



**Kauno technologijos universitetas**

Cheminės technologijos fakultetas

**Chemosensoriaus pluoštinėje matricoje kūrimas maisto  
produktų bakterinio degradavimo dujinių junginių  
identifikavimui**

Baigiamasis magistro projektas

---

**Ingrida Pauliukaitytė**

Projekto autorė

**Prof. Dainius Martuzevičius**

Vadovas

---

**Kaunas, 2021**



**Kauno technologijos universitetas**

Cheminės technologijos fakultetas

**Chemosensoriaus pluoštinėje matricoje kūrimas maisto  
produktų bakterinio degradavimo dujinių junginių  
identifikavimui**

Baigiamasis magistro projektas

(6211FX010)

---

**Ingrida Pauliukaitytė**

Projekto autorė

**Prof. Dainius Martuzevičius**

Vadovas

**Dr. Darius Čiužas**

Recenzentas

---

**Kaunas, 2021**



**Kauno technologijos universitetas**

Cheminės technologijos fakultetas

Ingrida Pauliukaitytė

## **Chemosensoriaus pluoštinėje matricoje kūrimas maisto produktų bakterinio degradavimo dujinių junginių identifikavimui**

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.

Ingrida Pauliukaitytė

*Patvirtinta elektroniniu būdu*

Pauliukaitytė Ingrida. Chemosensoriaus pluoštinėje matricoje kūrimas maisto produktų bakterinio degradavimo dujinių junginių identifikavimui. Magistro baigiamasis projektas / vadovas prof. Dainius Martuzevičius; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

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

Reikšminiai žodžiai: biogeniniai aminai, polianilinas, indikatorius, elektrinis verpimas.

Kaunas, 2021. 65 p.

### **Santrauka**

Biogeninio amino – kadaverino susidarymas yra laikomas vienu iš svarbiausių ženklų, signalizuojančių apie mėsos ar jos produktų gedimą. Nors šiomis dienomis taikomi cheminių tyrimų metodai biogeninių aminų aptikimui yra pažangūs, tačiau jų atlikimas reikalauja didesnių laiko sąnaudų ir resursų. Įvertinus, kad didėjantis gendančioje mėsoje esančių biogeninių aminų kiekis gali indikuoti pavojingus vartotojų sveikatai pokyčius, produkto tinkamumo vartoti testai turi būti atliekami kaip galima greičiau, o geriausia, dar gaminiui esant parduotuvės lentynoje. Todėl, tinkamiausia priemonė patikimiems, greitos analizės testams atlikti, yra pakuotėse integruojamų indikatorių panaudojimas. O šiuo atveju – biogeninį aminą kadaveriną gebančių aptikti chemosensorių pritaikymas.

Šio tiriamojo darbo metu elektrinio verpimo metodu buvo pagamintas polianilino emeraldino druskos – polietilenoksido indikatorius, spalvinių reakcijų metu identifikuojantis biogeninį aminą - kadaveriną, susidarantį mėsos ar jos produktų gedimo metu. Indikatoriaus kūrimui pasirinktas elektrinio verpimo metodas pateisino lūkesčius ir galutinis rezultatas buvo struktūriškai tinkamas ir jautrus tikslinio biogeninio amino aptikimui. Gauto indikatoriaus struktūra įvertinta naudojant skenuojantį elektroninį mikroskopą, o jautrumas spektrofotometrinių ir skaitmeninės vaizdo kolorimterijos metodus.

Pauliukaitytė Ingrida. Development of Fibrous Chemosensor for the Identification of Gaseous Compounds Forming during the Bacterial Degradation of Food Products. Master's Final Degree Project/ supervisor Prof. Dainius Martuzevičius; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

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

Keywords: biogenic amines, polyaniline, sensor, electrospinning.

Kaunas, 2021. 65.

### **Summary**

The formation of biogenic amine - cadaverine in meat products is one of the first signs of food spoilage. Although these days chemical analysis techniques of biogenic amines are advanced and widely developed, they require much time and resources. Considering that the increasing concentration of biogenic amines in perishable meat may indicate threat to the health of consumers, it is important to carry out fast, reliable tests to detect spoiled food products, preferably on the store shelf. Therefore, the most appropriate tool for reliable, rapid analysis is the use of indicators integrated into the package. In this research, the application of chemosensors capable of detecting the biogenic amine cadaverine was accomplished.

In this research Polyaniline Emeraldine Salt and Polyethylene oxide fibre sensor, which is sensitive to cadaverine and capable to detect it in deteriorating meat, was developed. In order to obtain optimal sensory and morphological properties, the electrospinning method was chosen for the synthesis of indicator. The structure of the sensor was evaluated using scanning electron microscope, whereas sensitivity to biogenic amine was assayed using spectrophotodensitometer and digital image colorimetry methods.

## Turinys

<b>Lentelių sąrašas .....</b>	<b>8</b>
<b>Paveikslų sąrašas .....</b>	<b>9</b>
<b>Santrumpų ir terminų sąrašas .....</b>	<b>11</b>
<b>Įvadas.....</b>	<b>13</b>
<b>1. Literatūros apžvalga .....</b>	<b>14</b>
1.1. Neapdorotos mėsos ir mėsos produktų gedimas .....	15
1.1.1. Neapdorotos mėsos ir mėsos produktų tarša mielėmis ir grybais .....	15
1.1.2. Neapdorotos mėsos ir mėsos produktų tarša bakterijomis .....	15
1.1.3. Netinkamos vartoti mėsos ir jos produktų atpažinimas.....	15
1.2. Išmaniosios pakuotės.....	17
1.2.1. Vandenilio sulfido dujų indikatorius mėsos ir jos produktų pakuotėse .....	18
1.2.2. Temperatūros indikatorius mėsos ir jos produktų pakuotėse .....	19
1.2.3. pH indikatoriai mėsos ir jos produktų pakuotėse .....	20
1.2.4. Bendrojo azoto kiekio indikatoriai mėsos ir jos produktų pakuotėse.....	21
1.2.5. Biogeninių aminų indikatoriai mėsos ir jos produktų pakuotėse .....	22
1.3. Elektrinis verpimas.....	23
1.4. Polianilino indikatorius amoniako dujų aptikimui .....	24
1.5. Polianilino indikatorius azoto oksidų nustatymui .....	25
1.6. Polianilino indikatorius sunkiųjų metalų aptikimui .....	25
1.7. Polianilino indikatorius vandenilio sulfido dujų aptikimui .....	26
1.8. Polianilino indikatorius lakiųjų organinių junginių aptikimui .....	27
1.9. Polianilino indikatorius drėgmės nustatymui .....	28
1.10. Literatūros apžvalgos apibendrinimas .....	29
<b>2. Medžiagos ir tyrimų metodai .....</b>	<b>30</b>
2.1. Indikatoriaus sintezė.....	30
2.1.1. Tirpalo paruošimas elektrinio verpimo procesui.....	30
2.1.2. Elektrinis verpimas.....	31
2.2. Indikatoriaus struktūros įvertinimas .....	32
2.3. Indikatoriaus jautrumo tyrimas.....	32
2.3.1. Indikatoriaus jautrumo gynam kadaverino tirpalui tyrimas .....	33
2.3.2. Indikatoriaus jautrumo termiškai neapdorotai mėsai tyrimas .....	34
2.4. Rezultatų analizės metodika .....	35
2.4.1. Spektrofotometrinė analizė.....	35
2.4.2. Skaitmeninio vaizdo analizė.....	36
<b>3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.....</b>	<b>39</b>
3.1. Indikatoriaus morfologinės savybės .....	39
3.2. Indikatoriaus jautrumo gynam kadaverino tirpalui rezultatų analizė.....	42
3.2.1. Vizualusis vertinimas .....	42
3.2.2. Spektrofotometrinės analizės rezultatai.....	43
3.2.3. Skaitmeninio vaizdo kolorimetrinės analizės rezultatai .....	48
3.3. Spektrofotometrinio ir skaitmeninio vaizdo kolorimetrijos metodų palyginimas.....	51
3.4. Indikatoriaus jautrumo termiškai neapdorotai mėsai rezultatų analizė .....	52

3.4.1. Vizualusis vertinimas .....	52
3.4.2. Spektrofotometrinės analizės rezultatai.....	52
3.4.3. Skaitmeninio vaizdo kolorimetrinės analizės rezultatai .....	54
<b>4. Rekomendacijų dalis .....</b>	<b>57</b>
<b>Išvados .....</b>	<b>59</b>
<b>Padėka .....</b>	<b>60</b>
<b>Literatūros sąrašas .....</b>	<b>61</b>

## Lentelių sąrašas

<b>2.1 lentelė.</b> Polianilino emeraldino druskos ir polietilenoksido mišinio elektrinio verpimo sąlygos	32
<b>2.2 lentelė.</b> Kadaverino tirpalo garų koncentracijos.....	34
<b>3.1 lentelė.</b> Rezultatų analizės planas.....	39

## Paveikslų sąrašas

<b>1.1 pav.</b> Pasaulinis mėsos suvartojimas kilogramais, tenkantis vienam žmogui per metus.....	14
<b>1.2 pav.</b> Dekarboksilinimo reakcijos mechanizmas ir biogeninių aminų pavadinimų kilmė .....	16
<b>1.3 pav.</b> Biogeninių aminų susidarymą lemiantys veiksniai .....	17
<b>1.4 pav.</b> <i>OnVu TTI B1</i> indikatorius .....	19
<b>1.5 pav.</b> Dvigubas terpės rūgštingumo indikatorius.....	21
<b>1.6 pav.</b> Elektrinio verpimo veikimo mechanizmas.....	23
<b>1.7 pav.</b> Indikatoriaus spalvos pasikeitimai, sąveikoje su sunkiaisiais metalais.....	26
<b>1.8 pav.</b> Sensoriaus sugerties reikšmės skirtingiems lakiesiems junginiams.....	28
<b>1.9 pav.</b> Indikatoriaus spalvos pokyčiai, didėjant santykiniam drėgmės kiekiui.....	29
<b>2.1 pav.</b> Principinė eksperimento schema .....	30
<b>2.2 pav.</b> Elektrinio verpimo aparato prototipas .....	31
<b>2.3 pav.</b> Polianilino emeraldino druskos deprotonizacijos reakcija.....	33
<b>2.4 pav.</b> Rezultatų analizei naudotas <i>X-RiteColor</i> spektrodensitometras .....	35
<b>2.5 pav.</b> Dviejų spalvų skirtumas CIELAB spalvų erdvėje .....	36
<b>2.6 pav.</b> Tyrimo metu naudota fotostudijos principinė schema .....	36
<b>2.7 pav.</b> Vidutinės vaizdo spalvos nustatymas <i>Adobe Photoshop</i> priemonėmis.....	37
<b>2.8 pav.</b> Pažymėtos spalvinės srities taškų nustatymas <i>Adobe Photoshop</i> programoje .....	38
<b>3.1 pav.</b> Polianilino emeraldino druskos – polietilenoksido indikatoriaus morfologija .....	40
<b>3.2 pav.</b> Gijų diametrų pasiskirstymas intervaluose.....	41
<b>3.3 pav.</b> Statistinis gijų diametrų įvertinimas.....	41
<b>3.4 pav.</b> Indikatoriaus spalviniai pokyčiai esant skirtingoms kadaverino tirpalo koncentracijoms pastoviam laike .....	42
<b>3.5 pav.</b> Indikatoriaus spalvos pokyčiai laike, naudojant 5 M kadaverino tirpalo garus .....	43
<b>3.6 pav.</b> Indikatoriaus spalvos komponentų koncentracijų pokyčiai CMYK spalvų paletėje, per laiko vienetą, sąveikoje su grynu biogeninio amino kadaverino tirpalu .....	43
<b>3.7 pav.</b> Indikatoriaus spalvos skirtumas ( $\Delta E$ ) per laiko vienetą, matuotas su spektrofotodensitometru .....	44
<b>3.8 pav.</b> Indikatoriaus spalvos koordinačių pokyčiai CIELAB spalvų erdvėje laiko atžvilgiu, po sąveikos su 5 M kadaverino tirpalo garais .....	45
<b>3.9 pav.</b> Indikatoriaus spalvos komponentų koncentracijų pokyčiai CMYK spalvų paletėje, kintant gryno biogeninio amino kadaverino tirpalo koncentracijai .....	46
<b>3.10 pav.</b> Indikatoriaus spalvos skirtumas ( $\Delta E$ ) kintant kadaverino koncentracijai, matuotas su spektrofotodensitometru .....	47
<b>3.11 pav.</b> Indikatoriaus spalvos koordinačių pokyčiai CIELAB spalvų erdvėje, po sąveikos su atitinkamos koncentracijos kadaverino tirpalo garais .....	48
<b>3.12 pav.</b> Indikatoriaus spalvos skirtumas ( $\Delta E$ ) kintant kadaverino koncentracijai, matuotas su kompiuterine programa <i>Adobe Photoshop</i> .....	49
<b>3.13 pav.</b> Indikatoriuje vyraujančios spalvos įvertinimas, kintant kadaverino tirpalo koncentracijai .....	49
<b>3.14 pav.</b> Indikatoriaus spalvos skirtumas ( $\Delta E$ ) per laiko vienetą, matuotas su kompiuterine programa <i>Adobe Photoshop</i> .....	50
<b>3.15 pav.</b> Indikatoriuje vyraujančios spalvos įvertinimas, kintant sąveikos kadaverino tirpalo garais laikui.....	51
<b>3.16 pav.</b> Spektrofotometrinių ir skaitmeninio vaizdo kolorimetrijos metodų palyginimas .....	51

<b>3.17 pav.</b> Indikatoriaus spalvos pokyčiai laike, natūraliai susidarius biogeniniam aminui – kadaverinui .....	52
<b>3.18 pav.</b> Indikatoriaus spalvos komponentų koncentracijų pokyčiai CMYK spalvų paletėje, per laiko vieneta, sąveikoje su natūraliai susidaranciais biogeniniais aminais .....	53
<b>3.19 pav.</b> Indikatoriaus spalvos skirtumas ( $\Delta E$ ) per laiko vieneta, sąveikoje su natūraliai susidaranciais biogeniniais aminais, matuotas spektrofotodensitometru .....	53
<b>3.20 pav.</b> Indikatoriaus spalvos koordinacių pokyčiai CIELAB spalvų erdvėje, po sąveikos su natūraliai susidariusiais kadaverino garais .....	54
<b>3.21 pav.</b> Indikatoriaus spalvos skirtumas ( $\Delta E$ ) per laiko vieneta, sąveikoje su natūraliai susidaranciais biogeniniais aminais, matuotas su kompiuterine programa Adobe Photoshop.....	55
<b>3.22 pav.</b> Indikatoriuje vyraujančios spalvos įvertinimas, kintant sąveikos laikui su natūraliai susidariusio kadaverino garais.....	55
<b>4.1 pav.</b> Aparatūrinė polianilino emeraldino druskos – polietilenoksido indikatoriaus gamybos schema .....	58

## Santrumpų ir terminų sąrašas

$a^*$ ,  $b^*$  – spalvos atspalvio koordinatės;

AgNPs – gelano gumos ir sidabro nanodalelių biokompozitas;

Ag<sub>2</sub>S – sidabro sulfidas;

AuS – aukso sulfidas;

Cd – kadmis;

CIELAB – CIE ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) spalvų erdvė;

CMYK – spalvų paletė;

Cr – chromas;

Cu – varis;

DMF – dimetilformamidas;

Hg – gyvsidabris;

H<sub>2</sub>S – vandenilio sulfidas;

LED – šviesos diodas;

$L^*$  – spalvos šviesumo koordinatė;

NH<sub>3</sub> – amoniakas;

NO<sub>2</sub> – azoto dioksidas;

NPTh – nitrintas konjuntuotas polimeras;

PANI – polianilinas;

PANI ES – polianilino emerladino druska;

PS – polistirenas;

PEO – polietilenoksidas;

PVP – polivinilpirolidonas;

PVA – polivinilalkoholis;

PCL – polikaprolaktonas;

Pb – švinas;

pH – terpės rūgštingumas;

P3TI – polianilino – polimerilakrilato nanopluoštas;

RDA – radijo dažnio atpažinimas;

RGB – spalvų paletė;

UV – ultravioletinis;

UV-RŠ – ultravioletinė regimosios šviesos spinduliuotė;

SEM – skleidžiamoji elektroninė mikroskopija;

$\Delta E$  – spalvos skirtumas.

## Įvadas

Chemosensorių pritaikymas maisto produktų šviežumo užtikrinimui šiomis dienomis susilaukia didelio susidomėjimo mokslinėje bendruomenėje. Pagrindiniu chemosensoriaus veikimo principu yra laikoma jų savybė – sudaryti kompleksus su cheminiais junginiais, reaguoti į aplinkos pokyčius ir to pasekoje sugeneruoti specifinį atsaką, padedantį identifikuoti pašalines medžiagas ar kitus pasikeitimus. Specifiniai šalutiniai produktai susidaro ir gendant maisto produktams, todėl įvertinus ekonominį ir žmogaus sveikatingumo požiūrius, paranku chemosensorius panaudoti ir maisto pramonėje.

Pasitelkus naujausias žinias ir sukauptą patirtį, chemosensoriai, kitaip vadinami indikatoriais, gali būti integruoti į produktų pakuotes. Tokiu atveju pakuotė tampa daugiafunkcine ir atlieka ne tik pirminę savo paskirtį – apsaugoti produktą nuo išorės aplinkos poveikio, bet tuo pačiu leidžia vartotojui realiu laiku, plika akimi įvertinti gaminio kokybę bei nuspręsti apie jo tinkamumą vartojimui.

Šiame darbe chemosensorinę funkciją atlikti buvo pasirinktas polimeras polinanilinas, o tiksliau, oksiduotoji jo forma emeraldino druska, spalviškai reaguojanti į mėsos gedimo metu susidarančius biogeninius aminos. Mėsos produktų sektorius pasirinktas dėl gausaus produktų suvartojamumo, resursų produkcijos užauginimui, apdirbimui bei natūraliomis sąlygomis esančio trumpo vartojimo termino. Chemosensoriaus struktūrai sukurti panaudotas elektrinio verpimo metodas. Šio proceso metu, formuojant indikatorinį pluoštą, nėra pažeidžiamas chemosensoriaus funkciją atliksiantis polimeras, o gautas galutinis pluoštas yra tinkamos sudėties, tolygiai ir optimaliai išsidėstęs per visą substrato paviršių. Tokia susintetinta struktūra yra didelio savitojo paviršiaus, mechaniškai patvari, o ateityje gali būti patogiai, be didelių resursų integruota į mėsos gaminio pakuotę. Jau su indikatoriumi esanti išmanioji pakuotė aktuali ne tik mėsos produktų vartotojams ar pirkėjams, bet ir maisto prekių parduotuvių atstovams, siekiant įsitikinti, kad gautas gaminytis yra tinkamos kokybės ir nebuvo pažeistas transportavimo metu.

**Darbo tikslas** – sukurti chemosensorių pluoštinėje matricoje maisto produktų bakterinio degradavimo dujinių junginių identifikavimui.

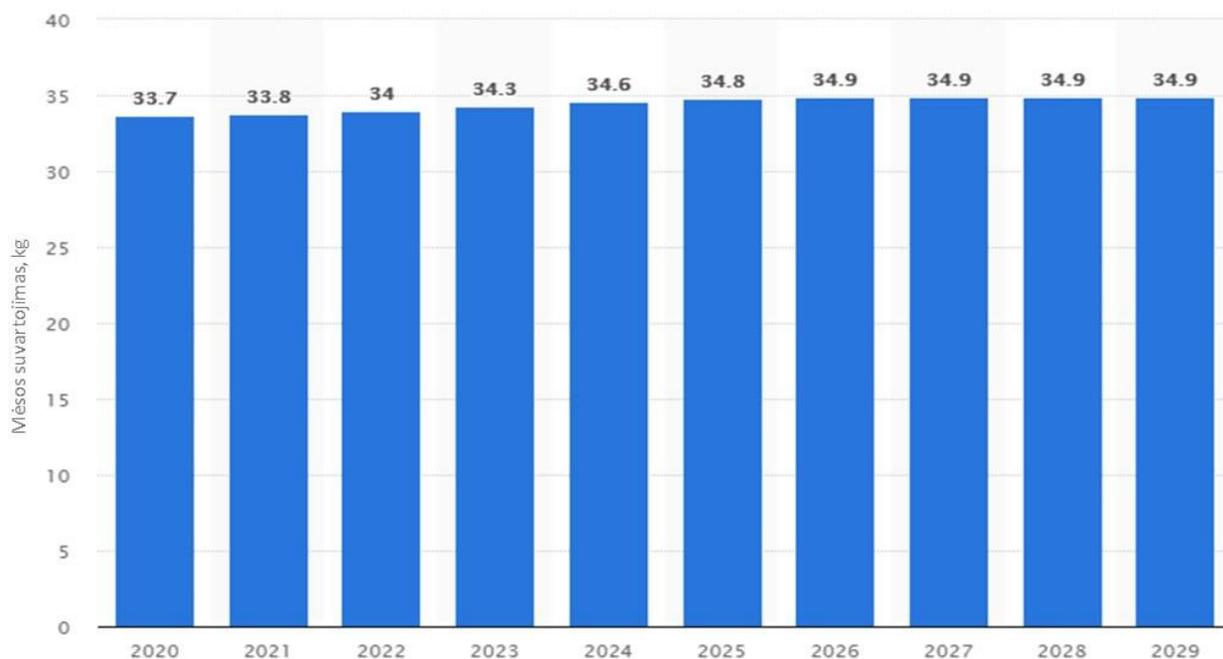
### Darbo uždaviniai:

- elektrinio verpimo metodu pagaminti chemosensorių, jautrų biogeniniam aminui – kadaverinui;
- nustatyti chemosensoriaus jautrumą grynam ir natūraliai vištienos mėsoje susidariusiam biogeniniam aminui – kadaverinui, keičiant tyrimo sąlygas;
- įvertinti chemosensoriaus jautrumą vizualiu, spektrofotometriniu ir skaitmeninio vaizdo kolorimetrijos metodais.

## 1. Literatūros apžvalga

Maisto produktų šviežumo ir tinkamumo vartoti užtikrinimas buvo aktualus nuo seno. Tačiau susidomėjimas ir noras, išlaikyti gaminį kuo ilgiau tinkamą naudoti, o pastebėjus gedimo požymius jį eliminuoti iš produkcijos, atsirado tik pastaraisiais dešimtmečiais. Tam turėjo įtakos geresnės medicinos žinios, išaugusi mitybos specialistų kompetencija bei visoje maisto grandinėje nustatyta didelė problema – maisto švaistymas. Su išmesti tinkamu arba prie artėjančio vartojimo termino pabaigos esančiu maistu šiomis dienomis įpareigotos susidoroti daugelis tarptautinių organizacijų – *Last Minute Market*, *Food Recovery Network*, *Think. Eat. Save*, o nacionaliniu lygmeniu, Lietuvoje – *Maisto bankas*, vietiniai parduotuvių tinklai. Tačiau pirmoji problema, apimanti sugedusio maisto suvartojimą ir jo sukeltas vartotojų sveikatos problemas, esant apsinuodijimui, dažniausiai sprendžiama jau medicinos specialistų. Tokiu būdu vyksta kova su problemos pasekmėmis. O šios gali būti įvairios – nuo lengvesnių skrandžio skausmų, pykinimo, iki rimtesnių – stipraus karščiavimo ar net meningito [1].

Siekiant išspręsti maisto produkto tinkamumo naudoti užtikrinimą ir norint eliminuoti vartotojo apsinuodijimo priežastį, pasitelkiami mokslininkai ir jų žinios, kuriant sugedusio maisto indikatorius ar produktų gedimą stabdančias priemones. Minėtieji indikatoriai ar maistui taip greitai gesti neleidžiantys atradimai, dažniausiai nėra universalūs visoms maisto grupėms, todėl labai svarbu tinkamai paskirstyti maisto produktus. Dažniausiai maisto produktai skirstomi į penkias rūšis: grūdinės kultūros, vaisiai ir daržovės, pieno, mėsos ir žuvies produktai [2]. Apžvelgus statistinius duomenis, šiuo metu pasaulyje suvartojamos mėsos kiekiai nuolat didėja. Remiantis prognozėmis pateiktomis 1.1 paveiksle, mėsos kiekis kilogramais, tenkantis vienam gyventojui per metus, iki 2029 išaugs 1,2 kg. Dėl šios priežasties ir dėl mėsos produktams pagaminti reikalingų resursų, aktualu susitelkti būtent į šios grupės ilgesnio tinkamumo vartoti palaikymą bei išankstinių išpėjimų indikatorių (informuojančių apie vartojimo termino pabaigą) gamybą.



1.1 pav. Pasaulinis mėsos suvartojimas kilogramais, tenkantis vienam žmogui per metus [3]

## 1.1. Neapdorotos mėsos ir mėsos produktų gedimas

Neapdorota mėsa ir mėsos produktai dažniausiai linkę prarasti savo šviežumą ir tampa netinkamais vartoti dėl mikrobiologinių priežasčių, kurios atsiranda dėl nesterilių sąlygų gyvulio skerdimo, mėsos pakavimo metu arba netinkamų laikymo sąlygų. Tokios mikrobiologinės taršos metu atsiranda pašaliniai mikroorganizmai, kurie išskiria toksiškus metabolitus [4]. Minėtieji mikroorganizmai, atsakingi už mėsos gedimą gali būti skirstomi į 2 pagrindines grupes. Pirmoji – mielės ir grybai, o antroji – bakterijos [5].

### 1.1.1. Neapdorotos mėsos ir mėsos produktų tarša mielėmis ir grybais

Nors ši mikroorganizmų grupė nėra pagrindinė, lemianti mėsos ir jos produktų staigų gedimą, tačiau vis tiek priskiriama prie pašalinių mikroorganizmų. Dažniausiai mėsoje nustatoma  $10^2$ – $10^7$  KSV/g. Pagrindinės vyraujančios rūšys - *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula* ir *Debaryomyces*. Svarbiausia šių mikroorganizmų savybė, padedanti įsitvirtinti ir augti mėsos matricoje – atsparumas žemai temperatūrai. Mėsos ir jos produktų stipri tarša fiksuojama mielių ir grybų koncentracijai viršijus  $10^7$  KSV/g. Nors teigiama, jog ši mikroorganizmų grupė retai lemia mėsos netinkamumą vartoti, tačiau yra nustatyta, kad didesnė koncentracija turi didelę įtaką juslinėms mėsos produkto savybėms.

### 1.1.2. Neapdorotos mėsos ir mėsos produktų tarša bakterijomis

Tai dažniausia mikrobiologinę mėsos taršą sukelti mikroorganizmų grupė. Jai priklauso psichotrofinės ir fakultatyviosios anaerobinės bakterijų rūšys: *Enterobacteriaceae*: *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Proteus*, *Serratia*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Providencia* ir *Pseudomonadaceae*. *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas lundensis* ir *Pseudomonas fluorescens*. Šių mikroorganizmų grupių atstovai įvardinami kaip labiausiai pažeidžiantys mėsą ar jos produktus. Psichotrofinės ir fakultatyviosios anaerobinės bakterijos yra ore, vandenyje, o ypač skerdienoje.

Pienarūgštės bakterijos taip pat labai prisideda prie mėsos mikrobiologinės taršos. Didžiausia jų gentis – *Lactobacillus*, kuriai priklauso apie šimtas rūšių bakterijų. Mokslinių tyrimų metu nustatyta, kad *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus algidus*, *Lactobacillus fuchuensis* glaudžiai susijusios su paukštienos produktų gedimu [6]. Viena iš *Lactococcus* rūšių – *L. piscium* nustatyta kaip sukelti sviesto kvapą mėsoje. Taip pat prie pasikeitusių mėsos juslinių savybių prisideda ir *Leuconostoc* gramteigiamų bakterijų gentis, o *Leuconostoc gasicomitatumi* rūšies atstovai, išskiria pavojingus metabolitus ir tokiu būdu sugadina mėsos produktą.

Genties *Brochothrix* dvi rūšys – *B. thermosphacta* ir *Brochothrix campestris* yra nustatytos gendančioje mėsoje [7]. Šios psichotrofinės bakterijų rūšys gali gyvuoti dujinėje aplinkoje, taip pat randamos ore, modifikuotoje atmosferoje, o svarbiausia ant vakuumu supakuotų produktų.

### 1.1.3. Netinkamos vartoti mėsos ir jos produktų atpažinimas

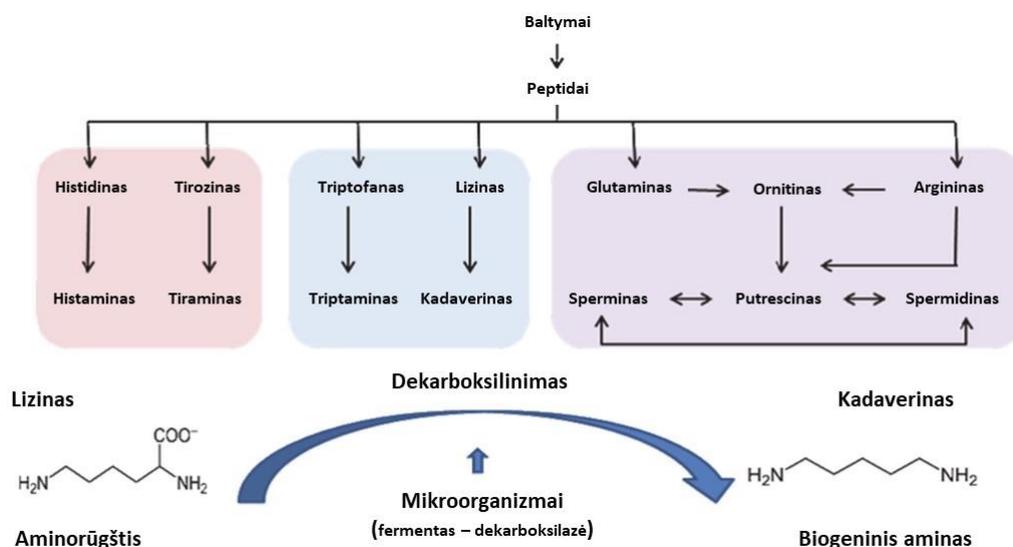
Vienas pirmųjų požymių apie vartojimui nebetinkamą mėsą ar jos produktą – spalvos pokytis. Reikia pabrėžti, kad ne visi mėsos spalvos pokyčiai simbolizuoja mikrobiologinę taršą. Tai gali būti cheminės modifikacijos pasekmė, susijusi su mioglobino pokyčiais mėsoje. Tačiau daugeliu atveju, pastebėjus pakitusią mėsos spalvą, galima įtarti mikroorganismų poveikį. Pavyzdžiui, bakterijų rūšis *P. fluorescens* produkuoja mėlynus, žalius ir geltonus pigmentus. Todėl fiksuojama tokia mėsos kondicija kaip „mėlynoji kiauliena“, „mėlynoji jautiena“.

Kitas mėsos mikrobiologinės taršos ženklas – tekstūros pokyčiai. Šis defektas kaip ir prieš tai minėtasis yra matomas vizualiai. Mikroorganizmai, tokie kaip bakterijos *L. sakei* pasižymi savybe, mėsos paviršiuje palikti gleives. Tokie tekstūros pokyčiai buvo rasti triušių ir kalakutų mėsoje.

Vienas svarbiausių signalų apie mikrobiologiškai užterštą mėsa ar jos produktą – pakitęs skonis ir kvapas. Mikroorganizmų sukeliama žala priklauso nuo jų dauginimosi greičio ir gebėjimo produkuoti metabolitus, kaip substratą naudojant mėsą. Mikroorganizmų išskirti lakieji junginiai (alkoholiai, aldehidai, ketonai, esteriai, sulfatiniai junginiai) ir yra lemiantys pasikeitusį mėsos kvapą, taip pat turintys įtakos ir jos skoniui.

Apie prasidėjusį mėsos gedimą gali įspėti ir pašalinių dujų susidarymas. Net ir vakuumu supakuoti mėsos produktai, laikomi žemose temperatūrose, yra bakterijų taikyns. Mėsos pakavimas su vakuumu yra parankus siekiant atšaldytą mėsos produktą gabenti tolimais atstumais. Tokiu būdu užtikrinamas gaminiui saugus transportavimas ir prailginamas mėsos produktų vartojimo laikas. Tačiau nesilaikant sterilumo reikalavimų pakavimo metu, į vakuumą gali patekti bakterijų, kurios vystosi anaerobinėmis sąlygomis ir išskiria anglies dioksido dujas. Susidarius šioms dujoms prarandamas vakuumo efektas ir mėsa pradeda sparčiai gesti.

Paskutinis ir pats svarbiausias faktorius, signalizuojantis apie mėsos gedimą – biogeninių aminių susidarymas [8]. Biogeniniai aminai yra biologiškai aktyvūs, mažos molekulinės masės organiniai junginiai. Mėsoje jie randami dviejų rūšių: endogeniniai ir egzogeniniai. Endogeniniai aminai yra žinomi kaip neuromediatoriai, yra sintetinami įvairių audinių ir pernešami su krauju. Šie organiniai junginiai atlieka daugelį svarbių fiziologinių funkcijų: augimo, nervinių signalų perdavimo ir kt. Egzogeniniai aminai yra mėsoje esančių amino rūgščių dekarboksilinimo reakcijos, kurią sukelia mikroorganizmų veikla (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Photobacetrium*, *Clostridium*), produktai. Šios reakcijos metu, dalyvaujant tam tikriems fermentams, amino rūgštys praranda  $\alpha$ -karboksilinę grupę (reakcijos mechanizmas pavaizduotas 1.2 paveiksle), o gauti junginiai – biogeniniai aminai – pavadinami pagal pirminę aminorūgštį. Pavyzdžiui, po dekarboksilinimo reakcijos histidinas vadinamas histaminu, triptofanas – triptaminu [9]. Egzogeniniai aminai nustatomi jau netinkamoje vartoti mėsoje. Patys dažniausi biogeniniai aminai, kurie mėsoje ir jos produktuose nepageidaujami - tiraminas, kadaverinas, putrescinas ir histaminas.



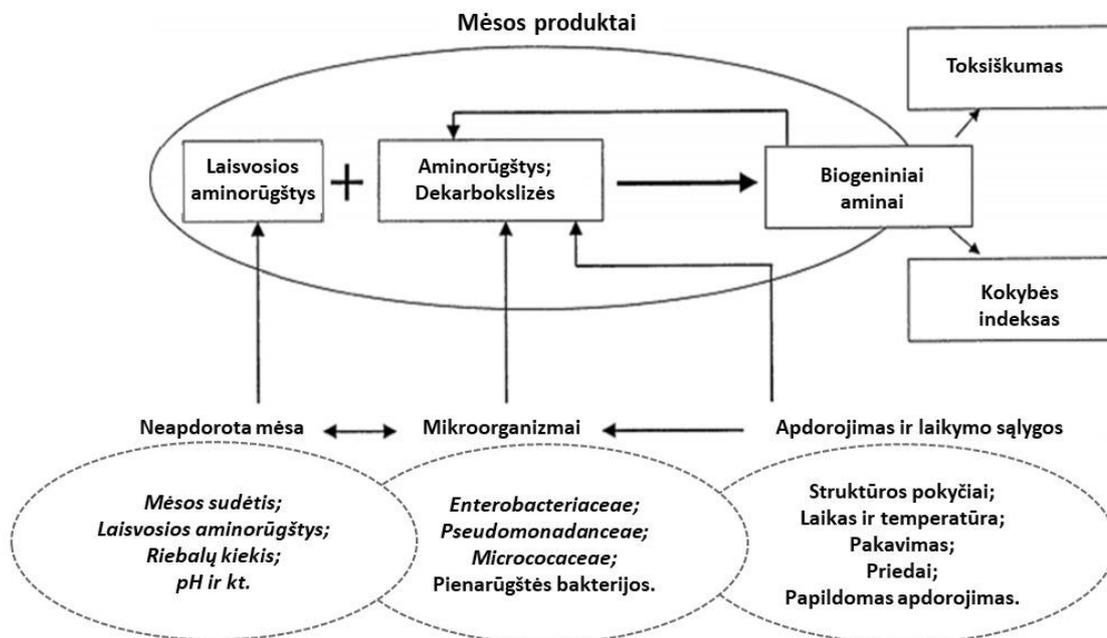
1.2 pav. Dekarboksilinimo reakcijos mechanizmas ir biogeninių aminių pavadinimų kilmė [10]

Pagrindiniai veiksniai, lemiantys biogeninių aminų susidarymą yra:

- laisvųjų amino rūgščių kiekis mėsoje ar jos produkte – ku daugiau laisvųjų aminorūgščių nustatoma mėsoje, tuo daugiau yra substrato dekarboksilinimo reakcijai įvykti;
- pH. Biogeninių aminų susidarymas suintensyvėja esant didesniam matricos rūgštingumui, nes tokia terpė yra tinkamesnė mikroorganizmams augti, taip pat ir fermentų sintezei;
- žaliavos apdorojimo sterilumas ir galutinių produktų laikymo sąlygos. Netinkamos ar nesterilios sąlygos skatina matricos irimo procesus (proteolizę), kurių metu susidaro laisvosios amino rūgštys, reikalingos biogeninių aminų sintezei;
- žaliavos prigimtis. Mokslininkų atliktų tyrimų metu nustatyta, kad skirtingose žaliavose vyrauja skirtingi biogeninių aminų tipai. Pavyzdžiui, histamino ir tiramino mažiau randama grynos kiaulienos produktuose, negu produktuose, kurių sudėtyje yra kiaulienos ir jautienos mėsos mišinys. Grynos jautienos produktuose, daugiau nustatoma putrescino ir kadaverino.

Biogeniniai aminai pavojingi žmogaus organizmui dėl toksinio poveikio ir sąveikos su įvairiais medikamentais. Nors žmogaus organizmas ir geba dalį patekusių biogeninių aminų detoksikuoti, tačiau su maistu patekus didesnėms koncentracijoms, žmogaus metabolinė sistema tampa bejėgė. Biogeninių aminų poveikis kiekvienam organizmui individualus ir priklauso nuo gretutinių ligų bei vartojamų medikamentų. Didesnė žala pastebima virškinimo, kraujotakos ir kvėpavimų ligų turintiems, taip pat ir nuskausminamuosius bei vaistus, nervinės sistemos stiprinimui, vartojantiems asmenims.

Bendroji biogeninių aminų susidarymo ir žalos organizmui schema pavaizduota 1.3 paveiksle.



1.3 pav. Biogeninių aminų susidarymą lemiantys veiksniai [9]

## 1.2. Išmaniosios pakuotės

Sparčiai tobulėjant technologijoms ir nuolat didėjant mokslininkų kompetencijai, mokslinius išradimus galima daugiau pritaikyti praktikoje. Vienas iš tokių pavyzdžių – maisto pramonėje populiarėjančios išmaniosios pakuotės, kurių funkcija – realiu laiku vertinti produkto kokybę, todėl

ar gaminys yra tinkamas vartoti galima nuspręsti šiam dar esant parduotuvės lentynoje. Išmaniosios maisto pakavimo sistemos gali būti suskirstytos į 3 pagrindines technologijas: indikatorius, duomenų pernešėjus ir jutiklius [11]. Indikatoriai reaguoja į susidariusias medžiagas (dujas, organinius junginius), temperatūros pokyčius ir gali vizualiai (pvz. spalvos pokyčiu) pateikti informaciją vartotojui apie produkto kokybę. Duomenų pernešėjų veikimo principas kitoks. Jie skirti gamybos atsekamumui, procesų automatizavimui, prekės informacijos kodavimui. Maisto pramonėje dažniausiai naudojami brūkšniniai kodai (2-D, 3-D), radijo dažnio atpažinimo (RDA) sistemos. Trečioji išmaniojo pakavimo technologija – jutikliai. Jie laikomi didžiausią potencialą turinčiomis sistemomis, galinčiomis reaguoti į išmatuojamą kiekį fizinio ar cheminio signalo. Jutikliai dažniausiai sudaryti iš 4 sudedamųjų dalių: receptoriaus, transdukcijos elemento (fizinį ir cheminį signalą verčiančiu analitiniu signalu), analitinį signalą apdorojančio mechanizmo ir rezultato atvaizdavimo bloko. Sensoriai dažniausiai naudojami redokso potencialui, temperatūrai, pH, šviesos pasikeitimui įvertinti.

Atsižvelgiant į naudojimo sistemos paprastumą, sąlyginai nedidelius įdiegimo kaštus, greitus ir patikimus rezultatus toliau nagrinėjama išmaniojo pakavimo sistema – indikatoriai. O įvertinus gamybos išlaidas, suvartojimo mąstą ir produktų gedimo spartą, apžvelgiamas tokių indikatorių pritaikymas mėsos pramonėje, nes šiuo metu žinomi tradiciniai cheminiai metodai kokybei ir šviežumui nustatyti, reikalauja išsamių laboratorinių tyrimų.

Didžiausių indikatorių grupę sudaro kolorimetriniai indikatoriai, leidžiantys vizualiai įvertinti produkto kokybę pagal spalvos pokyčius realiu laiku. Apie pakuotėje esantį mėsos produktą, prarandantį savo šviežumą, gali signalizuoti ne tik prieš tai minėtų biogeninių aminių, bet ir aldehydų, organinių rūgščių ir sulfidų susidarymas. Todėl svarbu pastovus, realiu laiku vykstantis monitoringas, kurį ir gali užtikrinti indikatoriai [12].

### **1.2.1. Vandenilio sulfido dujų indikatorius mėsos ir jos produktų pakuotėse**

Vandenilio sulfidas ( $H_2S$ ) – dujos, susidarančios mėsos ar jos produktų gedimo metu. Jos susidaro skylant sieros turinčioms amino rūgštims [13]. Mokslininkų susintetintas gelano gumos ir sidabro nanodalelių biokompozitas (AgNPs) yra kolorimetrinis indikatorius, reaguojantis su vandenilio sulfido dujomis ir suformuojantis sidabro sulfido ( $Ag_2S$ ) junginį. Indikatoriaus sintezei buvo naudojama gelano guma, kaip redukuojantis ir dalelių koaguliacija ar agregacija stabdantis agentas, palaikantis gauto kompozito stabilumą. O sidabro nanodalelės, įeinančios į biokompozito sudėtį – skirtos reakcijai su vandenilio sulfidu, sudarant sidabro sulfidą. Reakcijos eksperimentas iš pradžių atliktas susintetinus  $H_2S$  dujas dirbtiniu būdu reakcijoje su druskos rūgštimi ir natrio sulfido. Jos metu surinktos dujos buvo įleistos į mėgintuvėlį su gelano gumos – sidabro nanodalelių biokompozito tirpalu. Reakcija vykdyta vieną valandą. Praėjus laikui stebimas akivaizdus spalvos pokytis iš ryškiai geltonos (AgNPs tirpalo spalva prieš reakciją) į švelniai oranžinę ( $Ag_2S$  tirpalo spalva po reakcijos). Pavykus gauti reikiamus rezultatus, reakcija pakartota su tikros mėsos pavyzdžiais. Gauti rezultatai identiški pirmojo eksperimento rezultatams. Šio tyrimo metu buvo atliekamas dar vienas svarbus eksperimentas – gauto rezultato (spalvos išblukimo) išsilaikymas po tam tikro laiko. Išblukę sidabro sulfido tirpalo mėginiai buvo laikomi 30 dienų 25 °C temperatūroje. Praėjus tyrimo laikui, išblukusi spalva išliko. Todėl daroma išvada, kad gautas  $Ag_2S$  junginys yra stabilus.

Vandenilio sulfido dujos nėra vienintelės, susidarančios mėsos ar jos produktų gedimo metu. Siekiant įvertinti sukurto indikatoriaus selektyvumą  $H_2S$  dujoms, jis išbandytas reakcijomis su kitais

organiniais junginiais: heksanu, heptanu, etilacetatu, dimetilaminu, trimetilaminu, metantoliu. Tyrimo rezultatai buvo vienareikšmiai – intensyvus indikatoriaus spalvos pokytis neužfiksuotas. Todėl galima teigti, kad jis yra selektyvus ir tinkamas vandenilio sulfido dujoms nustatyti.

### 1.2.2. Temperatūros indikatorius mėsos ir jos produktų pakuotėse

Labai svarbus faktorius, leidžiantis išsaugoti mėsos šviežumą ir užtikrinti tinkamumą vartoti – rekomenduojamos temperatūros palaikymas. Jis leidžia užtikrinti mėsos gaminio higieną, išlaikyti maistines ir juslines savybes. Reikiamo temperatūros režimo palaikymui ir pokyčių realiu laiku stebėjimui naudojami spalviniai temperatūros indikatoriai [14]. Labiausiai paplitusios ir plačiausiai išnagrinėtos šiuo metu yra *OnVu* įmonės temperatūros indikatorių sistemos. Ši įmonė jau keliolika metų specializuojasi kuriant inovatyvius produktus, skirtus maisto šviežumo nustatymui nustatyti. Tokių sistemų veikimo mechanizmas paremtas fotochromine reakcija, vykstančia kietoje būsenoje. Po keturių sekundžių poveikio ultravioletine šviesa, 20 °C temperatūroje, ant gaminio pakuotės esantis indikatorius yra suaktyvinamas. Jo veiklioji medžiaga – išmanusis rašalas, kylant temperatūrai keičia spalvą iš tamsiai mėlynos į bespalvę (žr. 1.4 pav.). Apie nebetinkamą vartoti produktą (su pažeistu rekomenduojamu temperatūriniu režimu) sprendžiama gautą indikatoriaus spalvos rezultatą lyginant su etalonu [15].



1.4 pav. *OnVu TTI B1* indikatorius [16]

Eksperimentiniai tyrimai su fotochrominiais indikatoriais atlikti naudojant vištienos filė mėsą. Mėginio kelias nuo skerdyklų iki pakavimo cecho vertinamas nebuvo, priimant, jog rekomenduojamų temperatūrinių sąlygų ir sterilumo buvo laikomasi. Mėsos pakavimo ceche, vištienos filė buvo patalpintos į pakuotes su integruotu indikatoriumi, kuris nedelsiant aktyvuotas (keturiomis sekundėmis UV šviesos, 20 °C temperatūroje). Supakuoti mėginiai sudėti į šaldytuvus ir krovininiais automobiliais išvežti į prekybos centrus (2 maršrutais). Pirmu maršrutu (atstumas 100 km) vykęs krovininis automobilis palaikė 3-10 °C, o antru maršrutu (atstumas 430 km) 3-7 °C temperatūroje. Ideali sąlyga tokios mėsos gabenimui ir ilgesniam laikymui 0-4 °C. Po transportavimo, vištienos mėsos gaminiai nedelsiant iškrauti parduotuvių šaldytuvuose. Toliau artimiausias dvylika dienų kiekvieną dieną matuojant spalvos intensyvumus kolorimetru buvo stebimi ant mėginių pakuotės esančio indikatoriaus spalvos pasikeitimai. Toks matavimo metodas taikomas siekiant gauti skaitines reikšmes, tačiau net ir plika akimi matomi rezultatai buvo akivaizdūs. Konkrečiu atveju pastebėta, jog po keturių dienų 10 °C temperatūroje, indikatoriaus spalva ant vištienos produkto pakuotės tapo beveik bespalvė, o ryškesni spalviniai pokyčiai, bandinius laikant 3-7 °C temperatūroje, pastebėti praėjus 10-12 dienų. Skirtingi transportavimo maršrutai žymios įtakos neturėjo. Mokslininkų teigimu indikatoriaus spalvos pokytis ant išmaniosios mėsos produkto pakuotės, yra tiesiogiai proporcingas produkto šviežumui ir kokybei. Esant didesnei temperatūrai, mėsoje greičiau

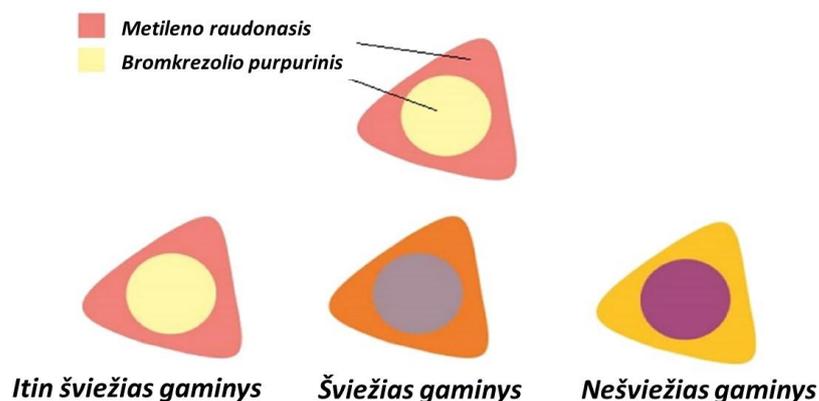
dauginasi mikroorganizmai ir dėl mikrobiologinės taršos mėsos gaminyje tampa nebetinkamas vartoti. Siekiant patvirtinti gautus rezultatus, mėginiams buvo atlikti mikrobiologiniai tyrimai. Jų metu nustatyta, jog tyrimo metu vištienos gaminius laikant žemiausioje temperatūroje, t. y. 3 °C, bakterinė tarša buvo stipriai pristabdyta ir vištienos mėsa tinkama vartoti net ir praėjus dešimties dienų laikotarpiui. Mėginiai, kurie buvo laikomi 7 °C temperatūroje, turėtų būti suvartoti per penkias dienas, o 10 °C temperatūroje laikyta vištienos filė jau 3-iąją dieną tampa pavojinga žmogaus sveikatai ir gali sukelti rimtus apsinuodijimus. Taigi temperatūros indikatoriai išmaniosiose pakuotėse yra reikalingi siekiant realiu laiku įsitikinti ar nebuvo pažeistas temperatūrinis laikymo režimas ir nenukentėjo produkto kokybė [16].

### 1.2.3. pH indikatoriai mėsos ir jos produktų pakuotėse

Mėsos produktams prarandant šviežumą, kurį lemia padidėjusi mikrobiologinė tarša, pastebimi terpės rūgštingumo (pH) pokyčiai, sukelti mikroorganizmų išskirtų metabolitų. Šiuos pokyčius galima vizualiai įvertinti į išmaniąją produktų pakuotę integruvus pH indikatorių. Dažniausiai jie kuriami iš dviejų pagrindinių dalių: kietojo pagrindo ir dažų, jautrių terpės rūgštingumo pasikeitimams. Kaip ir visi kolorimetriniai indikatoriai, šie, spalvinės reakcijos metu realiu laiku suteikia informaciją apie procesus, vykstančius gaminio pakuotės viduje [17]. Vieni iš seniausiai žinomų pH indikatorių mėsos produktams – *The Fresh Tag* indikatoriai, pagaminti iš metileno raudonojo ir celiuliozinės membranos. Jie dažniausiai taikomi vištienos produktų išmaniosiose pakuotėse. Vištienos ar jo produktų irimo metu, skylant amino rūgštims, susidaro aminorūgšties, kurie linkę padidinti terpės šarminumą. Į tokius pokyčius reaguoja *The Fresh Tag* indikatorius ir jo spalva iš raudonos pasikeičia į geltoną.

Šiomis dienomis plačiau naudojamas kitokios rūšies, bet tokį pat veikimo mechanizmą turintis indikatorius – *SensorQ*. Jis pagamintas iš polimerinės matricos ir ant jos esančio bromkrezolio žaliųjų dažų tirpalo. Kiaulienos ir paukštienos produktams prarandant šviežumą ir susidarant vis daugiau biogeninių aminorūgščių, indikatorius keičia spalva iš oranžinės (šviežiame produkte) į tamsiai rudą (gendančiame produkte) [18].

Siekiant dar didesnio jautrumo aptinkant nešviežius mėsos produktus, mokslininkai išbandė dvigubą terpės pH indikatorių, savo sudėtyje turintį ir metileno raudonųjų, ir bromkrezolio purpurinių dažų. Tokia sistema, integruota į gaminio pakuotę, dar akivaizdžiau perteikia rezultatus ir vartotojui vertinant dviejų indikatorių spalvų pasikeitimus vietoj vieno yra paprasčiau nuspręsti apie produkto kokybę. Dvigubojo indikatoriaus kraštuose integruojami metileno raudonojo dažai, o viduryje – bromkrezolio purpuriniai. Vykstant mėsos gedimo procesams, terpė tampa šarminesne, metileno raudonasis pakeičia spalvą į geltoną, o bromkrezolio purpurinis tampa violetinis (1.5 pav.).



1.5 pav. Dvigubas terpės rūgštingumo indikatorius [18]

Teorinėms dvigubųjų indikatorių veikimo žinioms pagrįsti, buvo atlikti moksliniai eksperimentai su jautienos mėsa. Tyrime dalyvaujantys jautienos mėginiai buvo supakuoti naudojant specialias pakuotes su integruotais pH indikatoriais. Eksperimento metu vienam mėginiui buvo parinktas 25 °C temperatūrinis režimas, o kitam - gamintojo rekomenduojamas 3 °C. Spalvų pokyčiai buvo stebimi iki visiško spalvos nusistovėjimo. Pirmomis sąlygomis (25 °C temperatūroje) dvigubo indikatoriaus spalviniai pokyčiai pradėti stebėti jau po keturių valandų nuo tyrimo pradžios, o po aštuonių valandų įvyko lūžinis spalvos pokytis (metileno raudonasis iš raudono tapo geltonas, o bromkrezolio purpurinis iš geltono – violetinis). Eksperimentas prie žemesnės temperatūros (3 °C temperatūra) užtruko ilgiau ir kardinalus indikatoriaus spalvos pasikeitimas įvyko tik praėjus septynioms dienoms nuo tyrimo pradžios. Tai reiškia, kad gedimo procesas aukštesnėje temperatūroje buvo spartesnis, terpė greičiau šarmėjo ir mėsos produktas tapo nebetinkamas vartoti jau po aštuonių valandų. Išlaikius gamintojo numatytus temperatūrinius reikalavimus (3 °C temperatūra), puvimas pristabdytas, biogeninių aminių koncentracija pakuotėje nedidelė, terpės šarmingumas neužfiksuotas ir jautienos mėsa laikoma tinkama vartojimui iki septynių dienų.

pH indikatoriai gali būti integruojami tiek pakuotės išorėje, tiek viduje. Renkantis antrąjį indikatoriaus pritvirtinimo atvejį būtina užtikrinti, kad šis būtų pagamintas naudojant kuo natūralesnes medžiagas (pavyzdžiui augalinės kilmės pigmentus – antocianinus, kurkuminą) ir išmanioji pakuotė pati netaptų pavojinga žmogaus sveikatai [19].

#### 1.2.4. Bendrojo azoto kiekio indikatoriai mėsos ir jos produktų pakuotėse

Dar vienas kolorimetrinis indikatorius, skirtas šviežumą prarandančioje mėsoje susidarantiems pašaliniams lakiesiems junginiams aptikti – bromfenolio mėlynasis. Bromfenolio mėlynasis atkreipė mokslininkų dėmesį, pastebėjus jo jautrumą lakiesiems bendrojo azoto junginiams, per tam tikrą laiką susidarantiems gaminio pakuotėje. Indikatorius yra jautrus šių lakiųjų junginių koncentracijai ir spalvą palaipsniui keičia iš geltonos (lakiųjų azoto junginių neaptinkama) į mėlyną (mėsa užteršta lakiaisiais azoto junginiais). Bendroji tokio indikatoriaus gamyba buvo nesudėtinga ir nereikalaujanti daug resursų. Indikatoriaus nešiklis (šiuo atveju filtrinis popierius) padengtas veikliąja medžiaga – bromfenolio mėlynuoju, centrifugavimo metu. Pagaminus juostelių pavidalo indikatorinį sensorių, šis buvo integruotas į vidinę mėsos produkto pakuotės dalį. Atlikto mokslinio eksperimento rezultatai sutapo su teorinėmis žiniomis apie indikatoriaus veikimo mechanizmą. Tyrimo metu buvo naudojama išmaniojoje pakuotėje (su indikatoriumi) įpakuota jautienos mėsa. Ji buvo laikoma 4 °C temperatūroje devynias dienas. Indikatoriaus pasikeitimai buvo tikrinami kas dvi dienas, vizualiai stebint pokyčius.

Pirmąją tyrimo dieną bromfenolio mėlynojo indikatorius buvo ryškiai geltonos spalvos, todėl daroma išvada, kad tiriamoji žaliava nėra užteršta lakiaisiais azoto junginiais. Praėjus 3-5 dienoms nuo bandymo pradžios, indikatorius spalva pasikeitė į tamsiai geltoną. O septintąją dieną užfiksuotas kritinis taškas, kai indikatorius, turėjęs geltoną atspalvį, virto šviesiai mėlynu. Devintąją tyrimo dieną užregistruota tamsiai mėlyna indikatorius spalva. Toks palaipsniui kintantis spalvinis rezultatas priklauso nuo per laiką vis didėjančios lakiųjų bendrojo azoto junginių koncentracijos [20]. Azoto junginių koncentracija pakuotėje, lyginant pirmosios ir paskutinės eksperimento dienos duomenis, padidėjo nuo 8,43 mg/100 g iki 20,30 mg/100 mg. Tokie rezultatai yra svarbus ženklas, įspėjantis apie suintensyvėjusią mikroorganizmų veiklą ir pažengusį jautienos gaminio gedimo procesą. Taigi naudojant bromfenolio mėlynojo indikatorius galima realiu laiku įvertinti mėsos produkto šviežumą ir nuspręsti apie jo tinkamumą vartoti [21].

### **1.2.5. Biogeninių aminių indikatorius mėsos ir jos produktų pakuotėse**

Biogeniniai aminai – tai mažos molekulinės masės junginiai, susiformuojantys mikroorganizmų sintetiniams fermentams dekarboksilinant amino rūgštis. Šie junginiai plačiai naudojami siekiant apibūdinti mėsos produktų šviežumą (kuo jų daugiau, tuo didesnė gaminio tarša mikroorganizmų veiklos produktais). Biogeniniams aminams aptikti taip pat naudojami spalviniai indikatorius.

Vienas iš tokių – polimerinis kompozitas su poliazamakrocikliniu pereinamųjų metalų kompleksu. Komplexas selektyviai prisijungia biogeninius aminos, tokius kaip kadaverinas, putrescinas ir histaminas. Polimerinis indikatorius esant biogeniniams aminams pakeičia spalvą ir tai yra laikoma ženklu, rodančiu apie prasidėjusį mėsos gedimą [22]. Minėtasis šio spalvinio indikatorius mechanizmas jau įtrauktas į patentų sistemą, todėl detali informacija apie veikimo principą yra konfidenciali.

Toksiškumu pasižymintiems biogeniniams aminams kadaverinui ir putrescinui aptikti plačiai naudojami indikatorius, sudėtyje turintys ninhidrino ir diazonio reagentus. Šie reagentai yra parankūs dėl specifiškumo ir didelio jautrumo minėtiems biogeniniams aminams. Jiems reaguojant su ninhidrinu susidaro violetinės spalvos kompleksas, o violetinės spalvos ryškumas keičiasi priklausomai nuo biogeninių aminių koncentracijos mėginyje.

Nitrintas konjuguotas polimeras (NPT<sub>h</sub>) taip pat buvo įtrauktas prie kolorimetrinių indikatorius, skirtų biogeninių aminių aptikimui. NPT<sub>h</sub> sintetinamas iš politiofeno, kuris adsorbuojamas ant silikagelio. Sąveikoje su biogeniais aminais, indikatorius spalva stipriai patamsėja [23].

Biogeniniam aminui kadaverinui aptikti mokslininkai panaudojo polimerinį junginį polianiliną [24]. Emeraldinas – tarpinė pilnai redukuoto ir pilnai oksiduoto polianilino forma, turinti ryškiai žalią spalvą. Sąveikoje su biogeniais aminais jis tampa deprotonizuotu junginiu ir įgauna mėlyną spalvą.

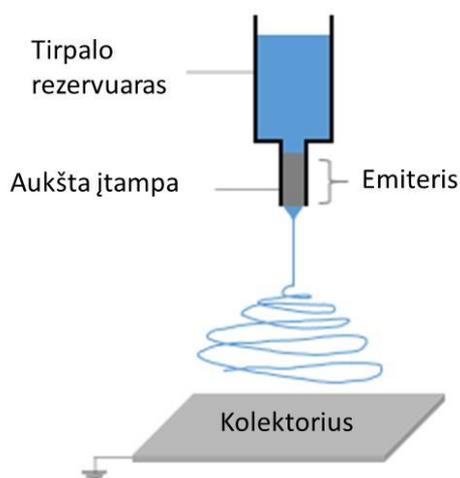
Nors biogeniniai aminai yra laikomi vieni iš pagrindinių mėsos tinkamumo vartoti indikatorius, juos aptinkantys indikatorius vis dar retai įtraukiami į išmaniųjų pakuočių sudėtį ir dažniausiai naudojami kaip papildomos priemonės įvertinti mėsos produkto šviežumui jį išėmus iš pakuotės.

Mokslui sparčiai tobulėjant polimerinių junginių integravimas į išmaniąsias pakuotes gaminių šviežumui ar laikymo sąlygų patikimumui įvertinti tampa vis inovatyvesnis. Šiomis dienomis vis labiau populiarėjantis metodas spalviniams indikatorius pagaminti yra naudojant elektrinį verpimą. Tokiu būdu gautas pluoštas gali būti lengvai integruotas į pakuotes suteikiant joms pridėtinę vertę.

### 1.3. Elektrinis verpimas

Tai naudinga technologija, taikoma norint pagaminti vientisas pluošto gijas naudojant elektrostatinę jėgą. Gijų formavimasis jau daugelį metų paplitęs gamtoje. Vorų, šilkaverpių produkuojami tinklai tai 2-5  $\mu\text{m}$  gijų pluoštai, padedantys sugauti grobį ar suformuoti kokonus [25]. Tokia technologija, pastebėta gamtoje, pritaikymą rado žmonių tarpe. Polimerų ir chemijos mokslo kooperacijos metu buvo atrasti būdai sintetiniu būdu sukurti panašios sudėties į gamtinius, tvaraus pluošto gaminius elektriniu verpimu. Tokie pluoštai šiais laikais naudojami biomedicinos, aplinkosaugos, energetikos, kosmetikos, karinėje pramonėje, sensorių gamyboje [26].

Elektrinio verpimo mechanizmas susideda iš aukštos įtampos šaltinio, kolektoriaus, siurblio, tirpalo padavimo rezervuaro (dažniausiai švirkšto) su pritvirtinta adata. Procesas prasideda tada, kai tirpalas pastoviai tūkme leidžiamas iš rezervuaro – švirkšto (per adatą), o tarp adatos ir kolektoriaus sukuriama specifinis elektrinis laukas. Elektrinio lauko stipris yra lemiantis faktorius, sukuriama reguliuojant įtampą. Jeigu stipris per mažas, tirpalas adatos gale, dėl polimerinio tirpalo įtempio sudarys lašelį. Padidinus įtampą, o tokiu būdu ir elektrinį stiprį, polimerinio tirpalo paviršiuje atsiranda stūmos jėgos, priešingos krypties nei paviršiaus įtempis ir švirkšto gale esantis lašelis tampa kūgio formos (kitaip vadinamas Taylor'o kūgiu). Susiformavus didesnėms elektrostatinėms jėgoms už tirpalo paviršiaus įtempį, pro adatos galiuką išgaunama srovė, kuri judėdama link kolektoriaus vis plonėja, tirpiklis išgaruoja, o srovė pasiekusi kolektorių sustingsta. Tirpalo srovės stabilumas labiausiai priklauso nuo sukurtos įtampo dydžio [27]. Detali mechanizmo schema pateikta 1.6 pav.



1.6 pav. Elektrinio verpimo veikimo mechanizmas [28]

Elektrinio verpimo būdu gali būti susintetintos įvairių diametrų gijos, nuo keliasdešimties nanometrų iki mikrometrų. Gijų išsidėstymas ir dydis galutiniam produkte priklauso nuo parinktų sąlygų elektroverpimo metu: trukmės, įtampos, atstumo nuo adatos iki kolektoriaus, kolektoriaus sukimosi greičio, drėgmės, temperatūros. Nors metodų nanopluoštų kūrimui yra ne vienas (savaiminis susidarymas, temperatūros indukuotas fazių atsiskyrimas, audimas ir kt.), tačiau elektrinis verpimas yra laikomas pačiu universaliausiu [29]. Turėdamas daugelį technikų jis gali atstoti tradicinius pluošto sudarymo procesus. Viena iš tokių technikų yra elektrinis verpimas, naudojant kelis tirpalo rezervuarus (švirkštus). Tokiu būdu verpiamas nanopluoštą yra praturtinamas papildomomis medžiagomis, suteikiančiomis jam specifinių savybių. Pavyzdžiui, polivinilalkoholio ir propolio nanopluoštą. Tokia kompozicija savo paskirtį turi medicinoje, gaminant tvarsčius su raminais ir gydymą skatinančiomis savybėmis [30]. Taip pat panaudojus tą patį verpimo

metodą, galima paspartinti gaunamo gijų pluošto formavimąsi. Tą patį tirpalą paduodant iš kelių švirkštų galima kelis kartus greičiau susintetinti norimą nanopluoštą. Kitas elektrinio verpimo metodas – dvisluoksnių gijų formavimas. Tai elektrinio verpimo sistema, sudaryta iš dviejų adatų lygiagrečiai dviem sluoksniais sujungtų tarpusavyje. Elektroverpimo metu gaunamas pluoštas iš vidinės ir išorinės dalies. Vidinėje dalyje esanti adata formuoja pluošto šerdį, o išorinė dangalą. Taigi tokiu būdu sukuriamas pluoštas iš dviejų tarpusavyje nesimaišančių tirpalų, turinčių skirtingą paskirtį. Didelį pritaikomą dvisluoksnių gijos formavimo elektroverpimas turi medicinoje, formuojant dangalus, tablečių aktyviajai medžiagai apsaugoti nuo išorės poveikio. Arba vaisto aktyviajai medžiagai pasiekti galutinę veikimo vietą žmogaus organizme [31]. Formuojant nanopluoštą iš didelės molekulinės masės polimerinių junginių, naudojami elektroverpimo metodai su didesne elektrostatine jėga. Vienas iš žinomiausių – elektroverpimas naudojant burbulą. Šioje technologijoje nenaudojama adata, o skysčio būsenos polimerinis tirpalas rezervuare, su dujomis paverčiamas burbulais. Panaudojus aukštą įtampą, jis pakeičia savo sferinę formą į kūginę (primenančią Taylor'o kūgį). Įtampai pasiekus slenkstinę ribą, iš kūgio formos burbulų suformuojamos tirpalo srovelės, pasiekiančios kolektorių [32]. Viena iš šio elektroverpimo metodo panaudojimo paskirčių – šilko fibrino gamyba. Ši medžiaga yra viena iš medicininių siūlų komponentų, nesukelianti alerginių reakcijų, pasižyminti tvirtumu bei hidrofobiškumu [33].

Nors elektrinio verpimo metodu pluoštams formuoti gali būti pritaikyta daugelis polimerinių junginių, tačiau šiuo metu vienu perspektyviausiu ir didelį pritaikomumą medicinoje, sveikatos moksluose, nanotechnologijose ir maisto pramonėje turi polianilino (PANI) elektroverpimas. Lyginant su kitais polimerais ir plastikais, polianiliną apdoroti sudėtingiau, dėl jo tvirtos pagrindinės grandinės nulemtos aukštos konjugacijos laipsnio. Tačiau dėl elektrinio verpimo metodo universalumo, tai nėra problema. Polianilinas yra priskiriamas laidiesiems polimerams, tinkamiems plėvelių, membranų ir jutiklinių mechanizmų formavimui. Jis pasižymi stabilumu, polimero sintezės paprastumu, monomero – anilino, naudojamo polimero sintezei, pigumu, lengva elektrinio laidumo kontrole keičiant protonizuotą ar oksiduotą formą [34].

#### **1.4. Polianilino indikatorius amoniako dujų aptikimui**

Amoniako dujos yra vienos iš gausiausių teršalų ore. Greitas ir efektyvus šių dujų aptikimas yra svarbus siekiant palaikyti tinkamos sudėties orą tiek patalpų viduje, tiek ir lauke. Iš visų amoniako dujų aptikimo mechanizmų, labiausiai rekomenduojamas metodas naudojant polimerą - polianiliną. O tiksliau, naudojant indikatorių, gautą modifikavus polianiliną elektroverpimo metodu<sup>35</sup>. Elektrinis verpimas leidžia tolygiai paskirstyti polianiliną viso indikatoriaus paviršiuje ir sukurti maksimalų skaičių aktyviųjų centrų, prie kurių gali prisijungti amoniako dujos. Indikatoriaus matricai sudaryti, be polianilino, gali būti naudojami papildomi polimerai: polistirenas (PS), polietilenoksidas (PEO), polivinilalkoholis (PVA), polivinilpirolidonas (PVP). Tarpusavyje sumaišius pagrindinio polimero ir vieno iš prieš tai išvardintųjų polimerų tirpalus, gaunamas mišinys, tinkamas elektriniam verpimui. Po šio proceso gautas nanopluoštas yra išbandomas su amoniako dujomis. Polianilino sąveika su  $\text{NH}_3$  dujomis yra pagrįsta protonizacijos - deprotonizacijos mechanizmu. Po sąveikos su protonizuotu polianilinu (emeraldino druska), amoniako dujų molekulės paverčiamos amonio jonais, o pats polimeras tampa deprotonizuotas (emeraldino bazė). Deprotonizacija polianilinui būdinga tik esant didelėms amoniako koncentracijoms. Sumažėjus amoniako dujų kiekiui, amonio jonai suyra, o per maža jų koncentracija nebepajėgia toliau deprotonizuoti polianilino ir šis grįžta į pradinę savo formą. Toks mechanizmas yra grįžtamasis. Keičiantis polianilino formai iš protonizuotos į deprotonizuotą ir atvirkščiai, keičiasi ir pačio polimero, o tuo pačiu ir viso indikatoriaus spalva. Emeraldino druskai

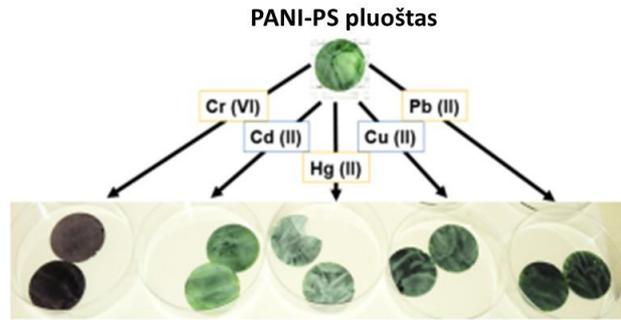
(protonizuotai polianilino formai) būdinga žalia spalva, o emeraldino basei (deprotonizuotai polianilino formai, po sąveikos su amoniako dujomis) būdinga mėlyna spalva. Besikeičianti spalva yra polianilino jautrumo amoniako dujoms įrodymas, o tiksli koncentracija, į kurią polianilinas sureaguoja priklauso nuo pasirinkto papildomo polimero nanopluošti sudaryti ir vyrauja nuo 20-1000 milijoninių dalių [35].

### **1.5. Polianilino indikatorius azoto oksidų nustatymui**

Patys reikšmingiausi azoto oksidai yra azoto monoksidas ir azoto dioksidas. Azoto dioksidas gamtoje susidaro degant iškastiniam kurui ir yra pavojingas žmogaus sveikatai. Jis turi dirginančių savybių, o įkvėpus didelę koncentraciją, sukeliamas plaučių uždegimas ar net edema. Polianilino, polivinilpirolidono ir ureazės mišinys yra tinkama matrica azoto dioksido indikatoriams kurti. Sąveikoje su azoto dioksidu, polianilino emeraldino druska yra oksiduojama iki aukštesnės formos, o NO<sub>2</sub> dujos įgauna azoto dioksido anijono formą. Emeraldino druskai prieš sąveiką su minėtomis dujomis būdinga žalia spalva, o po jos mėlyna spalva. Nors yra daugiau būdų polianilino indikatoriams sintetinti, tačiau tik elektrinio verpimo metu gautas pluoštas pasižymi dideliu paviršiaus plotu, poringumu, todėl gautas indikatorius pasižymi didesniu jautrumu ir greitesniu NO<sub>2</sub> dujų aptikimu [36]. Taip pat gaunamos polivinilpirolidono – polianilino nanopluošto gijos yra tinkamo diametro. Mokslininkų teigimu, gijų diametras yra itin svarbus nanopluošti. Jeigu jis fiksuojamas mažesnis nei 15 nm nukenčia pluošto elektrinis laidumas ir iš „laidaus“ šis tampa izoliuojančiu [37]. Atlikto tyrimo metu elektriniam verpimui buvo panaudotos skirtingos polianilino koncentracijos 20, 50 ir 80 masės procentų. Rezultatai parodė, kad esant didesnei polianilino koncentracijai, indikatorius jautrumas azoto dioksidui padidėja.

### **1.6. Polianilino indikatorius sunkiųjų metalų aptikimui**

Pastaraisiais metais itin suintensyvėjusi vandens ir oro tarša skatino mokslininkus ieškoti modernesnių metodų toksiniams junginiams identifikuoti ir pašalinti. Būdai, aptikti oro teršalams jau buvo paminėti anksčiau, tačiau vandens tarša yra tokia pat kenksminga žmogui. Dažniausiai vandens telkiniai yra užteršiami sunkiaisiais metalais, tokiais kaip gyvsidabris – Hg (II), kadmis – Cd (II), švinas – Pb (II), chromas – Cr (VI) ir varis – Cu (II). Jų aptikimui mokslininkai pritaikė apie polianiliną sukauptas naujausias žinias<sup>38</sup>. Šis polimeras pasižymi sunkiųjų metalų adsorbcija ir spalvos pokyčiu priklausomai nuo sąveikaujančio metalo rūšies. Eksperimento metu veiklusis polianilinas buvo sumaišytas su pagalbiniu polimeru polistirenu ir elektroverpimo metu ant aliuminio folija padengto kolektoriaus buvo suformuotas nanopluoštas. Suformavus atitinkamo dydžio polianilino – polistireno pluošto mėginius (indikatorius), buvo paruošti sunkiųjų metalų vandeniniai tirpalai. Į skirtingų metalų vandeninius tirpalus buvo patalpinti nanopluošto indikatoriai. Toliau buvo stebimi staigūs spalvų pokyčiai. Indikatorius savo pirminę sodrią žalią spalvą sąveikoje su sunkiaisiais metalais pakeitė į šviesesnius žalios atspalvius ar net purpurinę spalvas (1.7 pav.)



**1.7 pav.** Indikatoriaus spalvos pasikeitimai, sąveikoje su sunkiaisiais metalais [38]

Spalvos pokyčiai, siekiant gauti skaitines vertes, įvertinti atlikus UV-RŠ spektroskopinę analizę, o gauti rezultatai ir spalvų pokytis yra tiesiogiai susijęs su skirtingomis polianilino formomis jį oksiduojant.

### **1.7. Polianilino indikatorius vandenilio sulfido dujų aptikimui**

Vandenilio sulfido dujos priklauso degių ir labai agresyvių dujų tipui. Net ir nedidelės  $H_2S$  koncentracijos gali sukelti akių, kvėpavimo sistemos pažeidimus, o sąlytis su didesne šių dujų koncentracija gali būti pavojingas gyvybei. Todėl vadovaujantis pasauliniais kokybės saugos OSHA standartais, leidžiama vandenilio sulfido koncentracija darbo vietoje negali viršyti 20 milijoninių dalių. Siekiant palaikyti tokias nuostatas, būtinas nuolatinis ore esančių dujų koncentracijų sekimas ir monitoringas, o susintetintas polianilino - aukso dalelių nanopluoštas pasirodė kaip tik tam tinkamas. Elektrinio verpimo būdu gauto polianilino - aukso dalelių nanopluošto jautrumas vandenilio sulfido dujoms buvo įvertintas kalibracinėmis kreivėmis, fiksuojant pluošto varžą, laiką ir dujų koncentraciją ore.

Skystas vandenilio sulfidas yra silpna rūgštis, tiesiogiai beveik nereaguojanti su polimeru – polianilinu ir neturinti didelės įtakos jo elektrinio laidumo pokyčiams. Mokslininkų Agbor et al. atliktų tyrimų metu buvo nustatyta, kad indikatoriaus, pagaminto tik iš polianilino, jautrumas vandenilio sulfido dujoms buvo labai nedidelis [39].

Tačiau kai elektroverpimo metu polianilinas funkcionalizuojamas aukso dalelėmis (70-120 nm dydžio), iš jo gautas indikatorius puikiai reaguoja net ir į mažiausią  $H_2S$  dujų koncentraciją. Reakcijos, tarp polianilino - aukso dalelių ir vandenilio sulfido dujų, metu suformuojamas aukso sulfido (AuS) junginys, kuris kartu su polianilino protonizacija turi įtakos polianilino - aukso pluošto varžai. Taip pat buvo patvirtinta, kad polianilino ir aukso dalelės veikia atitinkamai kaip donoras ir akceptorius, todėl padidėja indikatoriaus matricos laidumas bei sumažėja jo varža. Atitinkami skaičiai atvaizduoti tyrimo kalibracinėje kreivėje, kurioje matoma, kad indikatorius mažiau nei per 2 min sureagavo (t.y. fiksuojamas varžos pokytis) į pačią žemiausią 0,1 milijoninių dalių vandenilio sulfido dujų koncentraciją [40]. Didėjant šių dujų koncentracijai indikatoriaus varža atitinkamai mažėja. Svarbus polianilino – aukso dalelių nanopluošto indikatoriaus privalumas – greitas atsistatymas. Ore nebeaptikus kenksmingųjų dujų, indikatorius grįžta į savo pradinį būvį su didesne varža ir mažesniu laidumu elektros srovei.

Polianilino emeraldino druskos ir chloro aurato rūgšties nanopluoštas gali pasitarnauti ir kaip vandenilio sulfido ar metanetiolio dujų indikatorius skirtas fiksuoti jų tiesioginei koncentracijai

žmogui iškvepiant. Taigi polianilinas, dėl sensorinių savybių yra tinkamas sieros turinčių junginių aptikimui.

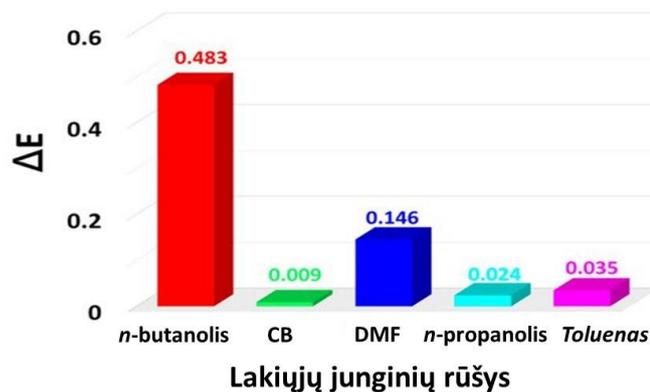
### **1.8. Polianilino indikatorius lakiųjų organinių junginių aptikimui**

Siekiant optimizuoti gamtą teršiančių agresyvių dujų aptikimo procesus, pasitelkiamos vis modernesnės technologijos. Pagrindiniai dažniausiai sutinkami lakieji junginiai yra įvairios kilmės organinės dujos, pramoninių produktų, tokių kaip degalai, dažai, kosmetika, sudedamosios dalys, ar net kepimo ar medžio degimo metu išsiskyrę dūmai. Visi šie junginiai vienaip ar kitaip kenkia ne tik gamtai, bet ir žmogaus sveikatai. Prisilietimo ar įkvėpimo metu gali būti neišvengta stiprių nudegimų, apsinuodijimų, kvėpavimo takų ligų. Todėl svarbu atrasti jautriausią ir patikimiausią indikatorių, padėsiantį skubiai nustatyti padidėjusią lakiųjų junginių koncentraciją.

Vienu iš variantų, šių jutiminių indikatorių sintezei, priskiriami polimerai, pasižymintys laidininkų savybėmis, o tiksliau, daugelyje sensorinių prietaisų naudojamas polianilinas. Šis polimeras pasirodė tinkamas ne tik kaip indikatorius amoniako, azoto monoksido, vandenilio sulfido dujų aptikimui, bet ir lakiųjų organinių junginių užfiksavimui [41]. Laboratorinio tyrimo metu, polianilinas, kartu su pagalbinu polimeru – polimetilakrilatu ir mokslininkų pačių susintetintu kopolimeru P3TI [42], elektrinio verpimo metu ant kolektorius sudarė nanopluoštą. Iš pastarojo buvo modeliuojami indikatorių pavyzdžiai. Lakieji junginiai tyrimui buvo parinkti iš organinių tirpiklių, tokių kaip *n*-butanolio (*n*-butanol), dimetilformamido (DMF), tolueno, *n*-propanolio ir chlorbenzeno. Pasiruošus tirpiklius, šie buvo perpilti į chemines stiklinėles, patalpinti į tyrimo kameras ir kambario temperatūroje laukiama jų garavimo proceso pradžios taško (25 °C). Tirpikliams pradėjus garuoti, į kamera patalpintas prieš tai gautas polianilino - polimerilakrilato – P3TI nanopluoštas.

Pirminiai gauti rezultatai užrašomi vadovaujantis UV-RŠ spektrofotometro duomenimis. Todėl svarbus žingsnis tikslių rezultatų link – nustatyti nulinio mėginio (nepaveikto lakiisiais junginiais) absorbcijos spektrą. Tokiam spektre aukščiausia smailė matoma ties 620 nm ir apibūdina mėlyną indikatoriaus spalvą (oksiduota polianilino forma – emeraldino bazė yra mėlynos spalvos). Tokios absorbcijos vertės indikatorius buvo ir toliau naudojamas lakiųjų junginių aptikimo eksperimente.

Tolimesnis tyrimas buvo tęsiamas į kamerą su indikatoriumi įleidžiant lakiųjų organinių junginių garus (kiekvieno junginio fiksuota koncentracija - 2000 milijoninių dalių) ir po tam tikro laiko (tiksliau – 1800 sekundžių) fiksuojant indikatoriaus pralaidumą procentais. Po to ši vertė perskaičiuota į sugerties koeficientą ir apskaičiuotas sugerčių skirtumas prieš ir po poveikio atitinkamais lakiisiais junginiais. 1.8 paveiksle grafiškai pavaizduotos sensoriaus sugerčių reikšmės. Didžiausias indikatoriaus jautrumas buvo *n*-butanolio ir DMF lakiųjų junginių garams. Tokia priklausomybė aiškinama vandenilinio ryšio susiformavimu tarp minėtųjų garų ir polimerinio indikatoriaus paviršiuje esančių atomų [41].



**1.8 pav.** Sensoriaus sugerties reikšmės skirtingiems lakiesiems junginiams [40]

Taigi išnaudojus polianilino adsorbcines savybes galima aptikti ir lakiuosius junginius.

### 1.9. Polianilino indikatorius drėgmės nustatymui

Tinkamas drėgmės palaikymas aplinkoje yra itin svarbus žemės ūkyje ir pramonėje: maisto išsaugojimo, vaistų, kosmetikos, elektronikos sferose. Daugeliu atveju prekybos vietose, produktai dar būdami lentynose, jau būna pažeisti ir dažnai nebetinkami vartotojui. Pavyzdžiui, maisto produktų ar vaistų tinkamumo vartoti periodas ir veiklumas sumažėja, o išvaizda stipriai nukentėja, jei pakuotėje atsiranda per daug drėgmės. Todėl norint išvengti papildomų išlaidų gamintojams utilizuojant sugadintas prekes, o pirkėjams nusivylimo prekės ženklu, mokslininkai tobulina indikatorius, galinčius pajusti drėgmės pokyčius pakuotėje. Vienas iš sėkmingiausių bandymų išspręsti šią problemą buvo pritaikius polimerą polianiliną [43]. Šio eksperimento metu naudota polianilino forma - mėlynos spalvos emeraldino bazė. Elektrinio verpimo metu, sumaišius šį polimerą su lydinčiu polimeru polimetilmetakrilatu ant stiklinio kolektoriaus gautas nanopluoštas – pirminis indikatorius modelis. Siekiant padidinti indikatorius jautrumą, jis buvo suaktyvintas apšvietus UV arba paveikus ozonu. Eksperimentas atliktas specialioje kameroje su reguliuojama drėgme, naudojant 1, 2, 3 masės procentų polianilino koncentracijas indikatorius matricijoje, o absorbcijos spektras fiksuotas UV-RŠ spektrofotometru (siekiant pamatyti greitesnį spalvos pokytį nei plika akimi). Santykinė drėgmė kameroje buvo keičiama nuo 33 % iki 98 %.

Indikatorius savybė sugerti drėgmę turi įtakos jo spalvos bei sugerties pokyčiams. Šiuo atveju tyrimo metu pastebėta, kad mažiausią emeraldino bazės koncentraciją turintis indikatorius neparodė akivaizdžių spalvos pasikeitimų. Todėl nuspręsta tolimesniuose tyrimuose labiau pasikliauti didesnę koncentraciją turinčiais jutikliais. Didesnę koncentraciją turinčių polianilino-polimetilakrilato indikatorius aktyviosios grupės -NH gali staigiau reaguoti su vandens molekulėmis ir gautas rezultatas daug akivaizdesnis. Reakcijos metu šviesi polianilino spalva, didėjant santykiniam drėgmės kiekiui, atitinkamai tamsėja (1.9 pav.).

Mėginio pavadinimas \ Santykinė drėgmė, %	33	43	59	75	85	98
1,0 % PANI/ PMMA						
2,0 % PANI/ PMMA						
3,0 % PANI/ PMMA						

**1.9 pav.** Indikatoriaus spalvos pokyčiai, didėjant santykiniam drėgmės kiekiui<sup>43</sup>

### 1.10. Literatūros apžvalgos apibendrinimas

Taigi, prieš tai buvo aptartos šešios polianilino indikatorių, gautų elektrinio verpimo metu, taikymo sritys. Nustatyta, kad šis polimeras – chemiškai stabilus, aplinkai nepavojingas, geras laidininkas, tačiau trapus ir birus, todėl tinkamai matricai suformuoti turi būti maišomas kartu su lydinčiuoju polimeru. Atradus elektrinio verpimo metodą, dviejų polimerų optimalus sujungimas į vieną pluoštą tapo efektyviai įgyvendinamas, o gautas rezultatas – gijų pluoštas, pasižymi tolygumu, idealiu gijų diametru ir labai vertinamu porėtumu.

Nors polianilino teigiamų savybių gausu, tačiau jo pritaikymo sričių diapazoną galima plėsti. Vienu iš tokių pavyzdžių galėtų būti polianilino panaudojimas išmaniosiose maisto produktų pakuotėse. Kaip ir minėta anksčiau, šis polimeras yra tinkamas laidininkas, o jo protonizuota ir deprotonizuota formos, dėl aiškių spalvų skirtumų yra tinkamos stebėti pakuotės viduje vykstantiems procesams realiu laiku, paprasta akimi [44]. Todėl išmaniosiose pakuotėse integravus polianilino indikatorių būtų galima kolorimetriniu būdu įvertinti produkto būklę.

Apžvelgus prieš tai minėtus aplinkos sąlygų pokyčius, dujas, organinius junginius į kuriuos spalviškai reaguoja polianilinas, galima daryti išvada, kad didžiausią pritaikymą pakuotėse šie indikatoriai rastų mėsos produktų skyriuje. Nes būtent šių gaminių gedimo metu išsiskiria daugelis aukščiau įvardintų kenksmingų junginių, kuriems jautrus polianilinas. Taip pat didelę neigiamą įtaką mėsos ir jos produktų kokybei turi ir laikymo sąlygų: pH, tinkamos drėgmės, temperatūrinių režimų nepaisymas, todėl polianilino indikatoriai būtų nepakeičiami ir šių parametru palaikymui. Nors pastaruoju metu elektrinio verpimo metodu polianilino matricos yra kuriamos vis dažniau, tačiau jų pritaikymas mėsos produktų šviežumo nustatymui yra nauja mokslinių tyrimų sritis.

## 2. Medžiagos ir tyrimų metodai

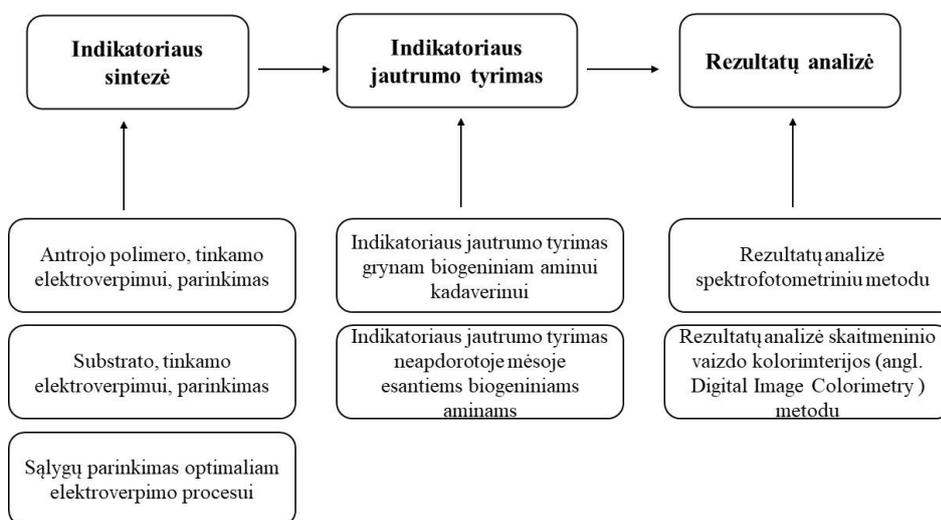
Metodinėje darbo dalyje pateikti duomenys apie tyrimui naudotus reagentus, aprašytas tyrimo planas, aparatūra ir eksperimento metodai.

### Tyrimui naudoti reagentai

- Polianilino emeraldino druska (Polyaniline/ PANI),  $([C_6H_4NH]_2[C_6H_4N]_2)_n$ ,  $M > 15000$  g/mol (Sigmaaldrich);
- Polietilenoksidas (Polyethylene Oxide/ PEO),  $(-CH_2CH_2O-)_n$ ,  $M = 600000$  g/mol (Sigmaaldrich);
- Polikaprolaktonas (Polycaprolactone/ PCL),  $(C_6H_{10}O_2)_n$ ,  $M = 80000$  g/mol (Sigmaaldrich);
- Polivinilo alkoholis (Polyvinyl alcohol/ PVA),  $(C_2H_4O)_n$ ,  $M = 44,05$  g/mol (Sigmaaldrich);
- Kadaverinas (Cadaverine),  $C_5H_{14}N_2$ ,  $M=102,18$  g/mol (Sigmaaldrich);
- Kamparosulfoninė rūgštis (Camphorsulfonic acid/ CSA),  $C_{10}H_{16}O_4S$ ,  $M=232,39$  g/mol (Sigmaaldrich);
- Chloroformas (Chloroform),  $CHCl_3$ ,  $M = 119,38$  g/mol (Sigmaaldrich);
- Natrio hidroksidas (Sodium hydroxyde),  $NaOH$ ,  $M = 39,997$  g/mol (Sigmaaldrich);
- Termiškai neapdoroti vištienos mėginiai.

### Tyrimo planas

Principinė tyrimo schema susideda iš trijų pagrindinių etapų: indikatoriaus sintezės, indikatoriaus jautrumo testo bei rezultatų analizės. Pagrindiniai etapai detalizuoti į smulkesnius svarbiausius žingsnius (2.1 pav.).



2.1 pav. Principinė eksperimento schema

### 2.1. Indikatoriaus sintezė

#### 2.1.1. Tirpalo paruošimas elektrinio verpimo procesui

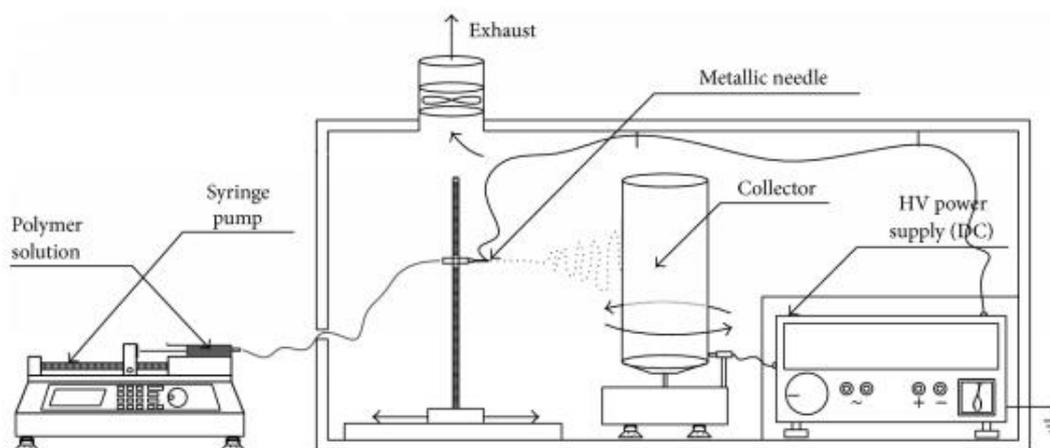
Indikatorius buvo susintetintas iš skysto dviejų kopolimerų mišinio elektrinio verpimo metodu. Pirmasis polimeras įeinantis į mišinio sudėtį – polianilino emeraldino druska. Polimeras polianilinas gali būti aptinkamas trijų formų pavidalu. Pilnai redukuota polianilino forma – leukoemeraldinas. Jam būdinga balta spalva. Emeraldinas yra tarpinė polianilino forma tarp pilnai redukuoto ir pilnai

oksiduoto junginio. Dažniausiai aptinkamas žalios arba mėlynos spalvos. Šarminių savybių turinti emeraldino forma yra mėlynos spalvos, o emeraldino druskai būdinga žalsva spalva. Pernigranilinas yra trečioji polianilino forma – tai pilnai oksiduotas junginys. Tyrimo metu naudota polianilino forma – emeraldino druska yra veiklioji į indikatorių įeinanti medžiaga, deprotonizacijos metu keičianti spalvą ir signalizuojanti apie struktūros ir dujinės sudėties pokyčius tiriamojoje medžiagoje. Deprotonizacijos reakcija įvyksta dėl biogeniniams aminams būdingos šarminės prigimties ir žalios spalvos emeraldino druskos junginys transformuojamas į mėlyną emeraldino bazę.

Siekiant išgauti tinkamą pluoštą, palaikantį savo struktūrą ir turintį tinkamai orientuotas gijas, buvo ieškoma antrojo polimero, kopolimerų mišinio sudarymui. Išbandytos kelios polimerų rūšys – polikaprolaktonas (PCL), polivinilalkoholis (PVA) ir polietilenoksidas (PEO). Įvertinus elektroverpimo metodu gautą pluoštą, gijų išsidėstymą, tinkamiausiu polimeru buvo nustatytas polietilenoksidas. Tą patvirtina ir mokslinė literatūra, kuria toliau buvo remiamasi ruošiant kopolimerų tirpalą [45]. Parinkus antrąjį polimerą buvo atitaikytas reagentų santykis. 100 mg polianilino sumaišoma su 129 mg kamparosulfoninės rūgšties ir 10 ml tirpiklio – chloroformo. Mėginys maišomas 24 valandas kambario temperatūroje, naudojant magnetinę maišyklę. Praėjus maišymosi laikui mišinys filtruojamas naudojant 0,45 μm PURELAND hpPTE filtrą. Toliau į filtratą įdedama 300 mg polietilenoksido. Mėginys paliekamas maišytis kambario temperatūroje dar 6 valandoms. Gautas tirpalas savo struktūra ir klampumu yra tinkamas elektriniam verpimui.

### 2.1.2. Elektrinis verpimas

Elektriniam verpimui naudoto aparato prototipas pavaizduotas 2.2 paveiksle.



2.2 pav. Elektrinio verpimo aparato prototipas [46]

Naudotas elektrinio verpimo aparatas susideda iš aukštos įtampos maitinimo bloko (su įtampos keitikliu), kuris sujungtas su įžemintu surinkimo velenėliu. Statmenai kolektoriaus įstatoma adata (su pritvirtintu elektrodu), pro kurią teka elektrinį krūvį turinti srovelė. Jai susiformuoti reikalinga aukšta įtampa. Atstumas nuo adatos iki surinkimo veleno parenkamas eksperimentinių bandymų metu. Tyrimui naudotas dinaminis, besisukantis velenas. Adata plastikiniu vamzdeliu sujungiama su švirškštu, įtaisytu jau už stendo ribų. Polimerinis tirpalas patalpinamas švirškšte ir šis sujungiamas su pompa, kuri reikalinga tolygiam tirpalo tekėjimui sureguliuoti [27].

Norint išgauti sklandų verpimo procesą ir suformuoti tinkamą pluoštą, buvo išbandyti įvairūs temperatūros, drėgmės, įtampos, atstumo, debito, trukmės parametrai. Taip pat svarbus buvo ir substrato parinkimas, nes ant jo formavosi polimerinė plėvelė, kuri ir turėjo sensorinių savybių. Išbandžius keletą substratų variantų (folija, nailonas, pergamentinis popierius), nuspręsta pasirinkti pergamentą. Galutinės verpimo parametrų sąlygos matomos 2.1 lentelėje.

**2.1 lentelė.** Polianilino emeraldino druskos ir polietilenoksido mišinio elektrinio verpimo sąlygos

Įtampa, kV	16
Atstumas tarp elektrodų, cm	17
Polimero tirpalo tiekimo debitas, ml/h	7
Adatos kalibras	21
Aplinkos santykinė drėgmė, %	44
Aplinkos temperatūra, °C	30
Verpimo trukmė, min	30
Substratas	pergamentinis popierius

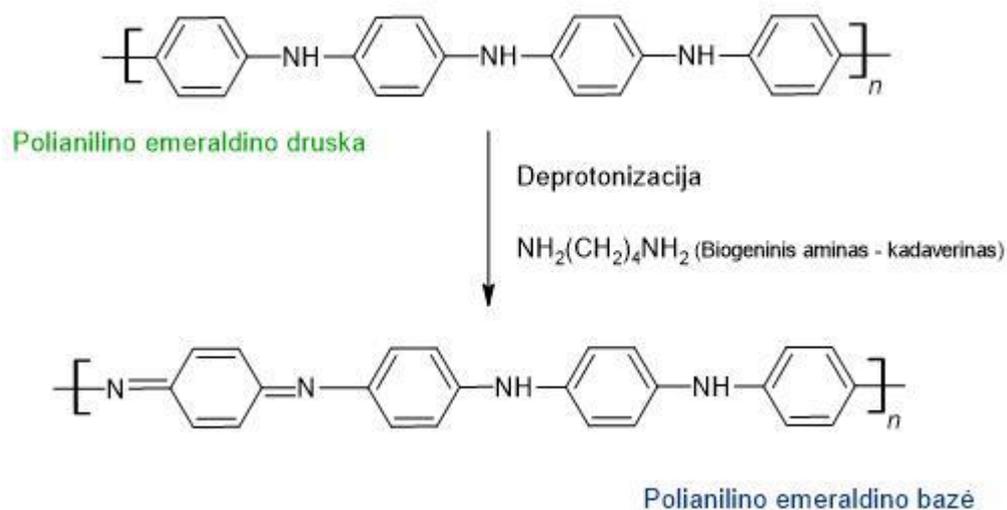
Po elektrinio verpimo ant substrato gauta pluoštinė matrica. Šios matricos ir substrato visuma – eksperimentinis indikatorius. Tolimesniems tyrimams, pasirošiamos 1 × 2 cm indikatoriaus juostelės.

## 2.2. Indikatoriaus struktūros įvertinimas

Norint sužinoti daugiau apie gijų išsidėstymą indikatoriuje buvo panaudotas skenuojančiosios elektroninės mikroskopijos (SEM) metodas. Jis buvo atliktas skenuojančiu elektroniniu mikroskopu „S-3400N“ Lietuvos energetikos institute. Gavus skirtingo didinimo SEM nuotraukas, buvo apskaičiuotas įvairių gijų diametrų santykis su *ImageJ* kompiuterine programa. Siekiant kuo didesnio tikslumo įvertinti 30 – ties gijų diametrai skirtingose mėginio vietose. Detalesnė struktūros analizė pateikta rezultatų skyriuje.

## 2.3. Indikatoriaus jautrumo tyrimas

Indikatorius iš polianilino emeraldino druskos ir polietilenoksido išbandytas dviem metodais. Pirmasis būdas – sensorinių savybių tyrimas naudojant jau išgrynintą biogeninį aminą – kadaveriną. Antrasis būdas – sensorinių savybių tyrimas su natūraliai susidariusiu kadaverinu termiškai neapdorotoje vištienos mėsoje. Cheminė reakcija, vykstanti tarp kadaverino ir polianilino emeraldino druskos bei lemianti indikatoriaus spalvos pokyčius pavaizduota 2.3 pav.



2.3 pav. Polianilino emeraldino druskos deprotonizacijos reakcija

### 2.3.1. Indikatoriaus jautrumo grynam kadaverino tirpalui tyrimas

Kadaverino tirpalas paruoštas pagal mokslininkų jau išbandytą metodiką [24]. 97 % grynumo biogeninis aminos – kadaverinas maišomas su 1 % natrio hidroksido tirpalu. Pasirinktas maišymo santykis priklauso nuo norimos gauti koncentracijos. Šio tyrimo metu, buvo pasiruošti 1 M, 3 M, 4 M, 5 M kadaverino tirpalai.

Pasirinktos koncentracijos tirpalas patalpinamas į sandarų 25 ml mėgintuvėlį. Prie jo dangtelio pritvirtinamas indikatorius ir mėgintuvėlis sandariai uždaromas. Tiesioginio kontakto tarp indikatoriaus ir kadaverino tirpalo nėra. Indikatoriaus veikimo principas – deprotonizacijos reakcija, susidarius kadaverino tirpalo garams.

Indikatoriaus jautrumas biogeniniam aminui kadaverinui ištirtas dviem atvejais. Pirmasis – palaikant pastovią kadaverino tirpalo koncentraciją ir vertinant indikatoriaus spalvinį pokytį laike, o antrasis – keičiant kadaverino tirpalo koncentraciją, konkrečiai nustatytu laiku.

Siekiant įvertinti laiko ir kadaverino koncentracijos įtaką indikatoriaus jautrumui, tyrimas atliktas iš minėtųjų dviejų parametru, kai vienas jų kito, o kitas buvo konstanta. Pirmuoju atveju, konstanta pasirinkta 5 M kadaverino koncentracija ir stebimas indikatoriaus pokytis po 5 min, 10 min, 20 min, 40 min, 80 min, 160 min, 320 min ir 24 val. Praėjus nustatytam laikui, indikatoriaus juostelė ištraukiama iš sandaraus mėgintuvėlio ir paliekama tolimesnei analizei.

Kitas metodas indikatoriaus jautrumo įvertinimui – kadaverino tirpalo koncentracijos keitimas, kai laikas pastovus. Tyrimo metu išbandytos keturios kadaverino tirpalo koncentracijos: 1 M, 3 M, 4 M, 5 M. Indikatorių spalvos pokyčių analizė atlikta po 24 val. Žinant kadaverino tirpalo koncentraciją ir įvertinus, kad indikatoriaus deprotonizacijos reakcija vyksta kadaverino garuose, buvo apskaičiuota kadaverino garų koncentracija sandariame 25 ml mėgintuvėlyje.

Pirmiausia, naudojant Raulio dėsnį apskaičiuotas kadaverino tirpalo garų slėgis (1).

$$\frac{(p^0 - p)}{p^0} = \frac{n_1}{n_1 + n_2}; \quad (1)$$

čia  $p^0$  – kadaverino garų slėgis (mmHg);

$p$  – kadaverino tirpalo garų slėgis (mmHg);

$n_1$  – natrio hidroksido molių skaičius (mol);

$n_2$  – kadaverino molių skaičius (mol).

Žinant kadaverino tirpalo garų slėgį, toliau taikomas idealusis dujų dėsnis (2) ir apskaičiuojamas molių skaičius dujinėje tirpalo būsenoje.

$$pV = nRT; \quad (2)$$

čia  $p$  – kadaverino tirpalo garų slėgis (mmHg)

$V$  – talpos, kurioje yra kadaverino tirpalas, tūris (ml);

$n$  – dujų kiekis (mol);

$R$  – universalioji dujų konstanta (ml·mmHg/mol·K);

$T$  – absoliutinė temperatūra (K).

Molinė dujų koncentracija apskaičiuojama pagal 3 formulę:

$$c = \frac{n}{V}; \quad (3)$$

čia  $c$  – molinė dujų koncentracija (mol/l);

$n$  – dujų kiekis (mol);

$V$  – talpos, kurioje yra kadaverino tirpalas, tūris (ml).

**2.2 lentelė.** Kadaverino tirpalo garų koncentracijos

Kadaverino tirpalo koncentracija (mol/l)	Susidariusių kadaverino dujų koncentracija (g/m <sup>3</sup> )
1	0,016
3	0,061
4	0,093
5	0,135

Tokiu metodu apskaičiuotos skirtingos susidariusių kadaverino dujų koncentracijos iš paruoštų 1 M, 3 M, 4 M, 5 M tirpalų, 25 ml sandariame mėgintuvėlyje (2.2 lentelė).

### 2.3.2. Indikatoriaus jautrumo termiškai neapdorotai mėšai tyrimas

Siekiant praktiškai įvertinti indikatoriaus jautrumą biogeniniams aminams, atliktas tyrimas su neapdorota mėsa bei žuvimi. Kaip pavyzdžiai imami neapdoroti 5 g vištienos vidinės filė mėginiai. Tiriamieji objektai patalpinami į 25 ml sandarius mėgintuvėlius. Indikatorius, kaip ir ankstesniame eksperimente, vertinant jautrumą kadaverinui, pritvirtinamas prie dangtelio viršaus ir taip išvengiama tiesioginio kontakto su mėsos mėginiu. Viena dalis mėginių laikomi anaerobinėmis sąlygomis, kita dalis – aerobinėmis, padarius mėgintuvėlio dangtelyje angas įeiti orui, nes aminorūgščių dekarboksilinimo reakcija yra sukeliama tiek aerobinių, tiek ir anaerobinių bakterijų. Visi mėgintuvėliai patalpinami į šaldytuvą, kuriame palaikoma 5 °C temperatūra. Tyrimas vykdomas dvi savaites, reguliariai vertinant indikatoriaus spalvos pokyčius [47].

## 2.4. Rezultatų analizės metodika

### 2.4.1. Spektrofotometrinė analizė

Nors indikatoriaus spalvos skirtumas matomas akimi, tačiau kiekybinei skaitinei spalvos pokyčio vertei gauti reikalinga spektrofotometrinė analizė. Ji buvo atlikta dviem būdais. Pirmasis gerai žinomas ir dažnai naudojamas spektrofotometrinis metodas naudojant spektrofotodensitometrą *X-RiteColor* (2.4 pav.).



2.4 pav. Rezultatų analizei naudotas *X-RiteColor* spektrodensitometras [48]

2.3 paveiksle matomas spektrofotodensitometras veikia kartu su kompiuterine įranga, o rezultatai matomi specialioje programoje *ColorShop*. Naudojantis programa, išmatuoti rezultatai yra pateikiami skaitinėmis bei vaizdinėmis formomis ir yra užsaugomi. Su šiuo spektrofotodensitometru kiekviena indikatoriaus juostelė skenuota penkis kartus, o gautas galutinis rezultatas – penkių matavimų vidurkis. Matavimų *X-RiteColor* spektrofotodensitometru metu, didžiausias dėmesys kreiptas į gautas pavyzdžio procentines laukelių vertes CMYK spalvų paletėje, bei  $\Delta E$  dydį.

Poligrafinėje CMYK paletėje vyrauja keturios pagrindinės spalvos: žydra (CYAN), purpurinė (MAGENTA), geltona (YELLOW) ir juoda (KEY). Įvertinus šių spalvų santykių pasikeitimus tiriamuosiuose mėginiuose, kiekybiškai nustatomas ir pats spalvos pokytis.

Skirtumą tarp dviejų spalvų galima įvertinti spalvos tono, grynumo ir šviesumo atžvilgiais vienu metu. Tam tinkamiausia  $\Delta E$  išraiška, kitaip vadinama bendru spalvų skirtumu. Matematiškai šis dydis aiškinamas atstumu tarp dviejų taškų, atitinkančių tam tikras spalvas. Jeigu lyginamos dvi spalvos yra tarpusavyje panašios,  $\Delta E$  santykis mažas. Kuo spalvos vizualiai labiau skiriasi viena nuo kitos, tuo  $\Delta E$  reikšmė didesnė [49]. Atliekant matematinius skaičiavimus  $\Delta E$  vertę galima gauti pagal 4 formulę.

$$\Delta E_{ab}^* = \sqrt{(L_2^* - L_1^*)^2 + (a_2^* - a_1^*)^2 + (b_2^* - b_1^*)^2}; \quad (4)$$

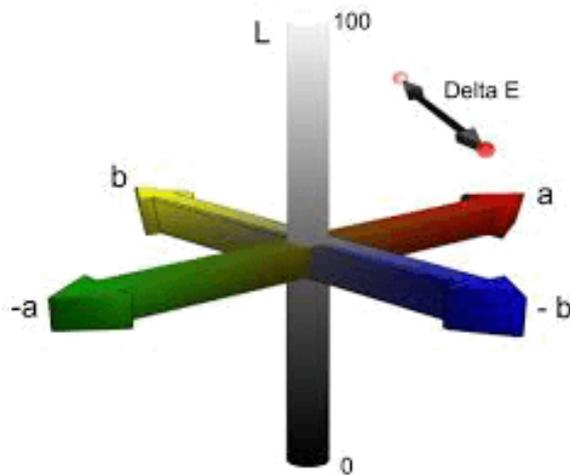
čia  $L_2^*$  – antrosios spalvos šviesumas (0 – juoda; 100 – balta);

$L_1^*$  – pirmosios spalvos šviesumas (0 – juoda; 100 – balta);

$a_i^*$  – atitinkamos spalvos taško spalvotumo koordinatė raudonos – žalios spalvų zonoje;

$b_i^*$  – atitinkamos spalvos taško spalvotumo koordinatė geltonos – žydros spalvų zonoje.

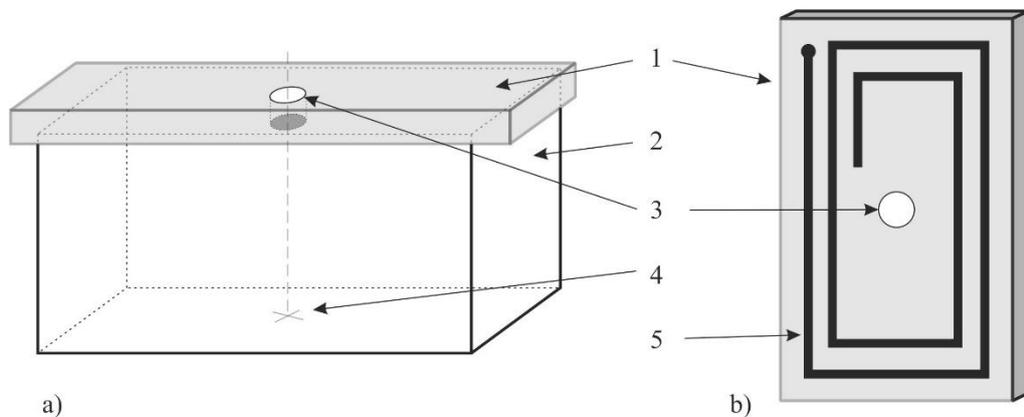
Grafiškai dviejų spalvų skirtumas ( $\Delta E$ ) CIELAB spalvų erdvėje pavaizduotas 2.4 paveiksle.



2.5 pav. Dviejų spalvų skirtumas CIELAB spalvų erdvėje [50]

#### 2.4.2. Skaitmeninio vaizdo analizė

Antrasis rezultatų analizės metodas vadinamas skaitmeninio vaizdo kolorimetrija (angl. *Digital Image Colorimetry*). Jis susideda iš dviejų etapų. Iš pradžių itin kokybiškai, naudojant foto kamerą, užfiksuojamas mėginys. Šiuo atveju naudota 12 MP telefonine kamera visoms indikatorių juostelėms nufotografuoti. Siekiant išvengti spalvos iškraipymo, nuotraukos padarytos tomis pačiomis sąlygomis, esant vienodam fonui ir apšvietimui. Todėl tiriamojo darbo metu papildomai buvo sukonstruota dėžė fotostudija (angl. *Mini FotoStudio Box*), (2.6 pav.).



2.6 pav. Tyrimo metu naudota fotostudijos principinė schema. a) dėžės principinė schema: 1 – dėžės dangtis, 2 – uždara dėžė, 3 – anga fotografavimui, 4 – bandinio fiksavimo vieta; b) vidinė dėžės dangčio principinė schema: 5 – LED apšvietimo sistema.

Sukonstruotos dėžutės vidus buvo visiškai padengtas baltu popieriumi, viduryje pažymėta mėginio pozicijos vieta. Dėžutės viršuje integruotas 4000 K neutralios baltos spalvos LED apšvietimas. Taip pat, dėžės uždengimo vietoje padaryta speciali apvali anga, idealiai atitinkanti telefoninės kameros išmatavimus.

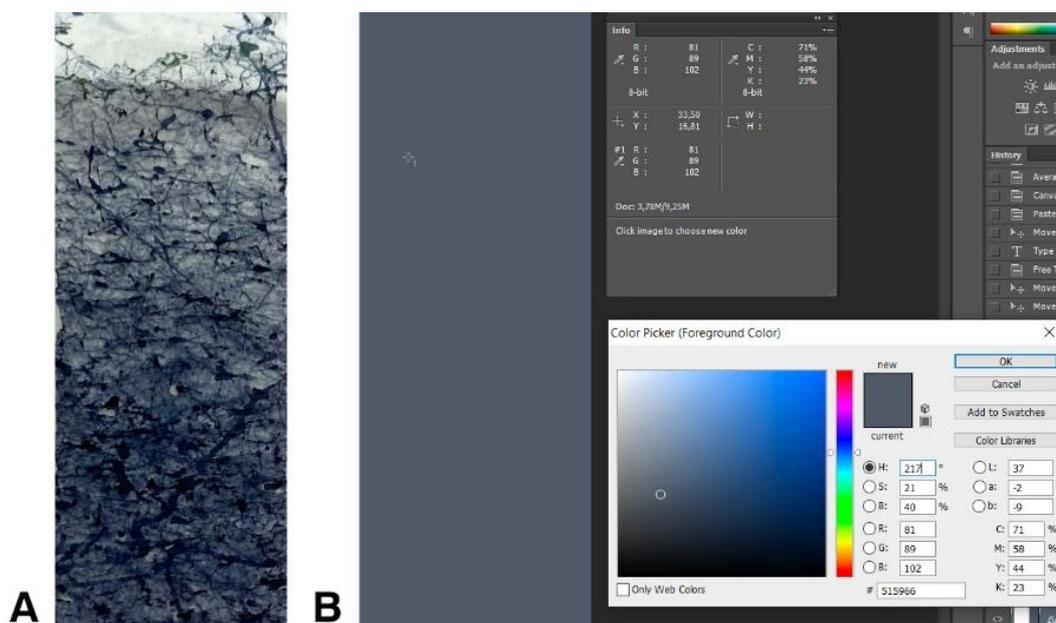
Po indikatorių užfiksavimo nuotraukose, šios importuojamos ir apdorojamos su *Adobe Photoshop C6* programinės įrangos paketu.

*Adobe Photoshop* - vaizdų kūrimo, redagavimo ir grafinio dizaino programinė įranga, kurioje gausu vaizdų spalvinės analizės įrankių.

## Spalvų skirtumo $\Delta E$ nustatymas, atliekant viso indikatoriaus spalvinę analizę

Spektrofotodensitometru randama vidutinė spalvos vertė ribotame indikatoriaus plote. Kadangi mėlyna spalva keičia žalią skirtinguose atskiruose plotuose, yra tikslinga nustatyti viso indikatoriaus vaizdo vidutinę spalvą ir palyginti ją su vidutine kontroline indikatoriaus spalva. Tam galima naudoti interaktyvias laisvai prieinamas priemones, pvz. *WisegEEK*, *Get Average Color of Image* ir pan.

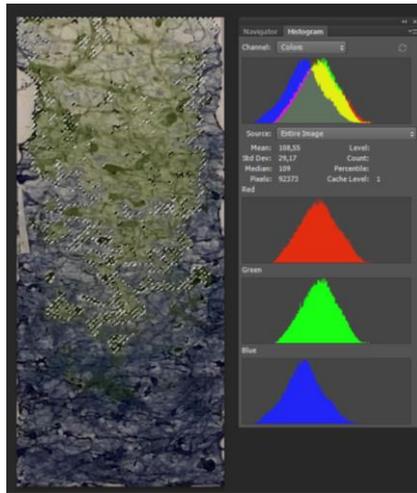
Taip pat galima pasinaudoti programos *Photoshop* spalvinės analizės priemonėmis. Naudojant įrankį *Filter* → *Average* gaunama viso vaizdo vidutinė spalva. Pagal spalvos informaciją, pateiktą lange *Info* arba *Color Picker* (2.7 pav.), randama spalvos reikšmė RGB, CIELAB ar CMYK spalvų paletėje. Turint šiuos duomenis ir kontrolinio indikatoriaus vidutinę spalvą, naudojant formulę (3) galima nustatyti spalvos pokytį  $\Delta E$ .



**2.7 pav.** Vidutinės vaizdo spalvos nustatymas *Adobe Photoshop* priemonėmis: A – indikatoriaus vaizdas, B – gautas viso vaizdo spalvos vidurkis su spalvinėmis reikšmėmis įvairiose spalvinėse skalėse

## Žalios spalvos perėjimo į mėlyną įvertinimas, atliekant spalvinę vaizdo taškų (pikselių) analizę

Mėlynos ir žalios spalvos santykis įvertinamas atliekant indikatoriaus spalvinę analizę naudojant programos *Adobe Photoshop* įrankius. Pasirinkus atitinkamą spalvos toleranciją, pažymimi mėlynos ar žalios spalvos laukai. Pažymėtos srities taškų  $Q_{sp}$  skaičius nustatomas iš *Histogram* informacinio lango (2.8 pav.).



**2.8 pav.** Pažymėtos spalvinės srities taškų nustatymas *Adobe Photoshop* programoje

Žinant bendrą taškų skaičių  $Q_{viso}$ , sudarantį visą indikatoriaus vaizdą iš formulės (5) randame reikalingos spalvos išraišką procentais  $T_{sp}$ :

$$T_{sp} = \frac{Q_{sp}}{Q_{viso}} \times \frac{1}{100}; \quad (5)$$

Turėdami skaitmeninius indikatorių vaizdus, gautus skirtingais laiko momentais, galime nustatyti jų užpildymą žalia ir mėlyna spalva bei rasti kreivę, nusakančią žalios spalvos perėjimą į mėlyną, laiko atžvilgiu.

### 3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

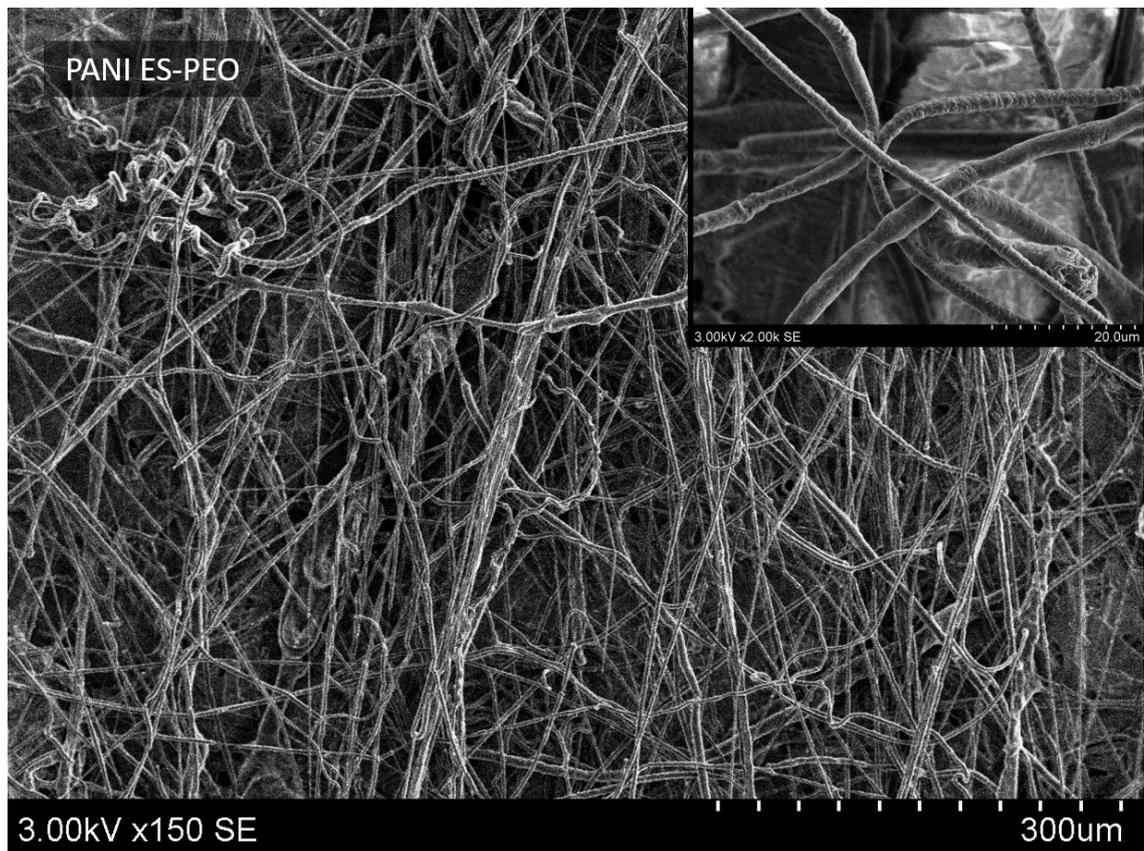
Šiame skyriuje pateikiami polianilino emeraldino druskos – polietilenoksido indikatorius struktūros ypatumai, pluoštą sudarančių gijų pasiskirstymas bei jų diametrų įvairovė. Taip pat aptariamos indikatorius sensorinės savybės ir spalvos pokyčius lemiantys veiksniai. Rezultatų analizės planas pateiktas 3.1 lentelėje.

3.1 lentelė. Rezultatų analizės planas

Indikatorius tyrimo objektas	Biogeninio amino – kadaverino rūšis	Tyrimo sąlygos	Tyrimo metodai	Rezultatų aprašymo vieta tekste
Morfologinės savybės	-	-	Skleidžiamosios elektroninės mikroskopija (vizualiai - akimi, programa <i>Image J</i> )	3.1.
Sensorinės savybės	Gryno kadaverino tirpalo garai	Pastovi kadaverino tirpalo koncentracija, kintantis laikas	Vizualus (akimi)	3.2.1. (antras atvejis)
			Spektrofotometrinė analizė (spektrofotodensitometru)	3.2.2. (pirmas atvejis)
			Skaitmeninio vaizdo kolorimetrinė analizė (programa <i>Adobe Photoshop</i> )	3.2.3. (antras atvejis)
		Pastovus laikas, kintanti kadaverino tirpalo koncentracija	Vizualus (akimi)	3.2.1. (pirmas atvejis)
			Spektrofotometrinė analizė (spektrofotodensitometru)	3.2.2. (antras atvejis)
			Skaitmeninio vaizdo kolorimetrinė analizė (programa <i>Adobe Photoshop</i> )	3.2.3. (pirmas atvejis)
	Natūraliai vištienos mėsoje susidarę kadaverino tirpalo garai	Pastovi kadaverino tirpalo koncentracija, kintantis laikas	Vizualus (akimi)	3.4.1.
			Spektrofotometrinė analizė (spektrofotodensitometru)	3.4.2.
			Skaitmeninio vaizdo kolorimetrinė analizė (programa <i>Adobe Photoshop</i> )	3.4.3.

#### 3.1. Indikatorius morfologinės savybės

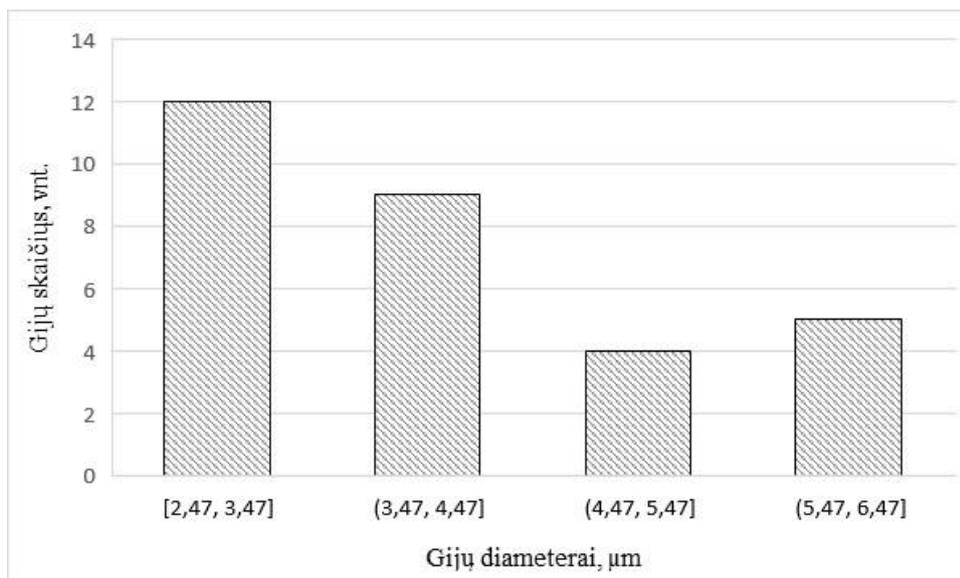
Elektrinio verpimo būdu gautas polianilino emeraldino druskos – polietilenoksido indikatorius. Skleidžiamosios elektroninės mikroskopijos metodu akivaizdžiai matomi indikatorius pluoštą sudarančių gijų išsidėstymas, forma, dydis bei paviršiaus savybės (3.1 pav.).



**3.1 pav.** Polianilino emeraldino druskos – polietilenoksido indikatoriaus morfologija, esant 150 ir 2000 kartų didinimui.

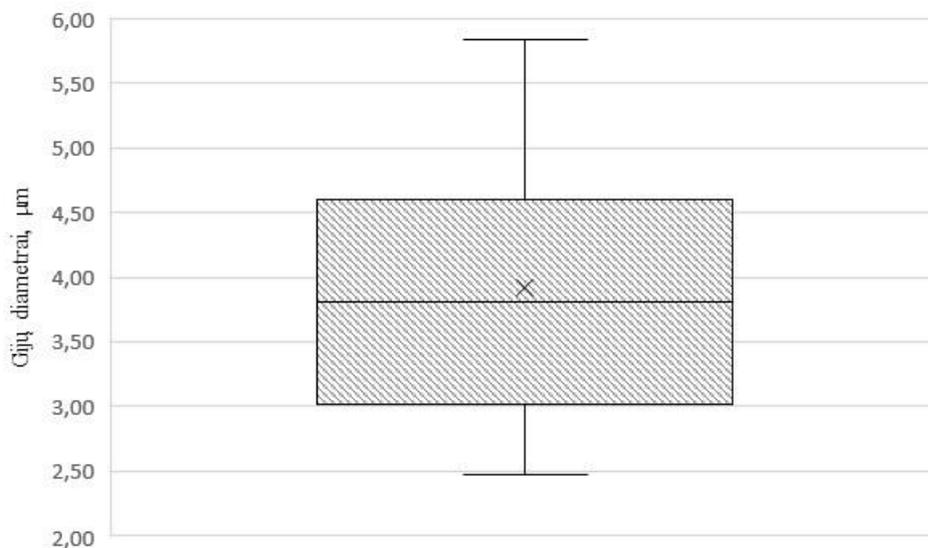
3.1 paveiksle matomas ganėtinai netolygus mikropluoštas. Pluoštą sudarančios gijos – cilindro formos, išsidėsčiusios chaotiškai, tarpusavyje nesulipusios. Vietomis matomas gijų netolygumas, aiškinamas dėl jų viduje įstrigusių smulkių polianilino emeraldino druskos dalelių, nes polimeras – polianilinas yra itin netirpus. Todėl ruošiant polianilino emeraldino druskos ir polietilenoksido tirpalą šimtaprocentinis išsimašymas nepasiekiamas. O smulkiausias polianilino emeraldino druskos dalelės nėra sugaunamos net ir filtravimo metu. Pluošto netolygumas ir chaotiškas gijų išsidėstymas, indikatoriaus jautrumui įtakos neturi. 3.1 paveiksle matomi tarp gijų esantys įvairaus dydžio tarpai, kurie suteikia mėginiui porėtumą. Ši savybė, pasiekta elektrinio verpimo metu, yra itin naudinga indikatoriaus jautrumui. Kadangi polianilino emeraldino druskos – polietilenoksido indikatorius yra jautrus kadaverino dujoms, pastarosios gali laisviau judėti porėtame indikatoriuje ir prisijungti prie aktyviųjų centrų ne tik per visą paviršiaus plotą, bet ir visame tūryje. Šis mikropluošto struktūros privalumas yra itin svarbus indikatoriaus jautrumui.

Naudojant kompiuterinę programą *ImageJ* buvo apskaičiuoti indikatoriaus mikropluoštą sudarančių gijų diametrai. Jie varijuoja nuo 2,47 iki 5,84  $\mu\text{m}$ . Grafiškai gijų diametrų pasiskirstymas pavaizduotas 3.2 paveiksle.



**3.2 pav.** Gijų diametrų pasiskirstymas intervaluose

3.2 pav. esančioje histogramoje matoma, kad gijų diametrai intervale 2,47 iki 3,47  $\mu\text{m}$  sudaro didžiąją dalį visų šiame mėginyje įvertintų gijų diametrų. T.y. dvylikos gijų diametrai yra iki 3,47  $\mu\text{m}$ , o tai sudaro 40 % visų įvertintų gijų diametrų. Siekiant statistiškai įvertinti gautus duomenis, grafiškai pateikti vidurkio ir standartinio nuokrypio reikšmes, iš gijų diametrų skaitinių verčių suformuota statistinė diagrama (3.3 pav.).



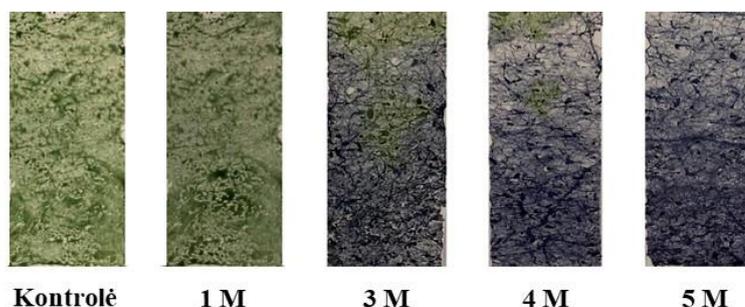
**3.3 pav.** Statistinis gijų diametrų įvertinimas

3.3 paveiksle pateiktas apskaičiuotų gijų diametrų aritmetinis vidurkis, lygus 3,9  $\mu\text{m}$  ( $\times$  simbolis). Stačiakampės diagramos viduryje esanti linija atitinka medianos vertę – 3,8  $\mu\text{m}$ . O viršutinė ir apatinė stačiakampio kraštinės vaizduoja standartinį nuokrypį, lygų 1,06, kuris rodo, kiek nuo vidurkio nutolusios gijų diametrų reikšmės.

## 3.2. Indikatoriaus jautrumo grynam kadaverino tirpalui rezultatų analizė

### 3.2.1. Vizualusis vertinimas

Visų pirma įvertintas indikatoriaus jautrumas skirtingoms kadaverino garų koncentracijoms. Panaudojus 1 M, 3 M, 4 M, 5 M kadaverino tirpalus, sandariuose mėgintuvėliuose atitinkamai gautos  $0,016 \text{ g/m}^3$ ,  $0,061 \text{ g/m}^3$ ,  $0,093 \text{ g/m}^3$ ,  $0,135 \text{ g/m}^3$  kadaverino garų koncentracijos. Mėgintuvėliai su prie dangtelio pritvirtintais indikatoriais sandariai laikomi 24 valandas. Laikui praėjus stebimas rezultatas (3.4 pav.).

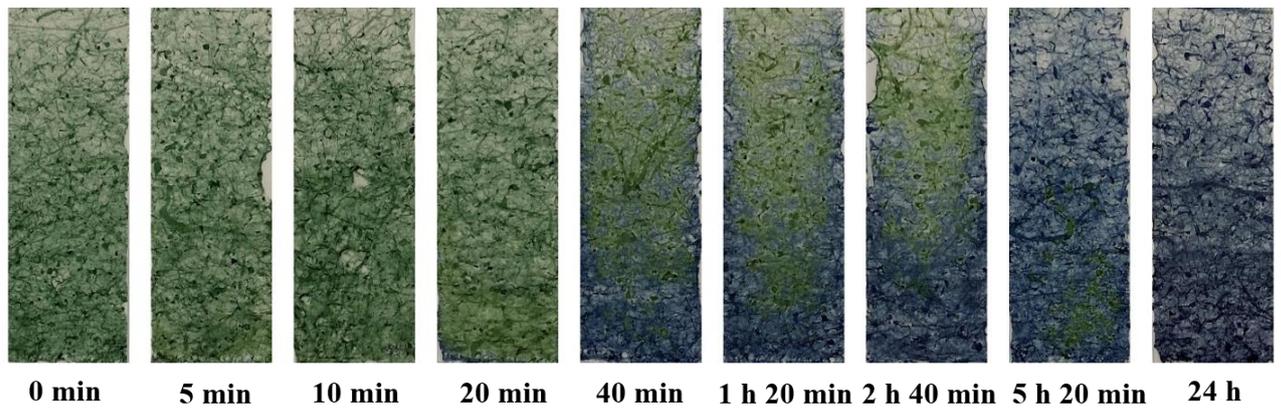


**3.4 pav.** Indikatoriaus spalviniai pokyčiai esant skirtingoms kadaverino tirpalo koncentracijoms pastoviam laike

Remiantis aprašyta tyrimo metodika, stebimas indikatoriaus spalvos pasikeitimas iš žalios į mėlyną. 3.4 paveiksle matoma, kad po 24 val. indikatoriaus sąveikos su 1 M kadaverino tirpalo garais, kurių koncentracija sandariame mėgintuvėlyje lygi  $0,016 \text{ g/m}^3$ , spalvos pokytis nefiksuojamas. Todėl daroma išvada, kad biogeninio amino garų koncentracija yra per maža aptikti polianilino emeraldino druskos – polietilenoksido indikatoriumi. Paruošus 3 M kadaverino tirpalą, kurio garų koncentracija sandariame mėgintuvėlyje lygi  $0,061 \text{ g/m}^3$ , po 24 valandų matomas spalvos pokytis iš žalios į mėlyną. Tačiau galima pastebėti indikatoriaus matricoje esančių žalių plotų, kurie per 24 valandas savo spalvos nepakeitė. Panaši situacija stebima ir naudojant 4 M kadaverino tirpalo koncentraciją (kadaverino garų koncentracija sandariame mėgintuvėlyje  $0,093 \text{ g/m}^3$ ), tačiau tokiomis sąlygomis 24 val. laikytame indikatoriuje pastebima procentaliai mažiau žalių plotų. Optimalus efektas pasiektas naudojant 5 M kadaverino tirpalo koncentraciją. Šiuo atveju  $0,135 \text{ g/m}^3$  kadaverino garų koncentracija po 24 val. buvo pakankama, pilnai deprotonizuoti veikliąją indikatoriaus medžiagą – polianilino emeraldino druską, to rezultatas – mėlyna indikatoriaus spalva, be žalių plotų intarpo.

Įvertinus koncentracijos įtaką indikatoriaus spalvos pasikeitimams, toliau įvertinta spalvos pokyčių priklausomybė nuo laiko.

Prieš tai aprašyto bandymo metu aptikta tinkamiausia kadaverino garų koncentracija indikatoriaus spalvų pokyčiams stebėti ( $0,135 \text{ g/m}^3$  sandariame mėgintuvėlyje), todėl šio eksperimento metu paruošti identiški 5 M koncentracijos kadaverino tirpalai. Indikatorių pritvirtintų prie sandarių mėgintuvėlių dangtelių kontaktas su biogeninio amino garais nutrauktas skirtingais laiko momentais. Gauti spalvos pokyčiai matomi 3.6 pav.



**3.5 pav.** Indikatoriaus spalvos pokyčiai laike, naudojant 5 M kadaverino tirpalo garus

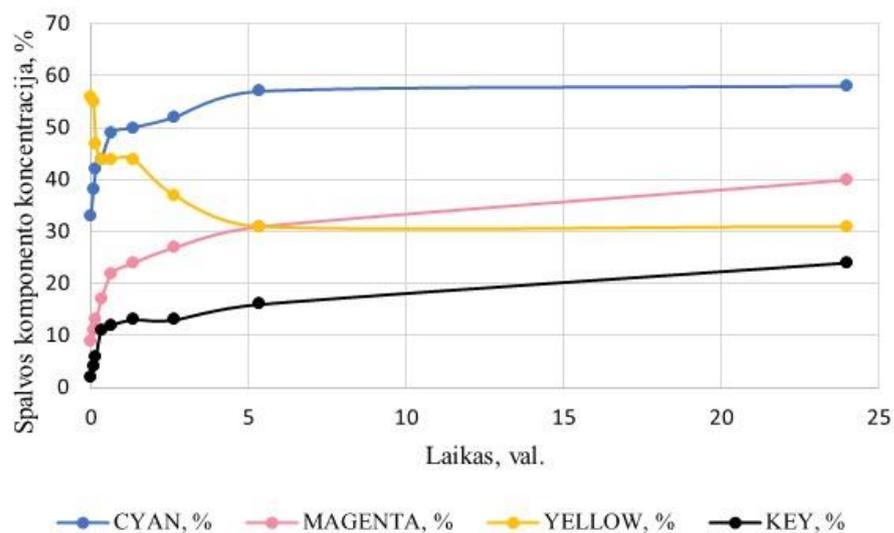
Indikatoriumi būdinga žalia spalva per tam tikrą laiką virsta vis labiau mėlyna. Šiuo atveju, akimi matomi spalvų pasikeitimai fiksuojami po 40 minučių sąveikos su  $0,135 \text{ g/m}^3$  biogeninio amino kadaverino garais.

Abiem būdais įvertintas indikatoriaus dominuojančių spalvų pasikeitimas patvirtina, kad elektrinio verpimo būdu gautas polianilino emeraldino druskos – polietilenoksido indikatorius yra jautrus biogeniniam aminui kadaverinui.

### 3.2.2. Spektrofotometrinės analizės rezultatai

Spektrofotometrinė analizė taip pat atlikta dviem atvejais, siekiant įvertinti indikatoriaus spalvos pokyčio priklausomybę nuo sąlyčio laiko su biogeniniu aminu ir nuo pačio biogeninio amino koncentracijos.

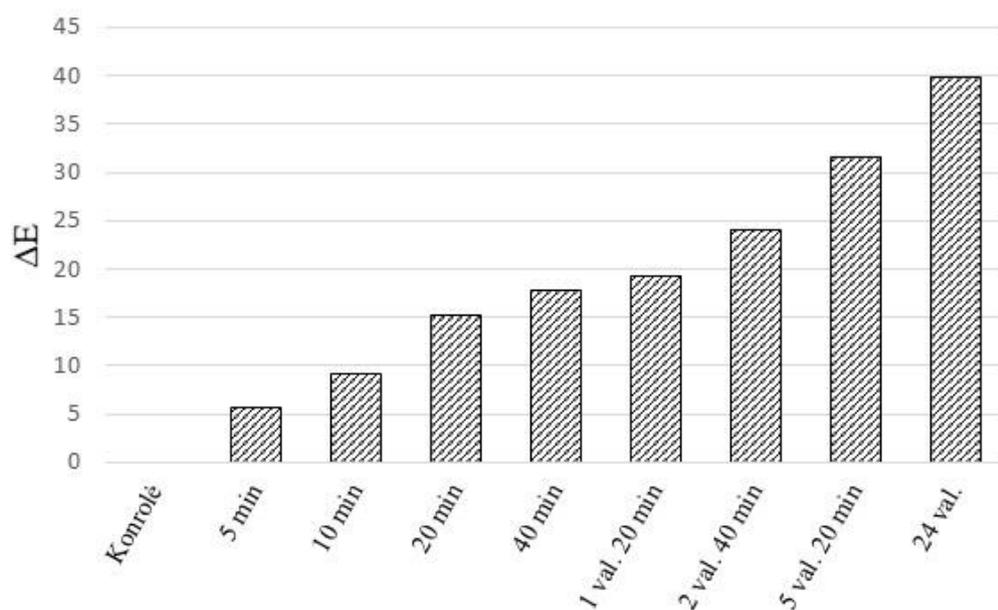
Pirmu atveju, kintant laikui, o koncentracijai esant pastoviai, įvertintos indikatoriaus spalvos procentinės vertės CMYK spalvų paletėje (3.6 pav.), spalvos skirtumo ( $\Delta E$ ) reikšmės (3.7 pav.), o spalvos koordinatės grafiškai atidėtos CIELAB spalvų erdvėje (3.8 pav.).



**3.6 pav.** Indikatoriaus spalvos komponentų koncentracijų pokyčiai CMYK spalvų paletėje, per laiko vienatę, sąveikoje su grynu biogeninio amino kadaverino tirpalu

3.6 paveiksle pateikti žydros (CYAN), purpurinės (MAGENTA), geltonos (YELLOW) ir juodos (KEY) spalvų procentinės koncentracijos laike. Indikatorius pasižymi savybe, sąveikoje su biogeniu aminu keisti spalvą iš žalios į mėlyną, todėl grafike matomas mėlynos spalvos kreivės didėjimas per tam tikrą laiką. Žalios spalvos mažėjimas yra tiesiogiai susijęs su geltonos spalvos mažėjimu. Šis dėsningumas aiškinamas geltonos spalvos savybe, paslėpti mėlynos spalvos reikšmes, taip šviesinant mėginį [24]. Todėl, indikatorius juostelei mėlynuojant, geltonos spalvos kreivė krinta. Priešingai, juodos spalvos kreivė auga, tai rodo, kad mėginys bėgant laikui tamsėja, šiuo atveju, indikatorius keičia spalvą iš šviesesnės žalios į tamsesnę mėlyną. Purpurinės spalvos kreivė taip pat kyla, tai aiškinama, tamsesniame mėginyje lokaliai vyraujančiomis purpurinės spalvos užuomazgomis, kurios beveik nematomos akimi. Apžvelgus visas gautas CMYK spalvų skalės kreives, galima daryti išvadą, kad indikatorius tampa vis mėlynesnis, ilgiau sąveikaujant su kadaverino garais. Tokia priklausomybė gali būti aiškinama tuo, kad kadaverino garai per ilgesnį laiko tarpą prisijungia prie daugiau indikatoriaus aktyviųjų centrų ir šis yra vis labiau deprotonizuojamas.

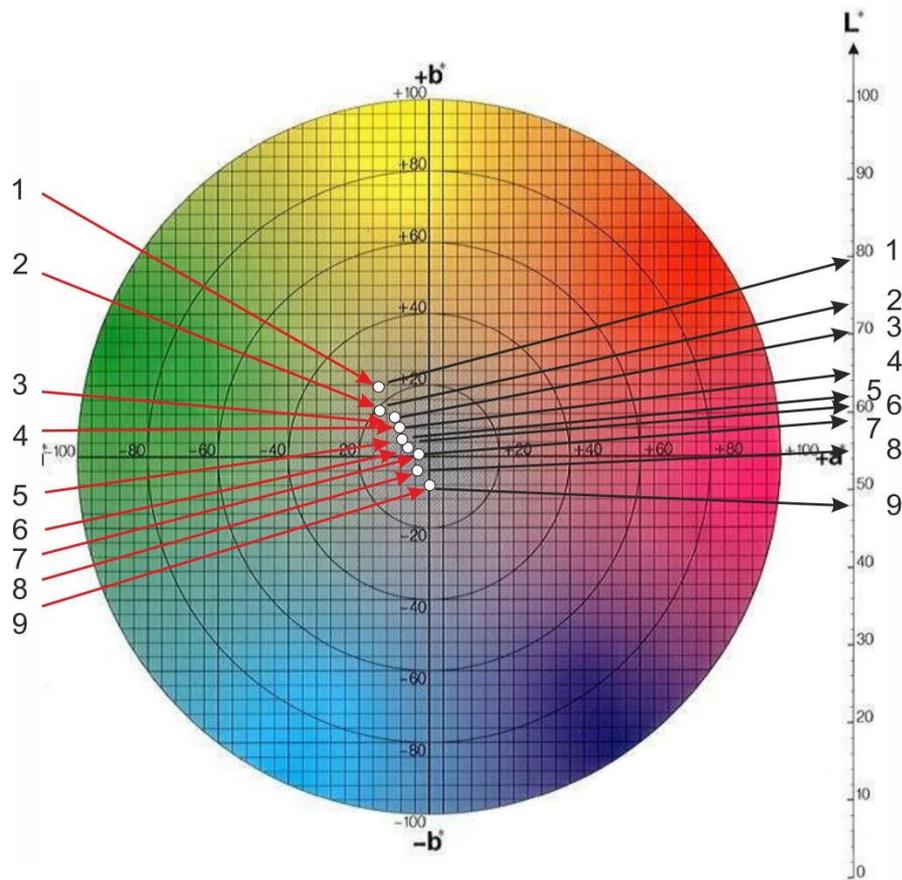
Įvertinus indikatoriaus pokyčius CMYK spalvų skalėje, toliau išnagrinėtas bendrasis spalvos skirtumas  $\Delta E$ , skirtingu laiku nutraukus indikatorių sąveiką su kadaverino garais. Visų mėginių spalvos skirtumai lyginami su kontroliniu mėginiu (3.7 pav.).



**3.7 pav.** Indikatoriaus spalvos skirtumas ( $\Delta E$ ) per laiko vienetą, matuotas su spektrofotodensitometru

Analizuojant 3.6 paveikslą, padaryta išvada, kad per tam tikrą laiką indikatorius iš jam būdingos žalios spalvos tampa vis labiau mėlynas. Spalvos pasikeitimo teoriją patvirtina ir 3.7 paveiksle grafiškai pavaizduotas  $\Delta E$  reikšmės didėjimas per tam tikrą laiko vienetą. Kuo  $\Delta E$  reikšmė didesnė, tuo mėginys labiau skiriasi nuo kontrolinio. Šiuo atveju, kontroliniame mėginyje yra tik žalia spalva, o po tam tikro laiko pradeda vyrauti mėlyna. Todėl mėginių  $\Delta E$  reikšmės lyginant su kontrole proporcingai vis didėja (mėginiai mėlynuoja), o po 24 val. fiksuojama didžiausia  $\Delta E$  vertė, patvirtinanti, kad indikatoriaus spalva labiausiai skiriasi nuo kontrolinio mėginio spalvos.

Norint pamatyti indikatoriaus spalvinius pokyčius erdveje, spektrofotodensitometru gautos  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  vertės atidėtos CIELAB spalvų paletę vaizduojančioje diagramoje (3.8 pav.).

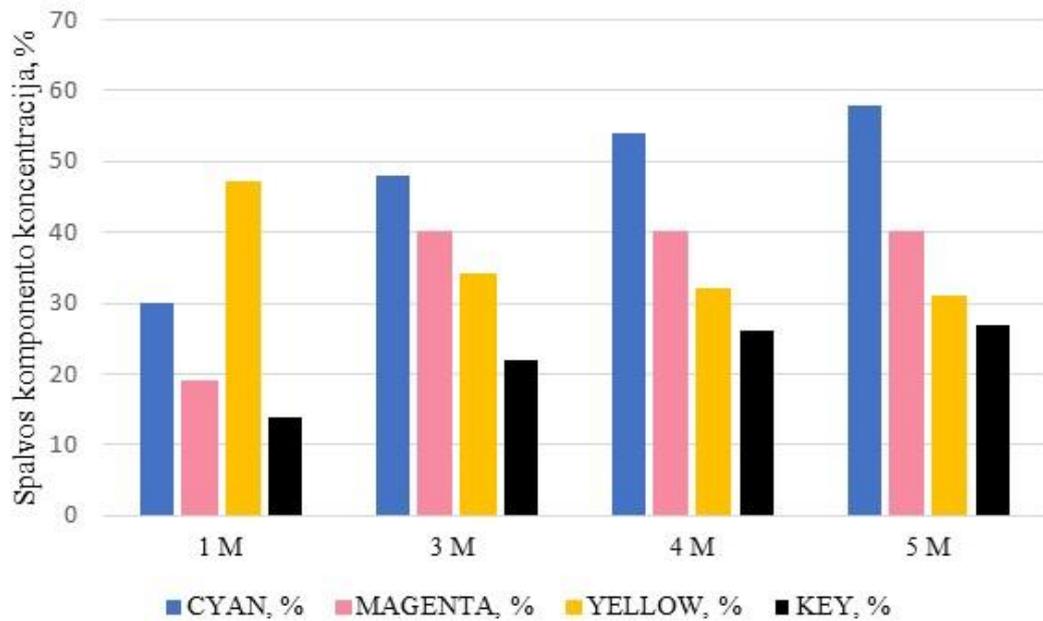


**3.8 pav.** Indikatoriaus spalvos koordinatų pokyčiai CIELAB spalvų erdvėje laiko atžvilgiu, po sąveikos su 5 M kadaverino tirpalo garais. 1 – kontrolinio indikatoriaus koordinatės; 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 – indikatorių koordinatės, po 5, 10, 20, 40, 1 val. 20 min, 2 val. 40 min, 5 val. 20 min, 24 val. sąveikos su kadaverino tirpalo garais.

3.8 paveiksle matomi taškai yra indikatoriaus spalvos, po sąveikos su 5 M kadaverino tirpalo garais, tam tikru laiko momentu. Kontrolinis indikatorius, neturėjęs sąveikos su kadaverinu, yra labiausiai nutolęs į geltonai žalios spalvos sritį ir turintis didžiausią šviesumą apibūdinančią  $L^*$  koordinatę, lyginant su kitais taškais. Indikatorių, tam tikrą laiką turėjusių sąlytį su kadaverino garais, spalvos taškai (2–9), sprendžiant pagal  $L^*$  koordinatę, išsidėstę tamsesniuose laukuose ir pasislinkę į mėlynai žalių spalvų laukus. Tokie spalviniai pokyčiai susiję su sąveikos kadaverino garais trukme – kuo ilgiau indikatorius buvo veikiamas kadaverino garais, tuo tapo mėlynesnis ir tamsesnis.

Antru atveju, kintant koncentracijai, o sąveikos laikui išliekant tokiam pačiam (24 val.), spektrofotometriškai įvertinta indikatoriaus spalvos priklausomybė nuo biogeninio amino koncentracijos. Vadovaujantis prieš tai pateiktais rezultatų analizės metodais, indikatoriaus spalvos pokyčiai įvertinti CMYK spalvų paletėje, nustatytos  $\Delta E$  reikšmės, o spalvos koordinatės grafiškai atidėtos CIELAB spalvų erdvėje.

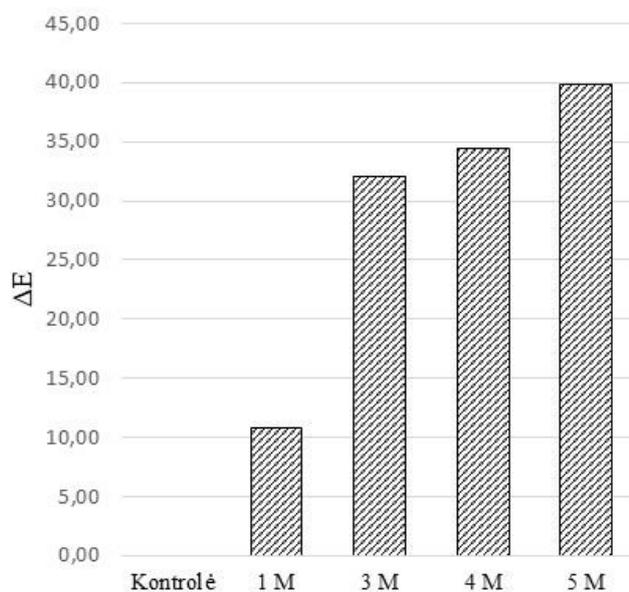
Indikatoriaus spalvos komponentų koncentracijų pokyčiai, esant pastoviam laikui ir kintančiai biogeninio amino koncentracijai pavaizduoti 3.9 paveiksle.



**3.9 pav.** Indikatoriaus spalvos komponentų koncentracijų pokyčiai CMYK spalvų paletėje, kintant gryno biogeninio amino kadaverino tirpalo koncentracijai

Didinant kadaverino tirpalo koncentraciją, lygiagrečiai didėja ir sandariame mėgintuvėlyje susidarančių kadaverino garų koncentracija. Tarpusavyje lyginant visų koncentracijų kadaverino tirpalus ir indikatoriaus reakcijas į juos, galima pastebėti, kad didinant kadaverino tirpalo koncentraciją nuo 1 M iki 5 M (garų koncentracija mėgintuvėlyje analogiškai didėja nuo  $0,016 \text{ g/m}^3$  iki  $0,135 \text{ g/m}^3$ ) žydros (CYAN) ir juodos (KEY) spalvų stulpeliai auga, tai reiškia indikatorius mėlynuoja ir tamsėja. Priešingas išsidėstymas matomas su geltonos (YELLOW) spalvos stulpeliais – šie mažėja, nes mėginys iš žalio, kuriame dominuoja geltona spalva, virsta į mėlyną, kuriame geltonos nedaug. Purpurinės (MAGENTA) spalvos reikšmingesnis šuolis fiksuojamas kadaverino tirpalo koncentracijai padidėjus iki 3 M, nes indikatorius patamsėja ir atsiranda purpurinės spalvos užuomazgų.

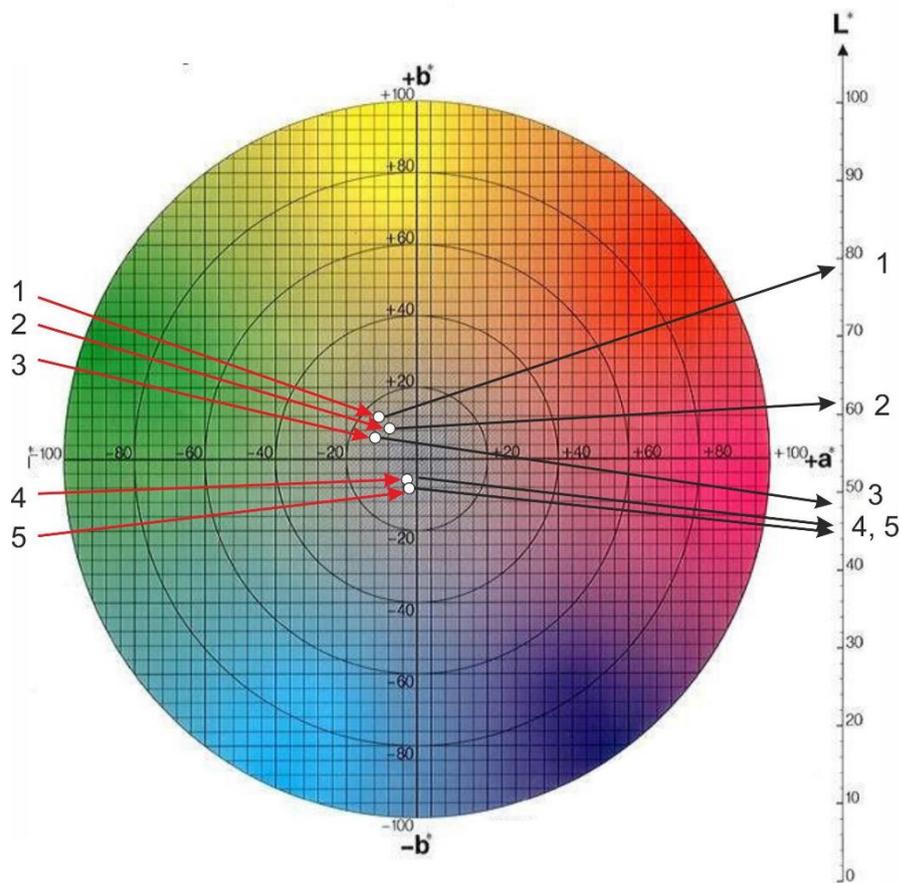
Išsiaiškinus, jog kadaverino koncentracijos didėjimas lemia indikatoriaus spalvos pokyčius, buvo apskaičiuotas spalvos skirtumas  $\Delta E$ . Šia reikšme siekiama kiekybiškai parodyti, kaip kadaverino koncentracijos didėjimas lemia spalvos skirtumus, lyginant su kontroliniu mėginiu (3.10 pav.).



**3.10 pav.** Indikatoriaus spalvos skirtumas ( $\Delta E$ ) kintant kadaverino koncentracijai, matuotas su spektrofotodensitometru

Pagal 3.10 paveikslo duomenis, akivaizdžiai matoma, kad skirtingose koncentracijose laikytų indikatorių spalva skiriasi nuo kontrolės. Mažiausias skirtumas, t. y. mažiausia  $\Delta E$  reikšmė fiksuojama esant 1 M koncentracijai. Toks spalvos skirtumas akimi yra vos matomas (3.4 pav.), tačiau užregistruojamas spektrofotodensitometru. Didesnės  $\Delta E$  vertės gautos indikatorių veikiant 4 M (garų koncentracija mėgintuvėlyje  $0,093 \text{ g/m}^3$ ) ir didžiausios 5 M (garų koncentracija mėgintuvėlyje  $0,135 \text{ g/m}^3$ ) kadaverino koncentracijomis.

Erdviniam indikatoriaus spalvų pokyčiui laiko atžvilgiu įvertinti spektrofotodensitometro  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  parodymai atidėti CIELAB spalvų paletėje (3.11 pav.).



**3.11 pav.** Indikatoriaus spalvos koordinatų pokyčiai CIELAB spalvų erdvėje, po sąveikos su atitinkamos koncentracijos kadaverino tirpalo garais. 1 – kontrolinio indikatoriaus koordinatės; 2, 3, 4, 5 – indikatorių koordinatės, po sąveikos su 1 M, 3 M, 4 M, 5 M kadaverino tirpalo garais.

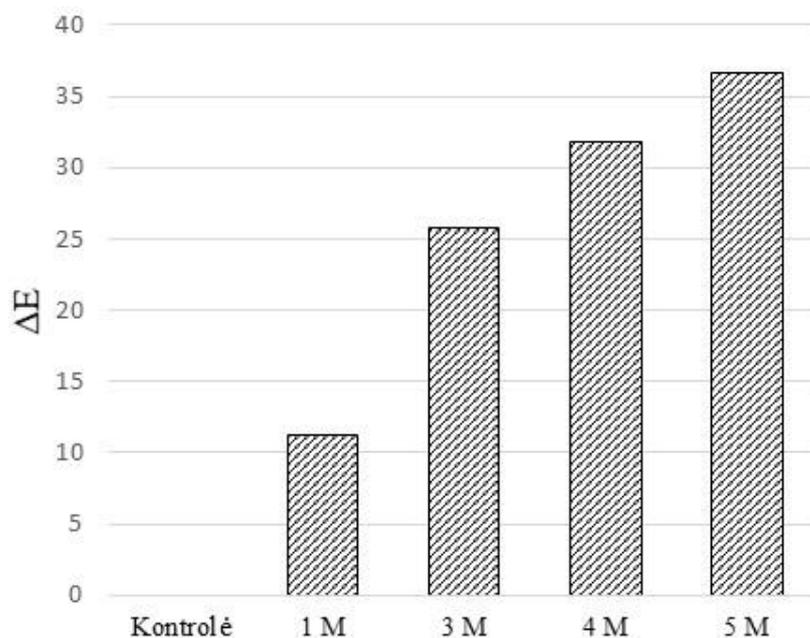
3.11 paveiksle matoma, kad kontrolinio mėginio taško pozicija yra labiausiai nutolusi į geltonai žalios spalvos sritį ir yra pati šviesiausia pagal  $L^*$  reikšmę. Kadaverino koncentracijai didėjant, taškai vis labiau leidžiasi link mėlynai žalios spalvos laukų, o mėginio šviesumą apibūdinanti  $L^*$  koordinatės vertė mažėja, tai reiškia mėginiai tamsėja. Taigi, erdviškai pateikti duomenys dar kartą patvirtina, jog didėjant kadaverino koncentracijai, mėginiai keičia spalvą iš žalios į mėlyną tuo pačiu tamsėdami.

Taigi naudojant spektrofotodensitometrą *X-RiteColor*, sėkmingai įvertintas indikatoriaus jautrumas biogeniniam aminui kadaverinui.

### 3.2.3. Skaitmeninio vaizdo kolorimetrinės analizės rezultatai

Dar vienas būdas, įvertinti indikatoriaus jautrumui – naudojant skaitmeninio vaizdo kolorimetrijos metodą. Šiuo atveju panaudotas *Adobe Photoshop* programinės įrangos paketas. Indikatoriaus jutiminės savybės įvertintos jau anksčiau minėtais dviem atvejais: keičiant kadaverino koncentraciją ir sąveikos laiko trukmę. Skaitmeninio vaizdo kolorimetrijai naudotos 3.4 pav. ir 3.5 pav. pateiktos nuotraukos, padarytos sukonstruotoje dėžėje – fotostudijoje (angl. *Mini FotoStudio Box*).

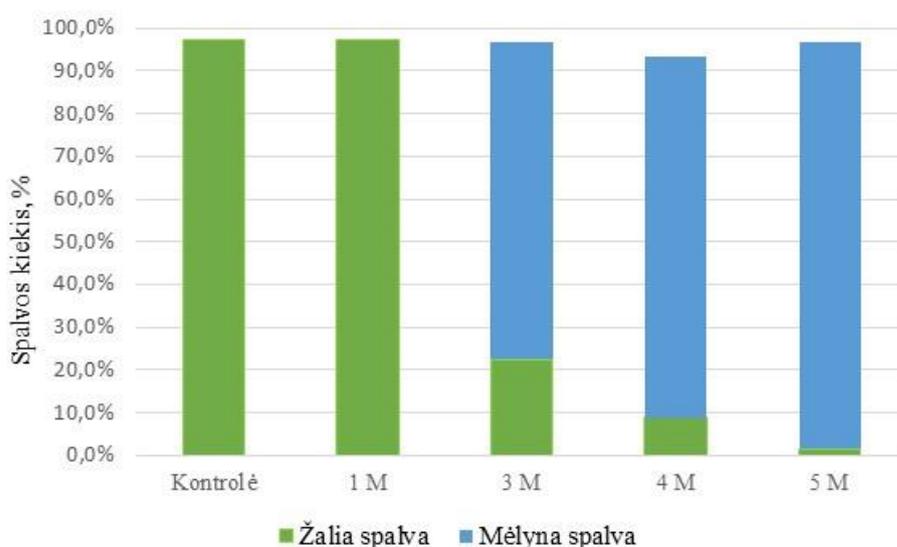
Pirmiausia iširta kadaverino koncentracijos įtaka indikatoriaus jautrumui. Paranku tai, kad naudojant kompiuterines programas iš nuotraukų galima apskaičiuoti daugelį tokių pačių parametų, kaip ir spektrofotodensitometru, tačiau yra atliekama viso mėginio ploto spalvinė analizė. Todėl su *Adobe Photoshop* programinės įrangos paketu ir 4 formule, apdorojus 3.4 paveikslą buvo nustatyta spalvos skirtumo  $\Delta E$  reikšmė (3.12 pav.).



**3.12 pav.** Indikatoriaus spalvos skirtumas ( $\Delta E$ ) kintant kadaverino koncentracijai, matuotas su kompiuterine programa *Adobe Photoshop*

3.12 paveiksle esantys duomenys patvirtina, jau prieš tai gautus spalvos skirtumo rezultatus, matuojant spektrofotodensitometru (3.10 pav.). Spalvos skirtumas  $\Delta E$  priklauso nuo pasirinktos kadaverino tirpalo koncentracijos. Esant didesnei kadaverino garų koncentracijai, o laikui pastoviam,  $\Delta E$  vertę apibūdinantys diagramos stulpeliai didėja, tai reiškia, kad spalvos pokytis yra intensyvesnis.

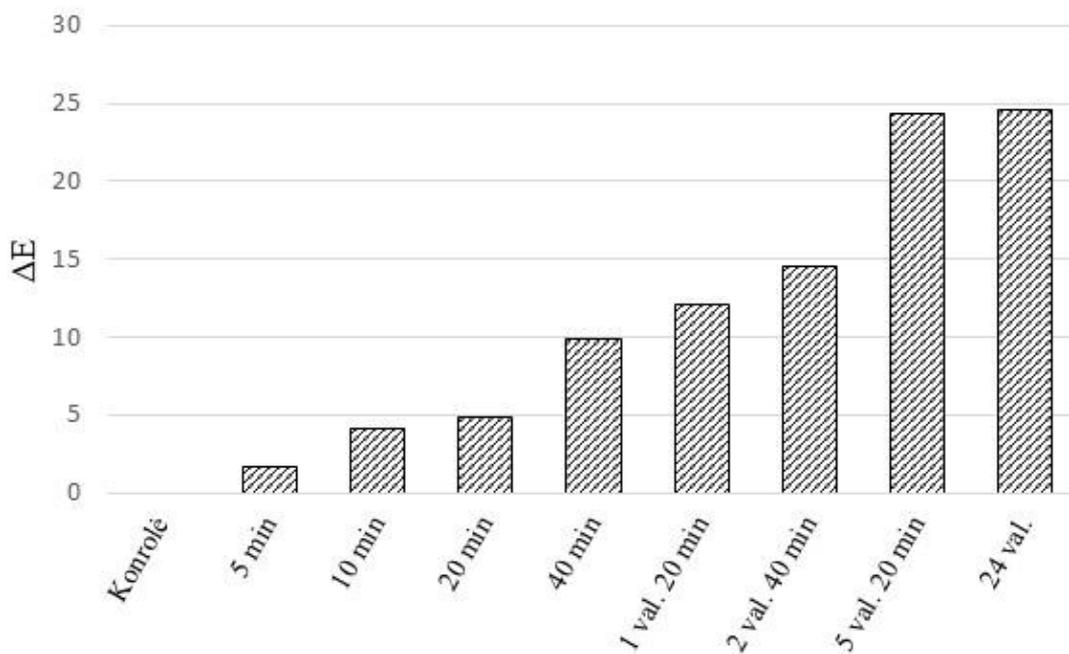
Kompiuterinių programų panaudojimas praplečia tyrimo rezultatų analizės galimybes dėl savo pagalbinių funkcijų gausos. Viena iš tokių funkcijų – žalios spalvos perėjimo į mėlyną įvertinimas, atliekant spalvinę vaizdo taškų (pikselių) analizę, buvo atliktas ir šiuo atveju (3.13 pav.) apdorojus 3.4 paveiksle matomus indikatorių fragmentus.



**3.13 pav.** Indikatoriuje vyraujančios spalvos įvertinimas, kintant kadaverino tirpalo koncentracijai

3.13 paveikslo diagramoje matomi ryškūs spalvų pasikeitimai indikatoriuje, kintant kadaverino tirpalo koncentracijai. Kontroliniame ir paveiktame 1 M kadaverino tirpalo garais mėginyje dominuoja žalia spalva. Padidinus biogeninio amino tirpalo koncentraciją iki 3 M, matomas ryškus vyraujančios spalvos pasikeitimas į mėlyną. Toliau keliant koncentraciją mažėja žalios ir atitinkamai daugėja mėlynos spalvos.

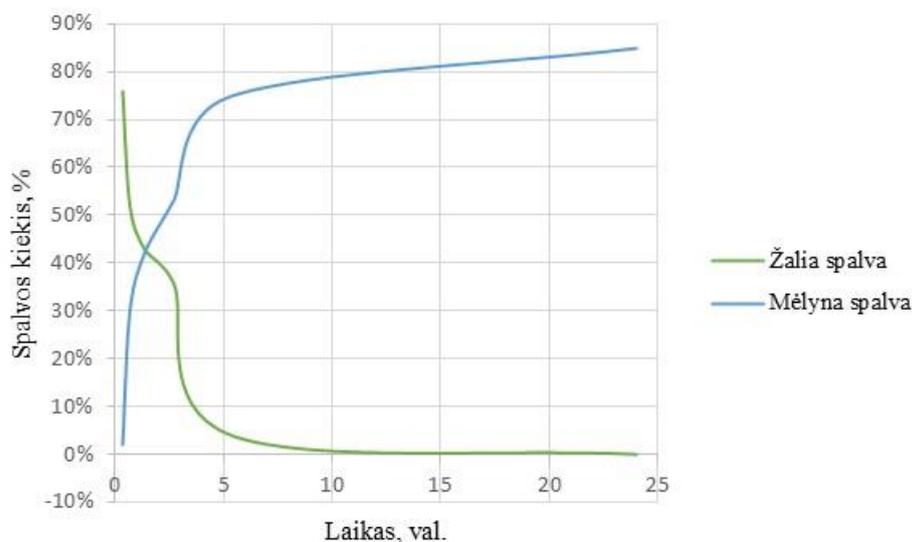
Antruoju atveju, tęsiant pradėtą rezultatų analizės chronologiją ir naudojant kompiuterinę programą,  $\Delta E$  reikšmė nustatyta keičiantis indikatoriaus sąveikos laikui su 5 M kadaverino tirpalo garais (3.14 pav.).



**3.14 pav.** Indikatoriaus spalvos skirtumas ( $\Delta E$ ) per laiko vieneta, matuotas su kompiuterine programa *Adobe Photoshop*

Remiantis 3.15 paveikslo duomenimis matomas spalvos skirtumo  $\Delta E$  reikšmės didėjimas, ilgėjant indikatoriaus sąveikos su kadaverinu trukmei. Lyginant kontrolinį mėginį ir mėginį, gautą po 24 val. kontakto su kadaverino garais, pastarajame fiksuojama didžiausia  $\Delta E$  reikšmė, tai reiškia, šie mėginiai tarpusavyje skiriasi labiausiai. Tokia priklausomybė jau buvo įvertinta 3.7 paveiksle, rezultatus matuojant spektrofotodensitometru. Abiem metodais gautuose rezultatuose nustatyti tie patys dėsningumai.

Žalios spalvos perėjimas į mėlyną, po tam tikrą laiką vykusios indikatoriaus sąveikos su kadaverino garais, užfiksuotas 3.15 pav.

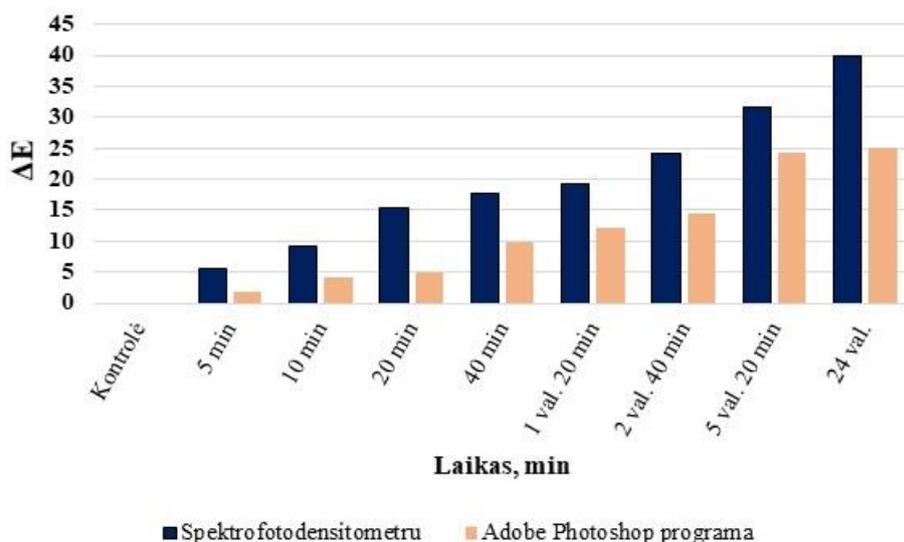


**3.15 pav.** Indikatoriuje vyraujančios spalvos įvertinimas, kintant sąveikos kadaverino tirpalo garais laikui

Remiantis 3.15 paveikslo duomenimis, po 24 val. trukusio indikatoriaus ir kadaverino garų kontakto, grafike pastebimas pastovus žalios spalvos kreivės žemėjimas, reiškiantis pastoviai mažėjantį žalios spalvos kiekį, ir mėlynos spalvos kreivės kilimas, kuris aiškinamas per laiką didėjančiu mėlynos spalvos kiekiu indikatoriuje. Po 1,5 val. kontakto, pastebėtas kreivių susikirtimas, reiškiantis spalvų kiekių išsilyginimą. Šis kertinis taškas yra ženklas, nuo kurio indikatoriuje toliau pradeda vyrėti mėlyna spalva, o žalios kiekis procentaliai mažėja.

### 3.3. Spektrofotometrinių ir skaitmeninio vaizdo kolorimetrijos metodų palyginimas

Siekiant įvertinti abiejų metodų tikslumą, palygintos spalvos skirtumo  $\Delta E$  reikšmės, gautos spektrofotodensitometru ir *Adobe Photoshop* programa, skirtingu laiku, po indikatoriaus sąveikos 5 M kadaverino tirpalo garais (3.16 pav.).



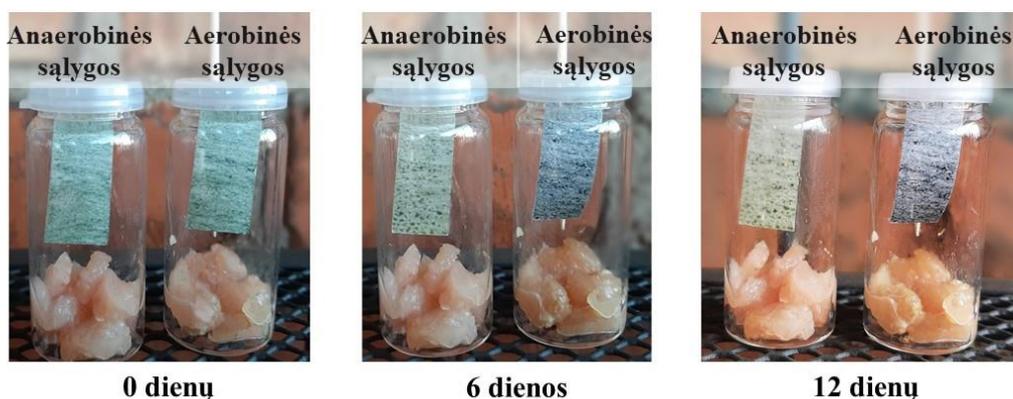
**3.16 pav.** Spektrofotometrinių ir skaitmeninio vaizdo kolorimetrijos metodų palyginimas

3.16 paveiksle matoma, kad spektrofotodensitometru užfiksuotos spalvos skirtumo reikšmės didesnės, nei gautos atlikus analizę *Adobe Photoshop* programa. Toks  $\Delta E$  verčių skirtumas tarp

metodų gali būti paaiškinamas tiriamojo ploto dydžiu. *Adobe Photoshop* programa analizuojamas visas mėginio paviršius, į kurį patenka ir baltos spalvos tarpai tarp indikatorių sudarančių gijų. Todėl apskaičiuotas bendras spalvos vidurkis yra šviesesnis nei matuojant ribotą mažesnę plotą spektrofotodensitometru. Dėl šios priežasties bandinių analizuojamų skaitmeninio vaizdo kolorimetrijos metodu  $\Delta E$  reikšmės lyginant su kontrole gaunamos mažesnės. Tačiau abiejų metodų rezultatai patvirtina tendencingą spalvos kitimą laiko atžvilgiu ir gali būti taikomi kiekybinei spalvos skirtumo analizei.

### 3.4. Indikatoriaus jautrumo termiškai neapdorotai mėsai rezultatų analizė

Įsitikinus, jog indikatorius yra jautrus biogeniniam aminui kadaverinui, toliau atliktas tyrimas su neapdorotoje vištienos mėsoje natūraliai susidarančiais biogeniniais aminais. Atliktas eksperimentas pavaizduotas 3.17 paveiksle.



3.17 pav. Indikatoriaus spalvos pokyčiai laike, natūraliai susidarius biogeniniam aminui – kadaverinui

#### 3.4.1. Vizualusis vertinimas

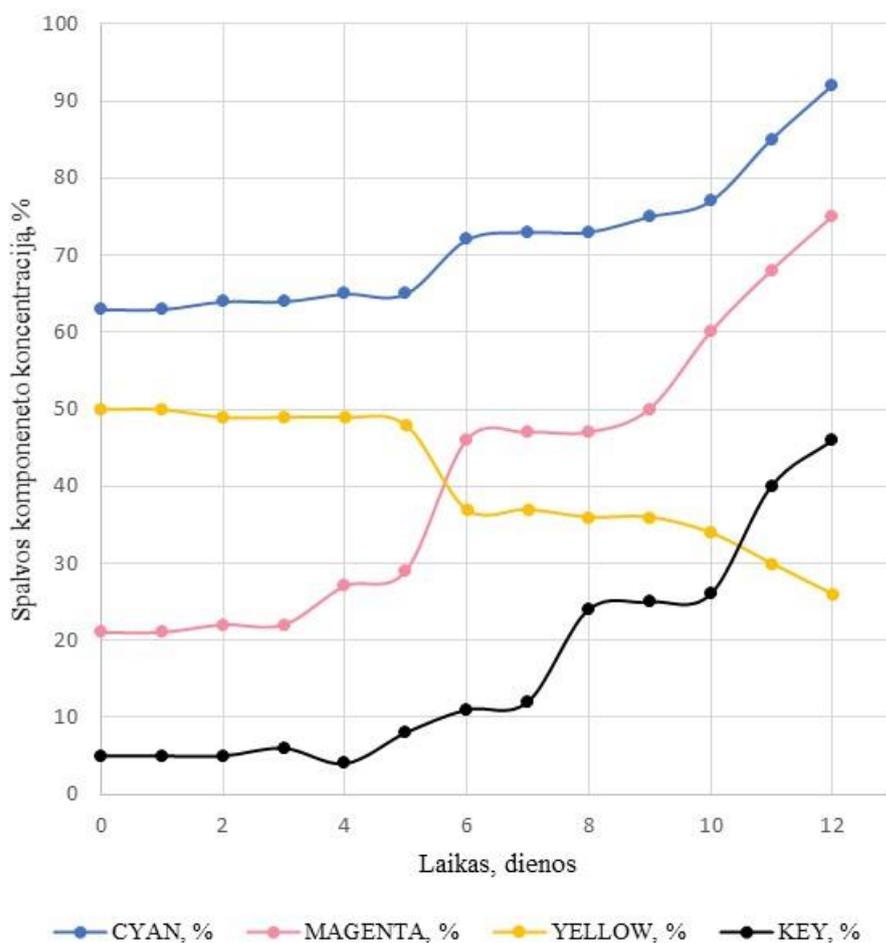
Paveiksle 3.17 matomi mėginiai tik įdėjus indikatorių į sandarų mėgintuvėlį su neapdorota vištienos mėsa, po šešių ir dvylikos dienų tyrimo. Tokie mėginių variantai parinkti dėl akivaizdžiausiai paprasta akimi pastebimo indikatoriaus spalvos pokyčio, kuris aerobinėmis sąlygomis matomas praėjus šešioms dienoms nuo tyrimo pradžios. Dvyliktąją eksperimento dieną aerobinėmis sąlygomis, mėlyna spalva tapo pati intensyviausia ir daugiau nesikeitė. Anaerobinėmis sąlygomis laikomi indikatoriai spalvos nepakeitė, todėl galima teigti, kad didžioji dalis mėsoje esančių aminorūgščių dekarboksilinimo reakcijoje dalyvavusių bakterijų buvo aerobinės. Indikatoriaus žalios spalvos pasikeitimas į mėlyną įvyko jam pradėjus reaguoti į tam tikrą susidariusio biogeninio amino – kadaverino koncentraciją, kuri dvyliktą dieną tapo didžiausia.

#### 3.4.2. Spektrofotometrinių analizės rezultatai

Stebint natūraliai susidariusio kadaverino įtaką indikatoriaus spalvai, buvo atlikta spektrofotometrinė analizė. Naudojant spektrofotodensitometrą apskaičiuotos indikatoriaus spalvos komponento procentinės koncentracijos (3.18 pav.), spalvos skirtumo  $\Delta E$  reikšmės (3.19 pav.) bei spalvos koordinatų pokyčiai CIELAB spalvų erdvėje (3.20 pav.).

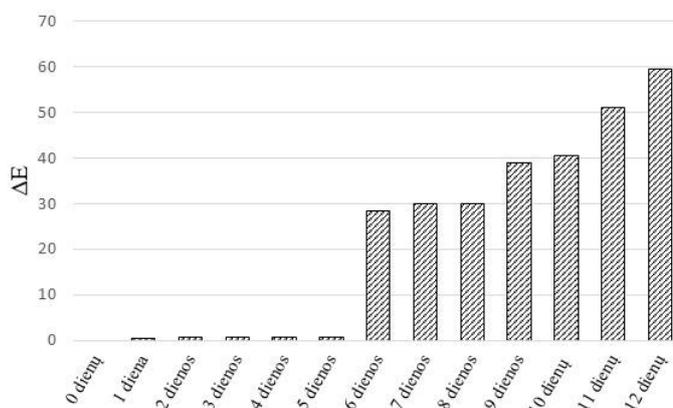
3.18 paveiksle matoma jau prieš tai aptarta indikatoriaus spalvos pasikeitimo tendencija. Laikui bėgant žydros spalvos (CYAN) kreivė kyla, geltonos spalvos (YELLOW) kreivė leidžiasi. Kadangi indikatorius per laiką tamsėja, todėl pastebimas ir juoda spalvą (KEY) apibūdinančios kreivės

kilimas. Purpurinė spalva (MAGENTA) taip pat pradeda dominuoti mėginyje suteikdama jam violetinės spalvos atspalvį.



**3.18 pav.** Indikatoriaus spalvos komponentų koncentracijų pokyčiai CMYK spalvų paletėje, per laiko vienetą, sąveikoje su natūraliai susidaranciais biogeniniais aminais

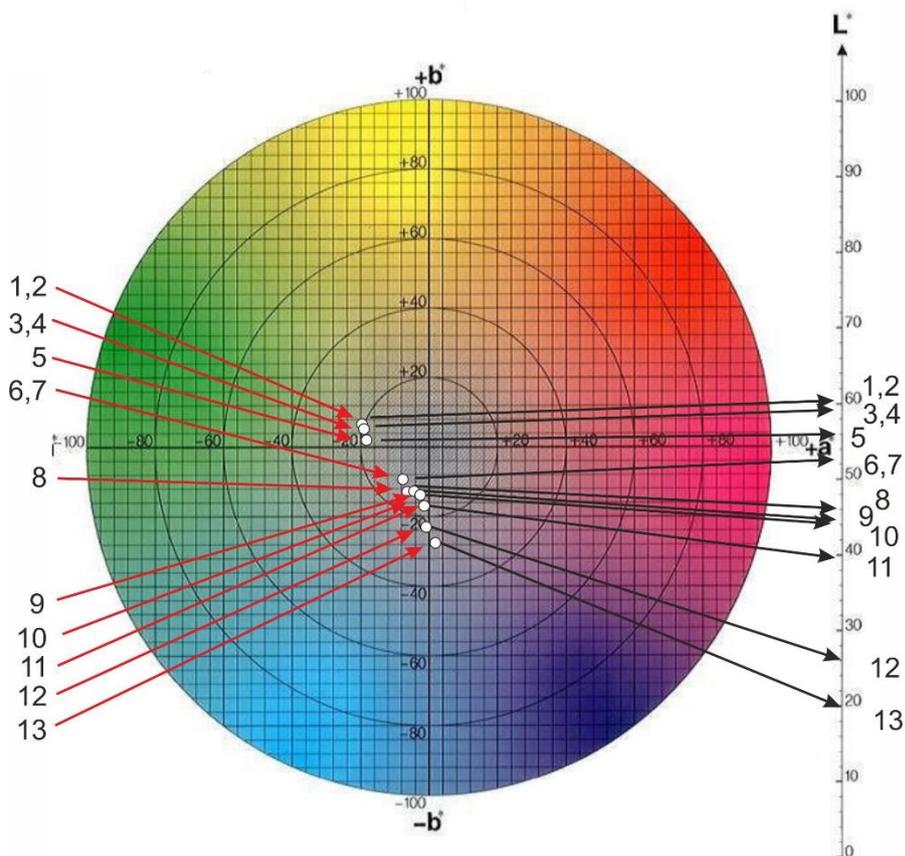
Siekiant tiksliau įvertinti kontrolinio indikatoriaus ir indikatorių sąveikavusių su natūraliai susidariusiais biogenu aminu spalvų skirtumus, spektrofotodensitometru įvertinta  $\Delta E$  reikšmė (3.19 pav.).



**3.19 pav.** Indikatoriaus spalvos skirtumas ( $\Delta E$ ) per laiko vienetą, sąveikoje su natūraliai susidaranciais biogeniniais aminais, matuotas spektrofotodensitometru

Paveiksle pateiktoje histogramoje pirmąsias penkias dienas pastebimas minimalus spalvos pokytis, lyginant su kontrole. Tai parodo žemi  $\Delta E$  verčių stulpeliai, kurie akivaizdžiai padidėja tik šeštąją dieną. Toliau laikui bėgant mėginiai tampa vis labiau mėlyni, o dvyliktąją dieną pasiekia didžiausią spalvos skirtumą lyginant su kontroliniu mėginiu.

Taip pat indikatoriaus spalvos koordinatėjų pokyčiai pavaizduoti ir CIELAB spalvų erdvėje (3.20 pav.).



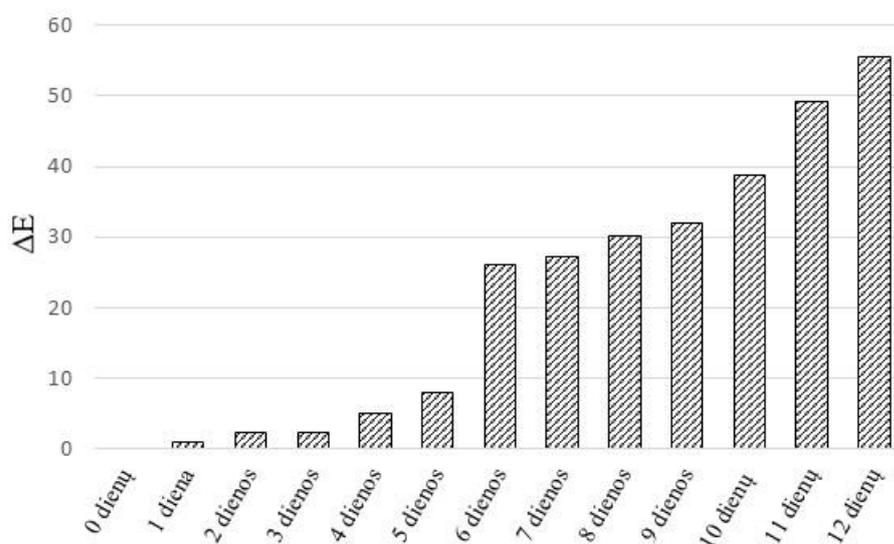
**3.20 pav.** Indikatoriaus spalvos koordinatėjų pokyčiai CIELAB spalvų erdvėje, po sąveikos su natūraliai susidariusiais kadaverino garais. 1 – kontrolinio indikatoriaus koordinatės; 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 – indikatorių koordinatės, po 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 dienų sąveikos su natūraliais susidariusiais biogeninio amino kadaverino garais.

Pirmieji taškai: 1, 2, 3, 4 ir 5 yra susitelkę šviesesnių spalvų srityje, geltonai žalios spalvos laukuose. Jų šviesumo koordinatėms  $L^*$  taip pat būdinga didžiausia vertė. Tolimesni taškai labiau pasislinkę link tamsesnių spalvų srities, mėlynai žalių spalvų lauko, o jų  $L^*$  reikšmė gerokai mažesnė, kadangi indikatoriaus spalva laikui bėgant tamsėja. 3.20 pav. aiškiai matoma atskirtis tarp 5-ojo ir 6-ojo spalvų taškų reiškia, kad reikšmingiausias indikatoriaus spalvos pasikeitimas iš žalio į mėlyną fiksuojamas šeštąją dieną.

### 3.4.3. Skaitmeninio vaizdo kolorimetrinės analizės rezultatai

Natūraliai susidariusio biogeninio amino – kadaverino įtaka polianilino emeraldino druskos – polietilenoksido indikatoriumi įvertinta ir skaitmeninio vaizdo kolorimetrinės analizės metodu.

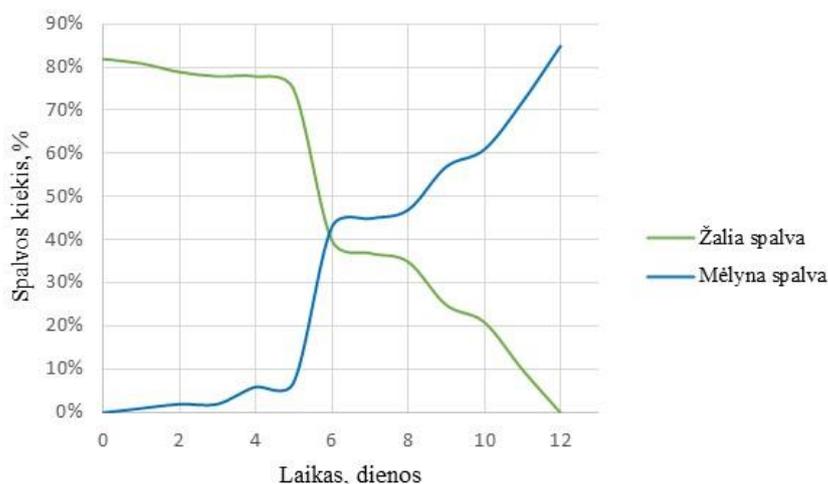
Pirmiausia *Adobe Photoshop* kompiuterine programa nustatyti indikatorių spalvų skirtumai, per laiko vieneta (3.21 pav.).



**3.21 pav.** Indikatoriaus spalvos skirtumas ( $\Delta E$ ) per laiko vieneta, sąveikoje su natūraliai susidarančiais biogeniniais aminais, matuotas su *Adobe Photoshop* kompiuterine programa

3.21 paveiksle matomas  $\Delta E$  reikšmės didėjamas per laiko vieneta. Per pirmąsias 5 dienas jis fiksuojamas neryškus, o šeštąją dieną intensyvesnis. *Adobe Photoshop* programa išmatuoti indikatoriaus spalvų skirtumai patvirtina dėsningumus, gautus spektrofotodensitometru ir įrodo, kad laikui bėgant indikatoriaus spalva vis labiau skiriasi nuo kontrolinio mėginio.

Toliau buvo įvertintas indikatoriaus žalios spalvos perėjimas į mėlyną, po tam tikrą laiką vykusios indikatoriaus sąveikos su natūraliai susidariusiais kadaverino garais (3.22 pav.).



**3.22 pav.** Indikatoriuje vyraujančios spalvos įvertinimas, kintant sąveikos laikui su natūraliai susidariusio kadaverino garais

Remiantis 3.22 paveikslo duomenimis, po dvylika dienų trukusių eksperimentų su natūraliai susidarančiu biogeniniu aminu kadaverinu neapdorotoje vištienos mėsoje, procentaliai įvertintas

žalios spalvos indikatoriuje mažėjimas ir mėlynos didėjimas. Taip pat fiksuojamas dominuojančios indikatoriaus spalvos pasikeitimas šeštąją bandymo dieną.

Tokia mėginio spalvos pokyčių analizė su *Adobe Photoshop* kompiuterine programa vertinant mėginio vaizdo taškus (pikselius) ir nustatant vyraujančią spalvą yra informatyvi bei suteikia papildomos vizualiai akimi ar spektrofotodensitometru neužfiksuojamos informacijos.

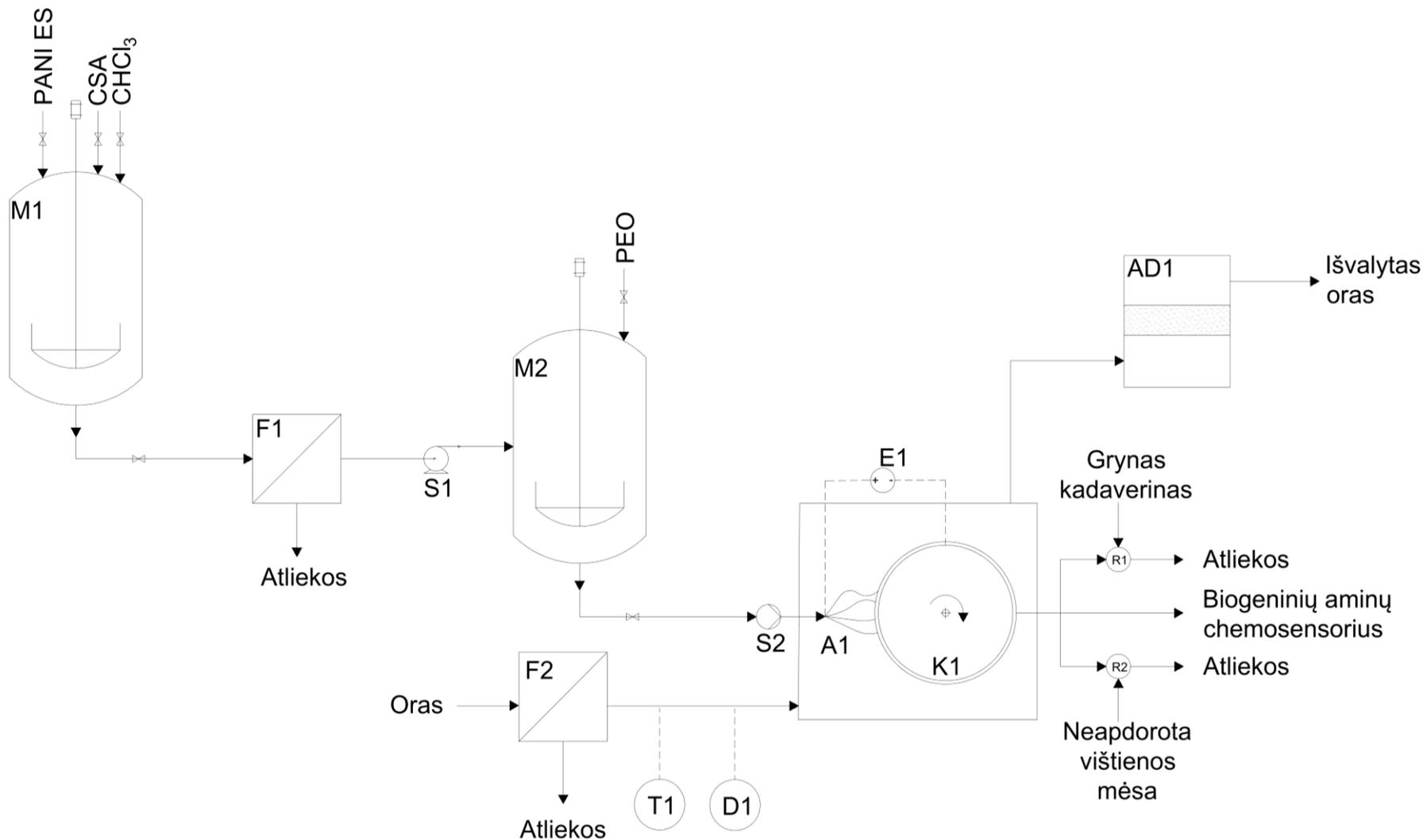
#### 4. Rekomendacijų dalis

Rekomendacijų dalyje pateikiama aparatūrinė polianilino emeraldino druskos – polietilenoksido indikatoriaus gamybos schema (4.1 schema). Joje vaizduojami pagrindiniai eksperimento etapai nuo pradinių žaliavų iki galutinio produkto. Naudojamų žaliavų santykiniai kiekiai priklauso nuo sintetinamų indikatorių kiekio.

Pirmojo etapo metu į maišyklę M1 tiekiami pradiniai reagentai. Maišyklėje miltelių pavidalo polianilino emeraldino druska (PANI ES) ir kamparosulfoninė rūgštis (CSA) užpilamos chloroformo tirpalu  $\text{CHCl}_3$ . M1 talpoje maišymas vykdomas 24 valandas, 23 °C temperatūroje. Praėjus duotajam laikui tirpalas išleidžiamas iš maišykles ir tiekiamas siurbliu S1 per filtrą F1, kuriame atskiriamas filtratas nuo nesureagavusių reagentų atliekų. Filtratas tiekiamas į maišyklę M2, kurioje pridedamas antrasis miltelių pavidalo polimeras polietilenoksidas (PEO). Kopolimerų mišinys maišomas 24 valandas 23 °C temperatūroje. Po 24 valandų gaunamas klampus dviejų polimerų tirpalas, tinkamas elektriniam verpimui.

Antrojo etapo metu vykdomas elektrinis verpimas. Iš M2 maišyklės išleidžiamas polimerų tirpalas ir švirkštine pompa S2 per švirkštą tiekiamas adatos A1 link. Naudojant aukštos įtampos nuolatinės srovės elektros šaltinį E1 sukuriama elektrinis laukas ir polimerinis tirpalas iš adatos A1 srovelėmis tiekiamas ant surinkimo kolektoriaus K1. Adata A1 bei kolektorius K1 yra uždaroje erdvėje, į kurią per filtrą F2 tiekiamas oras. Tiekiamo oro temperatūra ir drėgnumas stebimi naudojant termoporą T1 ir drėgmės matuoklį D1. Polimerinėms srovelėms judant link kolektoriaus tirpiklis garuoja, o srovelės skyla į plonesnes mikrogijas ir formuoja produktą. Ant besisukančio kolektoriaus surenkamas produktas – biogeninių aminių chemosensorius. Po elektrinio verpimo susidarę tirpiklio garai bei kitos pašalinės dujos surenkamos adsorberijoje AD1.

Siekiant patikrinti gauto produkto - chemosensoriaus kokybę, šis veikiamas biogeninio amino – kadaverino garais reaktoriuje R1 ir mėsoje natūraliai susidariusiais kadaverino garais reaktoriuje R2. Kokybės testavimui panaudoti produkto mėginiai pašalinami su atliekomis. Po indikatoriaus kokybės tyrimo reaktoriuose R1 ir R2, produktas yra patvirtinamas kaip tinkamas arba netinkamas naudojimui



**4.1 pav.** Aparatūrinė polianilino emeraldino druskos – polietilenoksido indikatoriaus gamybos schema. M1, M2 – maišyklės; F1, F2 – filtrai; S1 – centrifūginis siurblys; S2 – švirkštinė pompa; A1 – adata; K1 – kolektorius; E1 - aukštos įtampos nuolatinės srovės elektros šaltinis; T1 – termopora; D1 – drėgmės matuoklis; AD1 – adsorberis; R1, R2 – reaktoriai.

## Išvados

1. Elektrinio verpimo būdu pagamintas indikatorius, jautrus biogeniniam aminui – kadaverinui, atsirandančiam mikroorganizmų sukulto aminorūgščių dekarboksilinimo metu, gendančioje neapdorotoje mėsoje ar jos produktuose. Indikatoriaus morfologija ir mikrogijų pluošto porėtumas lėmė didesnę indikatoriaus jautrumą dujinei kadaverino junginio formai.
2. Susintetinto indikatoriaus jautrumas įrodytas jį veikiant gryno kadaverino tirpalo garais ir natūraliai susidariusio kadaverino garais neapdorotoje vištienos mėsoje. Indikatorius sureagavo į gryno biogeninio amino užuominas jo garų koncentracijai pasiekus  $0,061 \text{ g/m}^3$ , o optimalus spalvinis efektas pasiektas esant  $0,135 \text{ g/m}^3$  kadaverino koncentracijai. Palaikant pastovią  $0,135 \text{ g/m}^3$  kadaverino garų koncentraciją indikatorius ją aptinka po 40 min sąveikos. Natūraliai susidariusius biogeninio amino – kadaverino garus šviežioje neapdorotoje vištienos mėsoje, indikatorius aptiko po 6 dienų. Įvertinus, jog gamintojų rekomenduojamas neapdorotos vištienos mėsos suvartojimo laikas, užtikrinus tinkamas laikymo sąlygas, taip pat yra iki 6 dienų, galima teigti, kad indikatorius galėtų būti taikomas praktikoje, išsprendus iškilusius technologinius iššūkius.
3. Tyrimo rezultatų analizei išbandyti 2 metodai – tradicinis kolorimetrijos ir inovatyvus skaitmeninio vaizdo kolorimetrijos. Abiem būdais išanalizavus duomenis gauti tie patys dėsningumai, kurie patvirtina metodų patikimumą ir gautų rezultatų tikrumą. Nors nuo seno naudojami kolorimetrijos metodai spektrofotometru arba šiuo atveju spektrofotodensitometru yra tiksūs, tačiau naujų būdų, tokių kaip skaitmeninio vaizdo kolorimetrijos įtraukimas į rezultatų analizę leidžia mėginį išnagrinėti pateikiant išsamesnės ir įvairesnės informacijos.

## **Padėka**

Nuoširdžiai dėkoju Kauno technologijos universiteto Cheminės technologijos fakulteto Organinės chemijos katedros profesoriui dr. V. Getaučiui už tiriamajam darbui suteiktus reikalingus reagentus.

## Literatūros sąrašas

1. Pasaulinė sveikatos organizacija. Maisto sauga [interaktyvus]. [Žiūrėta 2020-12-12], prieiga per internetą <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>.
2. ZHAI, Mengyu, et al. Network analysis of different types of food flows: Establishing the interaction between food flows and economic flows. *Resources, Conservation and Recycling* [interaktyvus], 2019, 143: 143-153 [žiūrėta 2020-12-12]. doi:10.1016/j.resconrec.2018.12.016.
3. Mėsos suvartojimo pasaulinė statistika [interaktyvus]. [Žiūrėta 2020-12-12], prieiga per internetą <https://www.statista.com/statistics/739920/meat-consumption-worldwide-per-capita/>.
4. AJAYKUMAR, V. J.; MANDAL, Prabhat Kumar. Modern concept and detection of spoilage in meat and meat products. In: *Meat Quality Analysis* [interaktyvus]. Academic Press, 2020. p. 335-349 [žiūrėta 2020-12-12]. doi:10.1016/B978-0-12-819233-7.00018-5.
5. ZAGOREC Monique, CHAMPOMIER-VERGES Marie-Christine. Meat Microbiology and Spoilage: Iš: TOLDRA, Fidel et al. *Food Science, Technology and Nutrition*. Woodhead Publishing, 2017, pp. 187-203. ISBN 9780081006948.)
6. POTHAKOS, Vasileios, et al. Lactic acid bacteria and their controversial role in fresh meat spoilage. *Meat science* [interaktyvus], 2015, 109: 66-74 [žiūrėta 2020-12-12]. doi:10.1016/j.meatsci.2015.04.014.
7. GRIBBLE, Amanda; MILLS, John; BRIGHTWELL, Gale. The spoilage characteristics of *Brochothrix thermosphacta* and two psychrotolerant *Enterobacteriaceae* in vacuum packed lamb and the comparison between high and low pH cuts. *Meat science*, [interaktyvus] 2014, 97.1: 83-92 [žiūrėta 2020-12-12]. doi:10.1016/j.meatsci.2014.01.006.
8. MOLOGNONI, Luciano, et al. A multi-purpose tool for food inspection: Simultaneous determination of various classes of preservatives and biogenic amines in meat and fish products by LC-MS. *Talanta* [interaktyvus], 2018, 178: 1053-1066 [žiūrėta 2020-12-12]. doi:10.1016/j.talanta.2017.08.081.
9. JAIRATH, Gauri, et al. Biogenic amines in meat and meat products and its public health significance: a review. *Journal of Food Science and Technology* [interaktyvus], 2015, 52.11: 6835-6846 [žiūrėta 2020-12-12]. doi:10.1007/s13197-015-1860-x.
10. DE LA TORRE, César Aquiles Lázaro; CONTE-JÚNIOR, Carlos Adam. Chromatographic methods for biogenic amines determination in foods of animal origin. *Brazilian journal of veterinary research and animal science* [interaktyvus], 2013, 50.6: 430-446 [žiūrėta 2020-12-12]. doi:10.11606/issn.1678-456.v50i6p430-446.
11. SHUANG, C. U. I. Fresh-keeping Packaging for Fruits and Vegetables [J]. *Packaging Engineering* [interaktyvus], 2007, 4 [žiūrėta 2020-12-14]. doi:10.1016/j.tifs.2016.02.008.
12. ZHAI, Xiaodong, et al. A colorimetric hydrogen sulfide sensor based on gellan gum-silver nanoparticles bionanocomposite for monitoring of meat spoilage in intelligent packaging. *Food*

*chemistry* [interaktyvus], 2019, 290: 135-143 [žiūrėta 2020-12-14]. doi:10.1016/j.foodchem.2019.03.138.

13. VARLET, V.; FERNANDEZ, X. Sulfur-containing volatile compounds in seafood: occurrence, odorant properties and mechanisms of formation. *Food science and technology international* [interaktyvus], 2010, 16.6: 463-503 [žiūrėta 2020-12-14]. doi:10.1177/1082013210379688.

14. ALBRECHT, Antonia, et al. Implementation of time temperature indicators to improve temperature monitoring and support dynamic shelf life in meat supply chains. *Journal of Packaging Technology and Research* [interaktyvus], 2019, 1-10 [žiūrėta 2020-12-14]. doi:10.1007/s41783-019-00080-x.

15. KREYENSCHMIDT, Judith, et al. A novel photochromic time–temperature indicator to support cold chain management. *International journal of food science & technology* [interaktyvus], 2010, 45.2: 208-215 [žiūrėta 2020-12-14]. doi:10.1111/j.1365-2621.2009.02123.x.

16. BRIZIO, Ana Paula Dutra Resem; PRENTICE, Carlos. Use of smart photochromic indicator for dynamic monitoring of the shelf life of chilled chicken based products. *Meat science* [interaktyvus], 2014, 96.3: 1219-1226 [žiūrėta 2020-12-14]. doi:10.1016/j.meatsci.2013.11.006.

17. BALBINOT-ALFARO, Evellin, et al. Intelligent packaging with pH indicator potential. *Food engineering reviews* [interaktyvus], 2019, 11.4: 235-244 [žiūrėta 2020-12-14]. doi:10.1007/s12393-019-09198-9.

18. KUSWANDI, Bambang; NURFAWAIDI, Arjun. On-package dual sensors label based on pH indicators for real-time monitoring of beef freshness. *Food Control* [interaktyvus], 2017, 82: 91-100 [žiūrėta 2020-12-14]. doi:10.1016/j.foodcont.2017.06.028.

19. KUSWANDI, Bambang, et al. Real-time monitoring of shrimp spoilage using on-package sticker sensor based on natural dye of curcumin. *Food Analytical Methods* [interaktyvus], 2012, 5.4: 881-889 [žiūrėta 2020-12-14]. doi:10.1007/s12161-011-9326-x.

20. SHUKLA, Vivek; KANDEEPAN, Gurunathan; VISHNURAJ, Mangalathu Rajan. Development of on-package indicator sensor for real-time monitoring of buffalo meat quality during refrigeration storage. *Food Analytical Methods* [interaktyvus], 2015, 8.6: 1591-1597 [žiūrėta 2020-12-14]. doi:10.1007/s12161-014-0066-6.

21. LIU, Guifang; HAN, Baokun; BAO, Huaiqian. Application and Analysis of the New Functional Materials of Foam Aluminum. In: *MATEC Web of Conferences* [interaktyvus]. EDP Sciences, 2016. p. 05007 [žiūrėta 2020-12-14]. doi:10.1051/mateconf/20166106007.

22. REALINI, Carolina E.; MARCOS, Begonya. Active and intelligent packaging systems for a modern society. *Meat science* [interaktyvus], 2014, 98.3: 404-419 [žiūrėta 2021-02-15]. doi:10.1016/j.meatsci.2014.06.031

23. DANCHUK, Alexandra I., et al. Optical sensors for determination of biogenic amines in food. *Analytical and bioanalytical chemistry* [interaktyvus], 2020, 412: 4023-4036 [žiūrėta 2021-02-15]. doi:10.1007/s00216-020-02675-9.

24. OCAMPO, Alessandria Maeve, et al. Polyaniline-based cadaverine sensor through digital image colorimetry. *e-Polymers* [interaktyvus], 2018, 18.6: 465-471 [žiūrėta 2021-02-15]. doi:10.1515/epoly-2018-0083.
25. XUE, Jiajia, et al. Electrospinning and electrospun nanofibers: Methods, materials, and applications. *Chemical reviews* [interaktyvus], 2019, 119.8: 5298-5415 [žiūrėta 2021-02-15]. doi:10.1021/acs.chemrev.8b00593.
26. MUNIR, Muhammad Waqas; ALI, Usman. Classification of electrospinning methods. In: *Nanorods and Nanocomposites* [interaktyvus]. IntechOpen, 2020. p. 229 [žiūrėta 2021-02-15]. doi:10.5772/intechopen.88654.
27. ADOMAVIČIŪTĖ, Erika, Rimvydas MILAŠIUS. Polimerinių nanogijų gamybos būdai ir įrenginiai. Kaunas: Technologija, 2012. ISBN 978-609-02-0544-0.
28. Elektrinis verpimas [interaktyvus]. [Žiūrėta 2021-02-15], prieiga per internetą <https://www.nanoscience.com/techniques/electrospin/>.
29. BARHOUM, Ahmed, et al. Nanofibers as new-generation materials: from spinning and nanospinning fabrication techniques to emerging applications. *Applied Materials Today* [interaktyvus], 2019, 17: 1-35 [žiūrėta 2021-02-15]. doi:10.1016/j.apmt.2019.06.015.
30. BILGINER, Rumeysa; YILDIZ, Ahu Arslan. A facile method to fabricate propolis enriched biomimetic PVA architectures by co-electrospinning. *Materials Letters* [interaktyvus], 2020, 276: 128191 [žiūrėta 2021-02-25]. doi:10.1016/j.matlet.2020.128191.
31. PANT, Bishweshwar; PARK, Mira; PARK, Soo-Jin. Drug delivery applications of core-sheath nanofibers prepared by coaxial electrospinning: a review. *Pharmaceutics* [interaktyvus], 2019, 11.7: 305 [žiūrėta 2021-02-25]. doi:10.3390/pharmaceutics11070305.
32. ALGHORAIBI, Ibrahim; ALOMARI, Sandy. Different methods for nanofiber design and fabrication. *Handbook of nanofibers* [interaktyvus], 2018, 1-46 [žiūrėta 2021-02-25]. doi:10.1007/978-3-319-42789-8\_11-2.
33. FANG, Yue; XU, Lan; WANG, Mingdi. High-throughput preparation of silk fibroin nanofibers by modified bubble-electrospinning. *Nanomaterials* [interaktyvus], 2018, 8.7: 471 [žiūrėta 2021-02-25]. doi:10.3390/nano8070471.
34. ABD RAZAK, Saiful Izwan, et al. A review of electrospun conductive polyaniline based nanofiber composites and blends: processing features, applications, and future directions. *Advances in Materials Science and Engineering* [interaktyvus], 2015, 2015 [žiūrėta 2021-02-27]. doi:10.1155/2015/356286.
35. KUMAR, Vanish, et al. Advances in electrospun nanofiber fabrication for polyaniline (PANI)-based chemoresistive sensors for gaseous ammonia. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [interaktyvus], 2020, 115938 [žiūrėta 2021-02-27]. doi:10.1016/j.trac.2020.115938.

36. ROZEMARIE, M. L., et al. Electrospun Based Polyaniline Sensors—A Review. In: *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* [interaktyvus]. IOP Publishing, 2017. p. 012063 [žiūrėta 2021-02-27]. doi:10.1088/1757-899X/209/1/012063.
37. BISHOP-HAYNES, A.; GOUMA, P. Electrospun polyaniline composites for NO<sub>2</sub> detection. *Materials and manufacturing processes* [interaktyvus], 2007, 22.6: 764-767 [žiūrėta 2021-02-27]. doi:10.1080/10426910701385408).
38. ALCARAZ-ESPINOZA, José J., et al. Hierarchical composite polyaniline–(electrospun polystyrene) fibers applied to heavy metal remediation. *ACS applied materials & interfaces* [interaktyvus], 2015, 7.13: 7231-7240 [žiūrėta 2021-02-27]. doi:10.1021/acsami.5b00326.
39. TIESHENG, Li, et al. Luminescent properties of europium complexes with different long chains in Langmuir-Blodgett (LB) films. *Engineering* [interaktyvus], 2011 [žiūrėta 2021-02-27]. doi:10.4236/eng.2011.34035.
40. SHIRSAT, Mahendra D., et al. Polyaniline nanowires-gold nanoparticles hybrid network based chemiresistive hydrogen sulfide sensor. *Applied physics letters* [interaktyvus], 2009, 94.8: 083502 [žiūrėta 2021-02-27]. doi:10.1063/1.3070237.
41. VU, Duy Linh, et al. Highly-Sensitive Detection of Volatile Organic Compound Vapors by Electrospun PANI/P3TI/PMMA Fibers. *Polymers* [interaktyvus], 2020, 12.2: 455 [žiūrėta 2021-03-10]. doi:10.3390/polym12020455.
42. HO, Chun-Chih, et al. Isoindigo-based copolymers for polymer solar cells with efficiency over 7%. *Journal of Materials Chemistry A* [interaktyvus], 2014, 2.21: 8026-8032 [žiūrėta 2021-03-10]. doi:10.1039/C4TA01083C.
43. VU, Duy Linh, et al. Fabrication and humidity sensing property of UV/ozone treated PANI/PMMA electrospun fibers. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* [interaktyvus], 2019, 99: 250-257 [žiūrėta 2021-03-10]. doi:10.1016/j.jtice.2019.03.006.
44. SUBHENDU, Bhandari (2018). *Polyaniline Blends, Composites, and Nanocomposites* [interaktyvus]. [Žiūrėta 2021-03-10], prieiga per internetą <https://www.sciencedirect.com/topics/materials-science/polyaniline>.
45. SHIN, Min Kyoan, et al. Enhanced conductivity of aligned PANi/PEO/MWNT nanofibers by electrospinning. *Sensors and Actuators B: Chemical* [interaktyvus], 2008, 134.1: 122-126 [žiūrėta 2021-03-29]. doi:10.1016/j.snb.2008.04.021.
46. MATULEVICIUS, Jonas, et al. Design and characterization of electrospun polyamide nanofiber media for air filtration applications. *Journal of Nanomaterials* [interaktyvus], 2014, 2014 [žiūrėta 2021-03-29]. doi:10.1155/2014/859656.
47. WOJNOWSKI, Wojciech, et al. Direct determination of cadaverine in the volatile fraction of aerobically stored chicken breast samples. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly* [interaktyvus], 2018, 149.9: 1521-1525 [žiūrėta 2021-03-29]. doi:10.1007/s00706-018-2218-7.

48. X-RiteColor spektrofotodenistometras [interaktyvus]. [Žiūrėta 2021-03-29], prieiga per internetą <https://presscity.com/es/machines/x-rite/39329-44899/x-rite-color-spectrophotometer-dtp22.html>.
49. Kauno Technologijos universiteto biblioteka (2018). [Žiūrėta 2021-03-29]. *Mokomoji medžiaga. Paskaitų konspektas. Koloristikos metodologija*.
50. Spalvų valdyme naudojami terminai ir trumpiniai [interaktyvus]. [Žiūrėta 2021-04-01], prieiga per internetą <https://www.gamafix.lt/duk/37-spalvu-valdyme-naudojami-terminai-ir-trumpiniai/65-lab.html>.