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.05.012>.
17. MÖLLER, H. ir kiti. Antimicrobial and Physicochemical Properties of Chitosan–HPMC-Based Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [interaktyvus]. 2004, 52 (21), p. 6585-6591 [žiūrėta 2019-12-09]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1021/jf0306690>.
18. BANGYEKAN, C., A., DUANGDAO ir K. SRIKULKIT. Preparation and properties evaluation of chitosan-coated cassava starch films. *Carbohydrate Polymers* [interaktyvus]. 2006, 63 (1, 18), p. 61-71 [žiūrėta 2019-12-23]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.07.032>.
19. SABERI, B. ir kiti. Optimization of physical and optical properties of biodegradable edible films based on pea starch and guar gum. *Industrial Crops and Products* [interaktyvus]. 2016, 86, p. 342-352 [žiūrėta 2019-12-23]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.015>.
20. HASSAN, B. ir kiti. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* [interaktyvus]. 2018, 109 (1), p. 1095-1107 [žiūrėta 2019-12-17]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.097>.
21. SEIXAS, F. L. ir kiti. Biofilms Composed of Alginate and Pectin: Effect of Concentration of Crosslinker and Plasticizer Agents. *Chemical engineering transactions* [interaktyvus]. 2013, 32 [žiūrėta 2021-04-05]. Prieiga per: <https://www.researchgate.net/publication/278113053>.
22. AIDER, M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *LWT - Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2010, 43, p. 837-842 [žiūrėta 2020-08-05]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.021>.
23. OLIVAS, I. G. ir V. G., BARBOSA-CÁNOVAS. Alginate–calcium films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. *LWT - Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2008, 41 (2), p. 359-366 [žiūrėta 2019-12-18]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.02.015>.
24. GALUS, S. ir A., LENART. Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin. *Journal of Food Engineering* [interaktyvus]. 2013, 115 (4), p. 459-465 [žiūrėta 2019-12-09]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.03.006>.
25. KOHN, R. Ion binding on polyuronates-alginate and pectin. *Pure and Applied Chemistry* [interaktyvus]. 2009, 42 (3), p. 371–397 [žiūrėta 2019-12-23]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1351/pac197542030371>.
26. LEE, Y. K. ir D. J. MOONEY. Alginate: properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science* [interaktyvus]. 2012, 37(1), p.106–126 [žiūrėta 2019-12-18]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003>.
27. Food and Drug Administration. Direct Food Substances Affirmed as Generally Recognized as Safe. Available. *Code for Federal Regulations* [interaktyvus]. 2020, 21, 184 [žiūrėta 2019-08-01]. Prieiga per: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=184.1724>.
28. PARK, S. ir Y., ZHOA. Development and Characterization of Edible Films from Cranberry Pomace Extracts. *Journal of food science* [interaktyvus]. 2006, 95 [žiūrėta 2021-05-01]. Prieiga per: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2621.2006.tb08902.x>.
29. RAO, M. S. ir kiti. Chitosan and guar gum composite films: Preparation, physical, mechanical and antimicrobial properties. *Carbohydrate Polymers* [interaktyvus]. 2010, 82 (4) p. 1243-1247 [žiūrėta 2019-12-17]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.06.058>.

30. VIEIRA, M. G. A. ir kiti. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *European Polymer Journal* [interaktyvus]. 2011, 47, 3. [žiūrėta 2021-03-31]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2010.12.011>.
31. SILVA, M. A. ir kiti. Alginate and pectin composite films crosslinked with  $Ca^{2+}$  ions: Effect of the plasticizer concentration. *Carbohydrate Polymers* [interaktyvus]. 2009, 77, p. 736-742 [žiūrėta 2020-05-08]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.02.014>.
32. KHAIRUNNISA, S. ir kiti. The effect of glycerol concentration as a plasticizer on edible films made from alginate towards its physical characteristic. *World Science News – An International Scientific Journal* [interaktyvus]. 2018, 112, 130-141 [žiūrėta 2020-05-03]. Prieiga per: <http://www.worldscientificnews.com/wp-content/uploads/2018/09/WSN-112-2018-130-141-2.pdf>.
33. FANG, Y. ir kiti. Binding behavior of calcium to polyuronates: Comparison of pectin with alginate. *Carbohydrate Polymers* [interaktyvus]. 2008, 72 (2), 334-341 [žiūrėta 2021-04-01]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.08.021>.
34. PAVLATH, A. E. ir kiti. Ionomeric Films of Alginic Acid. *Journal of Food Science* [interaktyvus]. 1999, 64 [žiūrėta 2020-05-10]. Prieiga per: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2621.1999.tb09861.x>.
35. RAWDKUEN, S. Edible Films Incorporated with Active Compounds: Their Properties and Application. *Antimicrobial Food Packaging* [interaktyvus]. 2018 [žiūrėta 2021-05-01]. DOI: 10.5772/intechopen.80707.
36. TAKÓ, M. Plant Phenolics and Phenolic-Enriched Extracts as Antimicrobial Agents against Food-Contaminating Microorganisms. *Antioxidants* [interaktyvus]. 2020, 18 [žiūrėta 2021-05-02]. DOI: 10.3390/antiox9020165.
37. MAIZURA, M. ir kiti. Antibacterial Activity and Mechanical Properties of Partially Hydrolyzed Sago Starch–Alginate Edible Film Containing Lemongrass Oil. *Journal of Food Science* [interaktyvus]. 2007, 72 (6), p. C324-C330 [žiūrėta 2019-12-02]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00427.x>.
38. JALALI, N., P., ARIIAI ir E., FATTAHI. Effect of alginate/carboxyl methyl cellulose composite coating incorporated with clove essential oil on the quality of silver carp fillet and *Escherichia coli O157:H7* inhibition during refrigerated storage. *Journal of Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2015, 53, p. 757-765 [žiūrėta 2019-12-18]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2060-4>.
39. LU, F. ir kiti. Cinnamon and nisin in alginatecalcium coating maintain quality of freshnorthern snakeheadfishfillets. *LWT - Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2010, 43, 1331-135 [žiūrėta 2020-08-01]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.003>.
40. ASIK, E. ir kiti. Effects of chitosan coatings incorporated withgarlic oil on quality characteristics of shrimp. *Journal of Food Quality* [interaktyvus]. 2014, 37, 237-246 [žiūrėta 2020-08-30]. ISSN 1745-4557.
41. HEYDARI, R., S., BAVANDI ir S. R., JAVADIAN. Effect of sodium alginate coating enriched with horsemint (*Mentha longifolia*) essential oil on the quality of bighead carp fillets during storage at 4°C. *Food science and Nutrition* [interaktyvus]. 2015, 3(3), p. 188-194 [žiūrėta 2019-12-19]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1002/fsn3.202>.
42. GENOWSKY, E. ir kiti. Assessment of antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with maqui berry (*Aristotelia chilensis*). *LWT –Food Science and Tehnology*

- [interaktyvus]. 2015, 64 (2), p. 1057-1062 [žiūrėta 2019-11-29]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.026>.
43. SIVAROUBAN, T., N. S., HETTIARACHCHY ir M. G., JOHNSON. Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films. *Food Research International* [interaktyvus]. 2008, 41, 781-785 [žiūrėta 2021-03-27]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.04.007>.
  44. COTE, J. ir kiti. Bioactive Compounds in Cranberries and their Biological Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [interaktyvus]. 2010, 50, 666-679 [žiūrėta 2021-03-27]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1080/10408390903044107>.
  45. KOUR, K., P., BAKSHI ir R. M., SHARMA. Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait. L). *Cultivate Minor Temperate Fruit Scientifically* [interaktyvus]. 2019, 128-188 [žiūrėta 2021-04-19]. Prieiga per: [https://www.researchgate.net/publication/331970440\\_Cranberry\\_Vaccinium\\_macrocarpon\\_Ait\\_L](https://www.researchgate.net/publication/331970440_Cranberry_Vaccinium_macrocarpon_Ait_L).
  46. DIARRA, S. M. ir kiti. Antibacterial activities of a polyphenolic-rich extract prepared from American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) fruit pomace against *Listeria spp.* *LWT - Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2020, 123 [žiūrėta 2021-04-26]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109056>.
  47. PUUPPONEN-PIMIÄ R. ir kiti. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology* [interaktyvus]. 2001, 90 (4), p. 494-507 [žiūrėta 2019-11-29] Prieiga per: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01271.x>.
  48. ČESONIENĖ, L., I., JASUTIENĖ ir A., ŠARKINAS. Phenolics and anthocyanins in berries of European cranberry and their antimicrobial activity. *Medicina* [interaktyvus]. 2009, Kaunas, 45 (12), 992 [žiūrėta 2021-03-27]. Prieiga per: <https://doi.org/10.3390/medicina45120127>.
  49. HASSAN, Y. I. ir kiti. Grape Pomace as a Promising Antimicrobial Alternative in Feed: A Critical Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [interaktyvus]. 2019, 67 [žiūrėta 2021-04-04]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b02861>.
  50. BADET, C. Antibacterial Activity of Grape (*Vitis vinifera*, *Vitis rotundifolia*) Seeds. *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention* [interaktyvus]. 2011, 545-552 [žiūrėta 2021-03-28]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375688-6.10065-9>.
  51. BAYDAR, N.G. ir kiti. Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape (*Vitis vinifera* L.) seed extracts. *International Journal of Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2006, 41, 799-804 [žiūrėta 2021-05-06]. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2005.01095.x.
  52. BISHA, B. ir kiti. Antilisterial Effects of Gravinol-S Grape Seed Extract at Low Levels in Aqueous Media and Its Potential Application as a Produce Wash. *Journal of Food Protection* [interaktyvus]. 2010, 73 (2). [žiūrėta 2021-05-01] Prieiga per: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.2.266>.
  53. PARK, S.Y., K. S., MARSH ir J. W., RHIM. Characteristics of Different Molecular Weight Chitosan Films Affected by the Type of Organic Solvents. *Food Engineering and Physical Properties* [interaktyvus]. 2002, 67 (1) p. 194 – 197 [žiūrėta 2019-12-10]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11382.x>.
  54. SOGUT E. ir A. C., SEYDIM. The effects of Chitosan and grape seed extract-based edible films on the quality of vacuum packaged chicken breast fillets. *Food Packaging and Shelf Life*

- [interaktyvus]. 2018, 18, p. 13-20 [žiūrėta 2019-12-10]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.07.006>.
55. FONTES, L. C. B. ir kiti. Biodegradable edible films from Renewable Sources-potential for their application in fried foods. *American Journal of Food Technology* [interaktyvus]. 2011 [žiūrėta 2020-07-01]. ISSN 1557-4571.
  56. SHAHRAMPOUR, D. ir kiti. Development and characterization of alginate/pectin edible films containing *Lactobacillus plantarum* KMC 45. *LWT – Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2020, 118 [žiūrėta 2021-04-05]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108758>.
  57. XU, Y. ir kiti. Tapioca starch active nanocomposite films and their antimicrobial effectiveness on ready-to-eat chicken meat. *Food Packaging and Shelf Life* [interaktyvus]. 2018, 16 [žiūrėta 2021-05-01]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.02.006>.
  58. CAETANO, K.S. ir kiti. Application of active cassava starch films incorporated with oregano essential oil and pumpkin residue extract on ground beef. *Journal of Food Safety* [interaktyvus]. 2018, 37, 4 [žiūrėta 2021-05-01]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1111/jfs.12355>.
  59. ZHANG, H. ir kiti. Antioxidant and antimicrobial effects of edible coating based on chitosan and bamboo vinegar in ready to cook pork chops. *LWT – Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2018, 93, 470-476 [žiūrėta 2021-05-10]. Prieiga: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.005>.
  60. BATAPHO, K., W., BOONSUPHIPAB ir C. RACHTANAPUN. Antimicrobial activity of collagen casing impregnated with nisin against foodborne microorganisms associated with ready-to-eat sausage. *Food control* [interaktyvus]. 2017, 73 [žiūrėta 2021-05-10] 73. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.10.053>.
  61. PAVINATTO, A. ir kiti. Coating with chitosan-based edible films for mechanical/biological protection of strawberries. *International Journal of Biological Macromolecules* [interaktyvus]. 2020, 115, 15 [žiūrėta 2021-04-20] Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.076>.
  62. AMOS, B. Analysis of quality deterioration at critical steps/points in fish handling in uganda and iceland and suggestions for improvement. *The United Nations University* [interaktyvus]. Uganda, 2007 [žiūrėta 2021-04-25]. Prieiga per: <https://www.grocentre.is/static/gro/publication/42/document/amos06prf.pdf>.
  63. BISENIUS, S. ir kiti. Composition of herring and cod fillets from the North and the Baltic Sea – Detecting added water. *Food control* [interaktyvus]. 2020, 107 [žiūrėta 2021-04-25]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106766>.
  64. LEHANE, L. ir O., OLLEY. Histamine fish poisoning revisited. *International Journal of Food Microbiology* [interaktyvus]. 2000, 58, p. 1-37 [žiūrėta 2021-04-25]. Prieiga per: [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00296-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00296-8).
  65. BIJI, K. B. ir kiti. Biogenic amines in seafood: a review. *Journal of Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2016, 53, 2210-2218 [žiūrėta 2021-04-21] DOI: [10.1007/s13197-016-2224-x](https://doi.org/10.1007/s13197-016-2224-x).
  66. HAO, R. ir kiti. Sodium alginate coating with plant extract affected microbial communities, biogenic amine formation and quality properties of abalone (*Haliotis discus hannai Ino*) during chill storage. *LWT – Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2017, 81, p. 1-9 [žiūrėta 2021-05-09]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.031>.
  67. ARIANI, P. ir kiti. Effect of methylcellulose coating enriched with pimperella affinis oil on the quality of silver carp fillet during refrigerator storage condition. *Journal of Food Processing and Preservation* [interaktyvus]. Iran, 2014, 39 [žiūrėta 2021-04-09]. Prieiga per: <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jfpp.12394>.

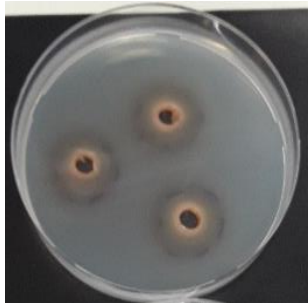
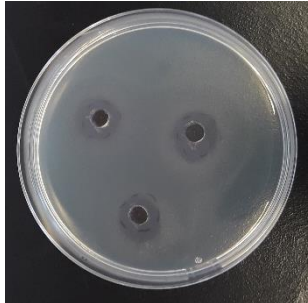
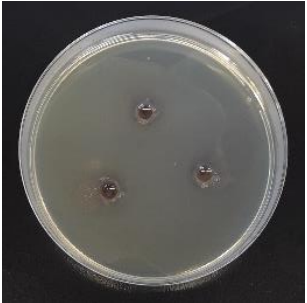

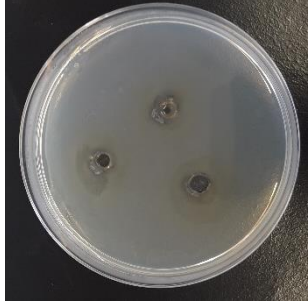


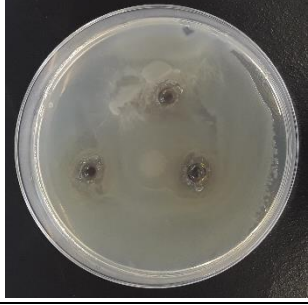
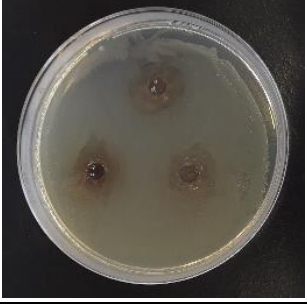


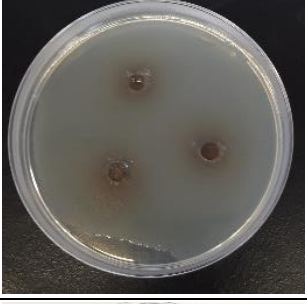
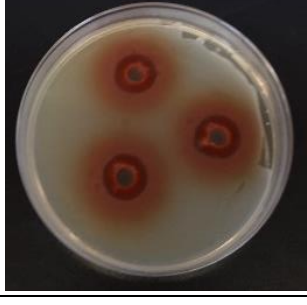
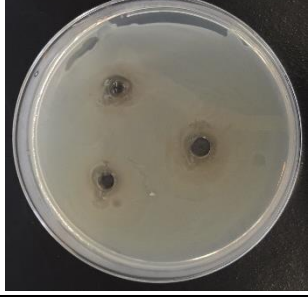

68. REZAEI, F. ir Y., SHAHBAZI. Shelf-life extension and quality attributes of sauced silver carp fillet: A comparison among direct addition, edible coating and biodegradable film. *LWT – Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2018, 87, 122-133 [žiūrėta 2021-04-06]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.068>.
69. ZHANG, L., Y., LUO, S., HU ir H., SHEN. Effects of Chitosan Coatings Enriched with Different Antioxidants on Preservation of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*) During Cold Storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology* [interaktyvus]. China, 2012, 21 (5) [žiūrėta: 2019-11-30]. ISSN: 1049-8850. Prieiga per: <https://doi.org/10.1080/10498850.2011.621047>.
70. FAN, W. ir kiti. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silvercarp during frozen storage. *Food Chemistry* [interaktyvus]. 2009, 115, p. 66-67 [žiūrėta 2020-08-05]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.060>.
71. VOLPE, M. G. ir kiti. Active edible coating effectiveness in shelf-life enhancement of trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *LWT - Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2015, 60, p. 615-622 (žiūrėta 2020-04-07). Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.048>.
72. HAMZEH, A. ir M. REZAEI. The Effects of Sodium Alginate on Quality of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fillets Stored at  $4 \pm 2$  °C. *Journal of Aquatic Food Product Technology* [interaktyvus]. 2012, 21, p. 14-21 [žiūrėta 2019-12-01]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1080/10498850.2011.579384>.
73. RAEISI, M. ir kiti. Effect of carboxymethyl cellulose-based coatings incorporated with *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and grape seed extract on the shelf life of rainbow trout fillets. *LWT - Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2015, 64, 898-904 [žiūrėta 2020-04-07]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.010>.
74. JASOUR, M. S. ir kiti. Chitosan coating incorporated with the lactoperoxidase system: an active edible coating for fish preservation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [interaktyvus]. 2014, 95, 1373-1378 [žiūrėta 2021-04-07]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6838>.
75. LI, T. ir kiti. Quality enhancement in refrigerated red drum (*Sciaenops ocellatus*) fillets using chitosan coatings containing natural preservatives. *Food Chemistry* [interaktyvus]. 2013, 138, 821-826 [žiūrėta 2020-08-01]. Prieiga per: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.092>.
76. QIU, X. ir kiti. Quality enhancement in the Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicas*) fillets stored at 4 °C by chitosan coating incorporated with citric acid or licorice extract. *Food Chemistry* [interaktyvus]. 2014, 162, 156-160 [žiūrėta 2020-08-02]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.037>.
77. NIE, X. ir kiti. Effect of a Sodium Alginate Coating Infused with Tea Polyphenols on the Quality of Fresh Japanese Sea Bass (*Lateolabrax japonicas*) Fillets. *Journal of Food Science* [interaktyvus]. 2018, 83 (6), p. 1695 – 1700 [žiūrėta 2019-12-12]. DOI: 10.1111/1750-3841.14184.
78. GÜNLÜ, A. ir E., KOYUN. Effects of Vacuum Packaging and Wrapping with Chitosan-Based Edible Film on the Extension of the Shelf Life of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Fillets in Cold Storage (4 °C). *Food and Bioprocess Technology* [interaktyvus]. 2013, 6 (7), p. 1713-1719 [žiūrėta 2019-12-09]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0833-6>.
79. CAI, L. ir kiti. Effect of  $\epsilon$ -polylysine in combination with alginate coating treatment on physicochemical and microbial characteristics of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicas*)

- during refrigerated storage. *LWT - Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2015, 62, 1053-1059 [žiūrėta 2020-09-06]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.02.002>.
80. MARTINEZ, O. ir kiti. Quality enhancement of smoked sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets by adding resveratrol and coating with chitosan and alginate edible films. *Food control* [interaktyvus]. 2018, 85, 168-176 [žiūrėta 2021-04-07]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.10.003>.
  81. LU, F. ir kiti. Alginate-calcium coating incorporating nisin and EDTA maintains the quality of fresh northern snakehead (*Channa argus*) fillets stored at 4°C. *Science of Food and Agriculture* [interaktyvus]. 2009, 89, p. 848-854 [žiūrėta 2019-12-18]. DOI 10.1002/jsfa.3523.
  82. JEON, Y. ir kiti. Chitosan as an Edible Invisible Film for Quality Preservation of Herring and Atlantic Cod. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [interaktyvus]. 2002, 50 (18), p. 5167-5178 [žiūrėta 2019-11-30]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1021/jf011693l>.
  83. SONG, Y. ir kiti. Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food Control* [interaktyvus]. 2011, 22 (3-4), p. 608-615 [žiūrėta 2019-12-19]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.10.012>.
  84. SOARES, N. M., T. S., MENDES ir A., VICENTE. Effect of chitosan-based solutions applied as edible coatings and water glazing on frozen salmon preservation – A pilot-scale study. *Journal of Food Engineering* [interaktyvus]. 2013, 119 (2), p. 316-323 [žiūrėta 2019-12-09]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.05.018>.
  85. MOHAN, C.O. ir kiti. Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage. *Food Hydrocolloids* [interaktyvus]. 2012, 26 (1), p. 167-174 [žiūrėta 2019-12-09]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.05.005>.
  86. ASTM E-96-95. An Outline of Standard ASTM E96 for Cup Method Water Vapor Permeability Testing. *Labthink* [interaktyvus]. 1995 [žiūrėta 2020-06-01]. Prieiga per: <http://en.labthink.com/en-us/literatures/an-outline-of-standard-for-cup-method-water-vapor-permeability-testing.html>.
  87. BRIDSON, E. Y. The Oxoid Manual (6th Edition). *OXOID Limited*. England, 1990.
  88. GAIDHANI, K. A. ir kiti. Lyophilization / freeze drying – a review. *World Journal of Pharmaceutical Research* [interaktyvus]. India, 2015, 4, p. 516-543 [žiūrėta 2021-05-05]. ISSN 2277–7105. Prieiga per: [https://www.researchgate.net/publication/292047227\\_LYOPHILIZATION\\_FREEZE\\_DRYING\\_-\\_A\\_REVIEW](https://www.researchgate.net/publication/292047227_LYOPHILIZATION_FREEZE_DRYING_-_A_REVIEW).
  89. SRIAMORNSAK, P. ir R. A., KENNEDY. Swelling and diffusion studies of calcium polysaccharide gels intended for film coating. *International Journal of Pharmaceutics* [interaktyvus]. 2008, 358, p. 205-213 [žiūrėta 2021-05-05]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.03.009>.
  90. CAO, L. ir kiti. Egg-box model-based gelation of alginate and pectin: A review. *Carbohydrate Polymers* [interaktyvus]. 2020, 242 [žiūrėta 2021-05-05]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116389>.
  91. Food and Drug Administration. Bacterial Pathogen Growth and Inactivation [interaktyvus]. [žiūrėta 2021-05-09]. Prieiga per: <https://www.fda.gov/media/80390/download>.

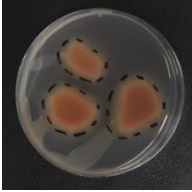


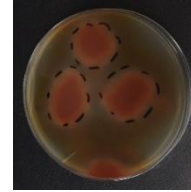

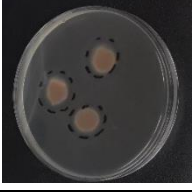


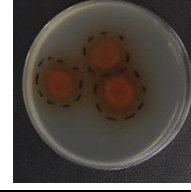
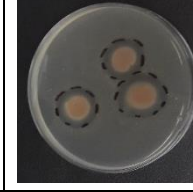
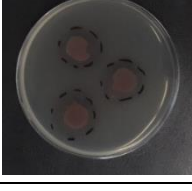



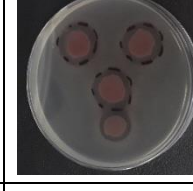
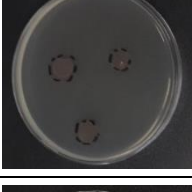



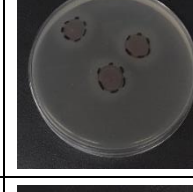
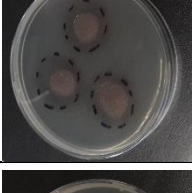



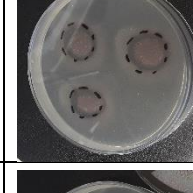
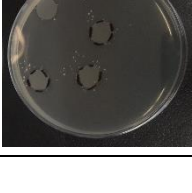




92. MARCOBAL, A. ir kiti. Tyramine and phenylethylamine biosynthesis by food bacteria. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [interaktyvus]. 2012, 52 (5), p. 448-67 [žiūrėta 2021-05-24]. DOI: 10.1080/10408398.2010.500545.
93. HU, Y. ir kiti. Concentrations of biogenic amines in fish, squid and octopus and their changes during storage. *Food Chemistry* [interaktyvus]. 2012, 135, 4 [žiūrėta 2021-05-23]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.121>.

## PRIEDAI

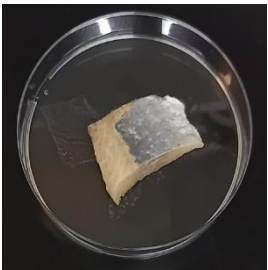
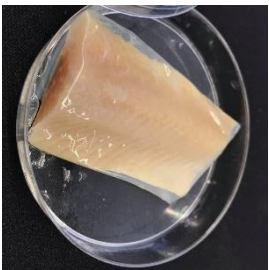
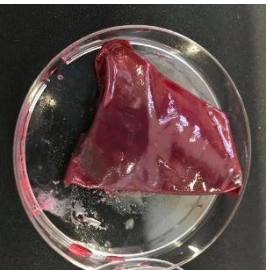
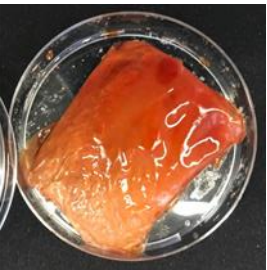

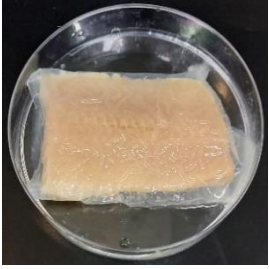

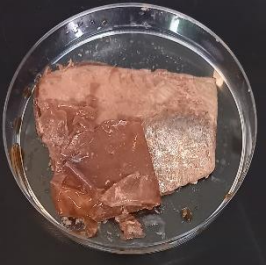
### 1 priedas. Ekstraktų slopinimo zonos

	KVE	MMMSE	NSE
<i>L. monocytogenes</i>			
<i>S. typhimurium</i>			
<i>E. coli</i> NTCT 12900			
<i>E. coli</i> 8739			
<i>S. aureus</i>			

## 2 priedas. Plėvelių su ekstraktais slopinimo zonos

Plėvelės		<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i> NTCT 12900	<i>E. coli</i> 8739	<i>S. aureus</i>
<b>Su KVE</b>	Be CaCl <sub>2</sub>					
	Su CaCl <sub>2</sub>					
<b>Su NSE</b>	Be CaCl <sub>2</sub>					
	Su CaCl <sub>2</sub>					
<b>Su MMS E</b>	Be CaCl <sub>2</sub>					
	Su CaCl <sub>2</sub>					

**3 priedas. Plėvelių ir ekstraktų įtaka vizualiems silkės, užkrėstos *L. monocytogenes*, pokyčiams**

	<b>Kontrolė <i>P. aeruginosa</i></b>	<b>Kontrolė su plėvele be ekstrakto</b>	<b>Kontrolė su NSE</b>	<b>Kontrolė su KVE</b>
Po 1 paros				
Po 6 parų				
Po 18 parų	