

## RAPORTARE ȘTIINȚIFICĂ

privind implementarea proiectului *Materiale inovative, comestibile și biodegradabile, destinate ambalării suplimentelor alimentare (InNoMAT)*

Contract de finanțare nr PD32/2020 Cod proiect PN-III-P1-1.1-PD-2019-0793

Perioadă derulare etapă II: ianuarie 2021 – decembrie 2021

### • Rezumatul etapei

**Etapa a II-a** – *Stabilirea compoziției optime în vederea obținerii unor materiale necesare ambalării suplimentelor alimentare – partea a II-a. Testarea și caracterizarea a presupus realizarea a șapte activități, așa cum rezultă și în Planul de realizare a proiectului.*

Conform obiectivelor etapei a II-a de execuție, activitățile din cadrul proiectului au vizat stabilirea compozițiilor finale ale materialelor biodegradabile utilizate pentru ambalarea suplimentelor alimentare. Etapa anterioară, derulată în vederea stabilirii compoziției optime necesare dezvoltării de ambalaje, a facilitat identificarea biopolimerilor ce vor fi utilizați pentru desfășurarea activităților viitoare. Compozițiile dezvoltate în prima etapă a proiectului au fost îmbunătățite, iar materialele obținute au fost testate și caracterizate din punct de vedere fizic, mecanic și microbiologic. Au fost vizate, de asemenea, identificarea gradului de solubilizare și capacitatea de hidratare a materialului biopolimeric.

*Grad de realizare a etapei – realizată integral, pentru toate activitățile prevăzute*

### ✓ Descrierea științifică și tehnică

**Activitatea 2.1** – *Identificarea compușilor naturali ce pot fi utilizați în vederea îmbunătățirii materialului aflat în contact direct cu produsul ce urmează a fi ambalat a vizat stabilirea compușilor naturali utilizați pentru dezvoltarea de materiale biopolimerice sunt agarul, alginatul, amidonul și glicerolul. Chiar dacă aceștia au fost testați și în prima etapă a proiectului, compozițiile au fost optimizate în vederea dezvoltării de materiale cu caracteristici superioare.*

Această activitate este strâns corelată cu **Activitatea 2.2** – *Alte adaosuri naturale ce pot fi utilizate pentru obținerea de materiale cu caracteristici superioare.* Astfel, uleiuri esențiale de lămâie, grapefruit, portocale, scorțișoară și cuișoare au fost introduse în soluția formatoare de film, în vederea obținerii de materiale cu caracteristici îmbunătățite. După obținerea materialelor, acestea au fost testate prin intermediul **Activității 2.3** – *Testarea și caracterizarea materialelor obținute: testarea microstructurii și a proprietăților fizice, Activității 2.4* – *Testarea mecanică și evaluarea caracteristicilor de textură, Activității 2.5* – *Identificarea gradului de solubilizare și capacitatea de hidratare a materialului obținut din biopolimeri, precum și Activității 2.7* – *Testarea caracteristicilor de natură microbiologică.*

În vederea stabilirii compoziției optime, s-au dezvoltat o serie de filme biopolimerice, conform datelor din tabelul 1.

*Tabel 1. Compoziții ale filmelor testate*

<b>Film</b>	<b>m<sub>agar</sub>, (%)</b>	<b>m<sub>alginat</sub>, (%)</b>	<b>m<sub>glicerol</sub>, (w%)</b>
<b>B1</b>	75.00	-	25.00
<b>B2</b>	-	75.00	25.00
<b>B3</b>	62.50	25.00	12.50
<b>B4</b>	50.00	37.50	12.50
<b>B5</b>	43.75	43.75	12.50
<b>B6</b>	37.50	50.00	12.50
<b>B7</b>	25.00	62.50	12.50
<b>B8</b>	40.87	34.13	25.00
<b>B9</b>	40.625	40.625	18.75
<b>B10</b>	50	43.75	18.75
<b>B11</b>	31.25	50	18.75
<b>B12</b>	31.25	43.75	18.75
<b>B13</b>	43.75	31.25	18.75
<b>B14</b>	50	25	25
<b>B15</b>	25	50	25
<b>B16</b>	37.5	37.5	25

Pentru obținerea soluțiilor formatoare de film, compozițiile au fost omogenizate sub agitare (inițial 500 rpm și 250 de rpm) și menținute la temperatura de 20°C timp de 20 de minute. Ulterior, acestea au fost turnate pe suportul din sicilon folosit și menținute la temperatura ambientală (20± 2°C) și umiditate relativă a aerului rH = 42%. Măsurătorile s-au realizat cu higrometrul cu afișarea presiunii absolute, achizițional în cadrul etapei I. După uscare (26-48 ore) peliculele au fost strânse și păstrate în condiții controlate de temperatură și umiditate, în vederea testării.

Imediat după obținere, peliculele au fost evaluate din punct de vedere fizic, iar rezultatele sunt consemnate în tabelul 2.

PROBĂ	Tabel 2. Caracteristici fizice și de textură ale probelor obținute												OBSERVAȚII
	COMPOZIȚIE*			EVALUARE FIZICĂ (MOMENT ÎNȚIAL)									
	m <sub>agar</sub> , g	m <sub>alginat</sub> , g	m <sub>glicerol</sub> , g	Adezivitate	Suprafața	Flexibilitate	Multiple îndoiri	Margini	Miros	Gust	Pori/ Fisuri	Solubilitate în cavitatea bucală	
<b>B1</b>	3	-	1	↓	rugos	+	+	+	nu	dulce	-	↓	necesită combinare cu alți biopolimeri sau creșterea masei de plastifiant
<b>B2</b>	-	3	1	↑	moale	+	+	+	nu	nu	-	mediu	folie subțire, potrivită pentru folosire ca material de ambalare
<b>B3</b>	2.5	1	0.5	↑	moale	++	+	+	nu	nu	-	↓↓	potrivită ca material de ambalare pentru produsele cu umiditate ridicată
<b>B4</b>	2	1.5	0.5	↓	rugos	-	-	+	nu	nu	-	↓↓	casant, cu tendință de exfoliere
<b>B5</b>	1.75	1.75	0.5		rugos pe partea exterioara	+	+	+	nu	nu	pori, fără fisuri	↓	senzație neplăcută la testarea caracteristicilor senzoriale
<b>B6</b>	1.5	2	0.5	medie	neuniform	+	+	+	nu	dulce	pori, fără fisuri	mediu	nu poate fi folosit în această formă, ușor crocant
<b>B7</b>	1	2.5	0.5	↑	moale	+	+	+	nu	nu	pori, fără fisuri	mediu	folia aflată în contact cu folia este fină, cea exterioară, rugoasă
<b>B8</b>	1.635	1.365	1	↑	neuniform	+	+	+	nu	dulce	pori, fără fisuri	mediu	nu poate fi folosită în această formă; senzație neplăcută la evaluarea senzorială
<b>B9</b>	1.625	1.625	0.75	↑	foarte moale, plăcut	++	+	+	nu	nu	-	↑	senzație neplăcută la evaluarea senzorială
<b>B10</b>	2	1.75	0.75	↑	foarte moale, plăcut	++	+	+	nu	nu	-	↓ Solubili	potrivit pentru utilizare ca material de ambalare

**Raportare etapa II- PD-2019-0793**

												tate redușă	
<b>B11</b>	1.25	2	0.75	↓	rugos	-	-	+	nu	nu	-	mediu, senzație neplă cută	material dur, cu tendință de strângere; desi permite îndoire, nu poate fi folosit în această formă
<b>B12</b>	1.25	1.75	0.75	medie	Neuni- form	+	+	+	nu	nu	-	mediu	senzație neplăcută la evaluarea senzorială
<b>B13</b>	1.75	1.25	0.75	medie	foarte moale, plăcut la atingere	++	+	+	nu	dulce	-	mediu, senzație foarte plăcută	crocant, senzație plăcută la evaluarea senzorială, compoziție potrivită pentru utilizare ca material de ambalare
<b>B14</b>	2	1	1	medie	foarte moale, plăcut la atingere	++	+	+	nu	nu	-	↑	compoziția cea mai potrivită pentru utilizare ca material de ambalare
<b>B15</b>	1	2	1	medie	foarte moale, plăcut la atingere	+	+	+	nu	dulce	-	mediu, senzație plăcută	crocant, senzație plăcută la evaluarea senzorială, compoziție potrivită pentru utilizare ca material de ambalare
<b>B16</b>	1.5	1.5	1	↓	foarte moale, plăcut la atingere	++	+	+	nu	dulce	-	mediu, senzație plăcută	crocant, senzație plăcută la evaluarea senzorială, compoziție potrivită pentru utilizare ca material de ambalare

Odată dezvoltate, materialele au fost testate pentru a se identifica o serie de caracteristici fizice, mecanice, microbiologice și de solubilitate. Caracteristicile fizice au urmărit testarea grosimii, raportului de retragere, culorii, transmitanței și opacității, dar și texturii sau microstructurii.

### **Evaluarea proprietăților fizice și optice**

Pentru evaluarea microstructurii și a microtopografiei probelor obținute, filmele au fost testate cu ajutorul microscopului confocal Mahr (Marf Surf), iar imaginile au fost prelucrate cu software-ul Mountains® Premium 8.2 (Digital Surf, Lavoisier, Franța). Aceste proprietati, coroborate cu celelalte testari, sunt importante pentru orice material nou dezvoltat, în special pentru cel care, ulterior, va fi utilizat ca material de ambalare și care trebuie să întrunească o serie de condiții, atât în ceea ce privește menținerea calității produsului, de la manufacturare până la consumatorul final, cât, mai ales, pentru că aspectul vizual este important și de multe ori este folosit drept strategie de marketing. În acest sens, s-au realizat o serie de determinari:

#### **o Evaluarea grosimii și a raportului de retragere**

Grosimea este o caracteristica importanta pentru un film ce va fi ulterior folosit ca material de ambalare pentru diverse produse. Pentru măsurarea grosimii s-a utilizat micrometrul Mitutoyo, determinarea realizandu-se în cel puțin 5 zone diferite ale filmului, rezultatul notat reprezentând media aritmetică a acestora. Raportul de retragere este o determinare importantă și de folos pentru producător, pentru că, în funcție de grosimea soluției formatoare de film și a valorii raportului de retragere, acesta va ști, cu anticipație, grosimea finală a foliei. În acest mod, producatorul are capacitatea de a-și stabili, în mod independent, grosimea materialului obținut.

Raportul de retragere s-a calculat cu ajutorul formulei:

$$\text{Raport de retragere, (\%)} = \frac{\text{grosime inițială film} - \text{grosime film uscat}}{\text{grosime inițială film}} * 100$$

Ulterior, în cadrul proiectului, s-a achiziționat propriul micrometru ce va fi utilizat în testarea viitoare a probelor obținute.

#### **o Determinarea culorii, transmitanței și opacității**

Culoarea probelor a fost evaluată folosindu-se colorimetrului Konika Minolta CR 400 (Konika Minolta, Tokyo, Japan), fiind observată pe diferite zone ale suprafeței filmelor. Metoda evaluează culoarea produselor cu ajutorul sistemului CIELAB, iar determinările au vizat identificarea valorilor de luminozitate ( $L^*$ ), și ale coordonatelor  $a^*$  (verde-roșu) și  $b^*$  (albastru/galben). În sistemul CIELAB luminozitatea este cuprinsă între valorile 0 – domeniul negru, până la 100 – albul absolut. Pentru stabilirea rezultatului final, s-au realizat 5 citiri, iar valoarea notată reprezintă media aritmetică a acestora.

Atât transmitanta, cât și opacitatea filmelor, au fost evaluate cu ajutorul spectrofotometrului Ocean Optics HR 4000 CG-UV-NIR (Ocean Optics, Douglas, AZ, USA).

Astfel, epruvete de 1\*3 cm au fost introduse în cuva spectrofotometrică și s-au citit valorile indicate la lungimea de undă de 660 nm (citirea valorilor transmittanței) și 600 nm (opacitate).

Opacitatea (O) se calculează cu formula:

$$O = \frac{A}{\text{grosimea}}$$

Unitatea de măsură este  $A \cdot \text{mm}^{-1}$ , unde A reprezintă absorbanta citită, iar grosimea se măsoară în mm.

Evaluarea acestor caracteristici este importantă în menținerea calității produselor ambalate (există produse ce se degradează sub acțiunea razelor luminoase) și în strategia de marketing a produsului (deoseori, un ambalaj colorat primează în fața unuia monoton).

- **Evaluarea solubilității**

Întrucât se intenționează ca filmele obținute să fie folosite pentru ambalarea suplimentelor alimentare ce necesită solubilizare înainte de consum și ingerate odată cu acestea, evaluarea solubilității este una de maxim interes. De asemenea, cunoașterea acestor caracteristici indică tipul de produse ce pot fi ambalate în diverse materiale. În funcție de conținutul de umiditate și valorile finale ale capacității de hidratare, se poate trasa, cu certitudine, traseul foliilor ca materiale de ambalare pentru diverse produse.

Pentru determinarea umidității (U), s-a utilizat metoda standardizată conform STAS 90-88. Astfel, mostrele de film (3\*3 cm) au fost cântărite și menținute timp de 24 de ore, la 110 °C, după care recântărite. Valorile obținute au fost introduse în formula următoare:

$$U, (\%) = \frac{W_0 - W_1}{W_0} * 100$$

unde  $W_0$  reprezintă masa probei înainte de uscare (g) și  $W_1$  masa acesteia după uscare (g).

Pentru evaluarea solubilității în apă, epruvete asemănătoare celor folosite pentru determinarea umidității (3\*3 cm) au fost cântărite și apoi menținute în recipiente cu un volum de 50 ml apă, timp de 8 ore. După parcursul celor 8 ore, probele au fost uscate cu ajutorul unui cuptor cu aer cald (Mettler Schwabach, Germany), timp de 24 de ore, la temperatura de 110°C. Rezultatul s-a calculat cu ajutorul formulei:

$$SA, (\%) = \frac{W_0 - W_1}{W_0} * 100$$

unde  $W_0$  reprezintă masa probei înainte de imersia în apă (g) și  $W_1$  masa probei (g) după parcurgerea celor 24 de ore.

Capacitatea de hidratare a foliilor s-a determinat prin menținerea, timp de 30 secunde - 20 minute, a unei mostre de probă (3\*3 cm) cântărită inițial în apă cu temperatura de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ . După

parcursarea timpului prestabilit, proba a fost ușor tapotată cu ajutorul hârtiei de filtru, în vederea eliminării excesului de apă și ulterior recantărită.

Valoarea finală a capacității de hidratare (SR) a fost calculată cu formula:

$$SR, (\%) = \frac{W_t - W_0}{W_0} * 100$$

unde  $W_0$  reprezintă masa inițială (g) și  $W_t$  masa probei după momentul  $t$ , (g)

Indicele de activitate a apei ( $a_w$ ) este un parametru important, mai ales dacă se ține cont că valoarea redusă a acestuia, în cazul probelor testate, evidențiază și capacitatea de a oferi protecție față de contaminarea microbiană. Indicele de activitate a apei s-a determinat cu ajutorul echipamentului Aqua Lab (ICT International, Armidale, NSW 2350), determinările realizându-se la temperatura de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ . Valoarea notată reprezintă suma a cinci determinări, realizate în diverse zone ale suprafeței filmelor.

- **Determinarea proprietăților mecanice**

Pentru identificarea performanțelor mecanice, mostre de film, de 1 cm x 10 cm au fost dimensionate și testate, conform STAS ASTM D882 (Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting). Pentru testare s-a fost folosit textrometrul universal ESM Mark-10 încărcat cu o celulă de 5 kN. Pentru evaluare, au fost atașate grip-uri special concepute pentru testarea filmelor subțiri și a foliilor. Viteza de deplasare a fost setată la 10 mm/min, iar temperatura de lucru s-a stabilizat la  $26 \pm 0,4^\circ\text{C}$ . Rezistența la tracțiune (TS) a fost luată în considerare după aplicarea formulei:

$$TS, (\text{MPa}) = \frac{F}{S}$$

unde  $F$  – forța maximă aplicată (kN), iar  $S$  – aria ( $\text{mm}^2$ ).

Alungirea ( $E$ ) a fost calculată cu formula de mai jos, unde  $\Delta l$  este distanța dintre lungimea finală și cea inițială ( $l$ ), (mm) și reprezintă capacitatea materialului de a se extinde până când intervine ruperea. Pentru a stabili rezultate mai precise, testarea mecanică a probelor a fost efectuată în triplicat.

$$E, (\%) = \frac{\Delta l}{l} * 100$$

- **Determinarea caracteristicilor microbiologice**

Întrucât foliile obținute sunt destinate ambalării suplimentelor alimentare și consumate odată cu acestea, este imperios necesar ca acestea să fie sigure din acest punct de vedere. Astfel, s-a testat incidența microorganismelor cu ajutorul plăcilor de tip Compact Dry TC/CF/ETC/ETB/EC/ XSA/LM/YM (NISSUI Pharma), cu medii de cultură specific, în formă deshidratată. În acest sens, s-a testat numărul total de germeni (TC), incidența bacteriilor coliforme (CF), a enterococilor (ETC), enterobacteriilor (ETB), *Escherichia coli* (EC), *Staphylococcus aureus* (XSA), *Listeria monocytogenes* (LM), dar și drojdiile și mușcăiuri (YM). Pentru realizarea

acestor determinări, s-a utilizat soluție inertă din punct de vedere microbiologic (ser fiziologic în acest caz) în vederea hidratării mediului. Astfel 1 g de probă a fost omogenizat cu 9 ml soluție salină. Din soluția astfel obținută, 1 ml a fost turnat pe mediul de cultură. După hidratare, plăcile cu medii de cultură au fost termostatare timp de 24-36 ore (în cazul bacteriilor) și 72 h în cazul plăcilor cu drojzii și mușegai, la temperatura de 37 °C. Pentru corectitudinea determinării, pentru fiecare probă testate, s-au realizat câte 3 diluții.

Datele obținute au fost analizate statistic cu programe precum Minitab, SciDavis, XL Stat, iar optimizarea compozițiilor a fost posibilă cu ajutorul programului de optimizare Design Expert 12, achiziționat în cadrul proiectului.

Conform tabelului 3, cele mai bune compoziții, potrivite pentru obținerea unui material de ambalare, sunt cele aferente probelor **B2**, **B3**, **B10**, **B13-B16**. Caracteristica comună a acestora este reprezentată de creșterea masei de plastifiant în compoziție. Excepție face proba **B3**, care, însă, conține cantitate mai ridicată de alginat de sodiu. Diferența dintre **B3** și **B14** este reprezentată de reducerea masei de agar și creșterea celei de plastifiant, iar foliile obținute în cazul ultimei probe sunt cele mai potrivite pentru utilizare ca materiale de ambalare. Aceasta este și compoziția filmului care ulterior a fost propus pentru brevetare la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci.

**Tabel 3. Rezultatele evaluării fizice**

Film	Grosime, ( $\mu\text{m}$ )	Raport de retragere, (%)	L*	Culoare	
				a*	b*
<b>B1</b>	70.00 <sup>a</sup> $\pm$ 0.91	7.49 <sup>c</sup> $\pm$ 0.25	86.22 <sup>b</sup> $\pm$ 0.88	-4.51 <sup>a</sup> $\pm$ 0.05	16.71 <sup>c</sup> $\pm$ 0.01
<b>B2</b>	43.25 <sup>h,i</sup> $\pm$ 0.83	42.84 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.64	91.89 <sup>a</sup> $\pm$ 0.27	-5.68 <sup>c,d</sup> $\pm$ 0.71	12.14 <sup>f</sup> $\pm$ 0.33
<b>B3</b>	50.75 <sup>d,e,f,g</sup> $\pm$ 0.64	32.93 <sup>a,b,c</sup> $\pm$ 0.30	90.62 <sup>a</sup> $\pm$ 0.33	-5.46 <sup>c,d</sup> $\pm$ 0.74	13.21 <sup>e,f</sup> $\pm$ 0.57
<b>B4</b>	66.75 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.68	11.78 <sup>c</sup> $\pm$ 0.81	90.46 <sup>a</sup> $\pm$ 0.27	-4.85 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.05	16.03 <sup>c</sup> $\pm$ 0.05
<b>B5</b>	36.50 <sup>i</sup> $\pm$ 0.64	51.76 <sup>a</sup> $\pm$ 0.36	90.81 <sup>a</sup> $\pm$ 0.24	-5.13 <sup>b,c</sup> $\pm$ 0.21	14.51 <sup>d</sup> $\pm$ 0.14
<b>B6</b>	60.75 <sup>b,c</sup> $\pm$ 0.14	19.71 <sup>b,c</sup> $\pm$ 0.71	90.41 <sup>a</sup> $\pm$ 0.32	-5.62 <sup>c,d</sup> $\pm$ 0.33	13.88 <sup>d,e</sup> $\pm$ 0.71
<b>B7</b>	44.75 <sup>f,g,h</sup> $\pm$ 0.83	40.86 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	91.06 <sup>a</sup> $\pm$ 0.71	-5.43 <sup>b,c</sup> $\pm$ 0.14	13.45 <sup>d,e</sup> $\pm$ 0.27
<b>B8</b>	54.50 <sup>c,d</sup> $\pm$ 0.51	27.97 <sup>a,b,c</sup> $\pm$ 0.46	91.03 <sup>a</sup> $\pm$ 0.33	-5.24 <sup>b,c</sup> $\pm$ 0.13	13.78 <sup>d,e</sup> $\pm$ 0.02
<b>B9</b>	55.60 <sup>c,d</sup> $\pm$ 0.87	26.52 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.76	92.09 <sup>a</sup> $\pm$ 4.45	-6.04 <sup>d,e</sup> $\pm$ 0.09	24.21 <sup>a</sup> $\pm$ 0.49
<b>B10</b>	45.20 <sup>h,i</sup> $\pm$ 0.61	43.83 <sup>a</sup> $\pm$ 0.32	92.77 <sup>a</sup> $\pm$ 0.16	-6.29 <sup>e</sup> $\pm$ 0.02	22.56 <sup>b</sup> $\pm$ 0.17
<b>B11</b>	46.25 <sup>e,f,g,h</sup> $\pm$ 0.68	38.87 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.22	92.60 <sup>a</sup> $\pm$ 0.34	-6.29 <sup>e</sup> $\pm$ 0.08	22.54 <sup>b</sup> $\pm$ 0.73
<b>B12</b>	44.75 <sup>f,g,h</sup> $\pm$ 0.09	40.86 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.71	92.27 <sup>a</sup> $\pm$ 0.15	-6.32 <sup>e</sup> $\pm$ 0.02	23.85 <sup>a</sup> $\pm$ 0.26
<b>B13</b>	44.00 <sup>g,h</sup> $\pm$ 0.08	41.85 <sup>a</sup> $\pm$ 0.78	92.73 <sup>a</sup> $\pm$ 0.16	-6.43 <sup>e</sup> $\pm$ 0.02	23.19 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.21
<b>B14</b>	43.50 <sup>h,i</sup> $\pm$ 0.65	42.51 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.05	92.63 <sup>a</sup> $\pm$ 0.28	-6.37 <sup>e</sup> $\pm$ 0.03	22.62 <sup>b</sup> $\pm$ 0.14
<b>B15</b>	51.50 <sup>d,e,f</sup> $\pm$ 0.86	31.94 <sup>a,b,c</sup> $\pm$ 0.67	92.10 <sup>a</sup> $\pm$ 0.33	-6.42 <sup>e</sup> $\pm$ 0.07	23.72 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.75
<b>B16</b>	53.25 <sup>d,e</sup> $\pm$ 0.38	29.62 <sup>a,b,c</sup> $\pm$ 0.33	92.74 <sup>a</sup> $\pm$ 0.11	-6.44 <sup>e</sup> $\pm$ 0.02	23.17 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.17

Notă: valorile urmate de aceeași literă nu prezintă semnificație statistică ( $\alpha:0,05$ ).

Conform imaginilor din Figura 1, probele cu conținut mai ridicat de plastifiant în compoziție (**B13-B16**) prezintă structură mai omogenă și compactă, dar și rugozitate mai redusă, datorată moleculelor de glicerol care, datorită formațiunilor reduse, au posibilitatea de a se integra în matricea filmului. Variații reduse ale rugozității se identifică la probele cu conținut mai ridicat de agar în compoziție, dovadă fiind abaterile standard reduse, cu valori de 0.19 (**B13**), 0,41 (**B1**), 0,74 (**B6**), 0.81 (**B12**) și, respectiv, 0.96 (**B7**). Conform microstructurii prezentată în imaginile de mai jos, plastifiantul folosit, glicerol în acest caz, este compatibil cu biopolimerii utilizați. Atunci când plastifiantul nu este în utilizat în cantitate corespunzătoare ori nu este compatibil cu celelalte



substanțe, apar defecte vizibile cu ochiul liber: fisuri, tendință de rupere, culoare albă, opacitate ridicată, manifestări ce pot fi puse pe seama unor separări de faze.

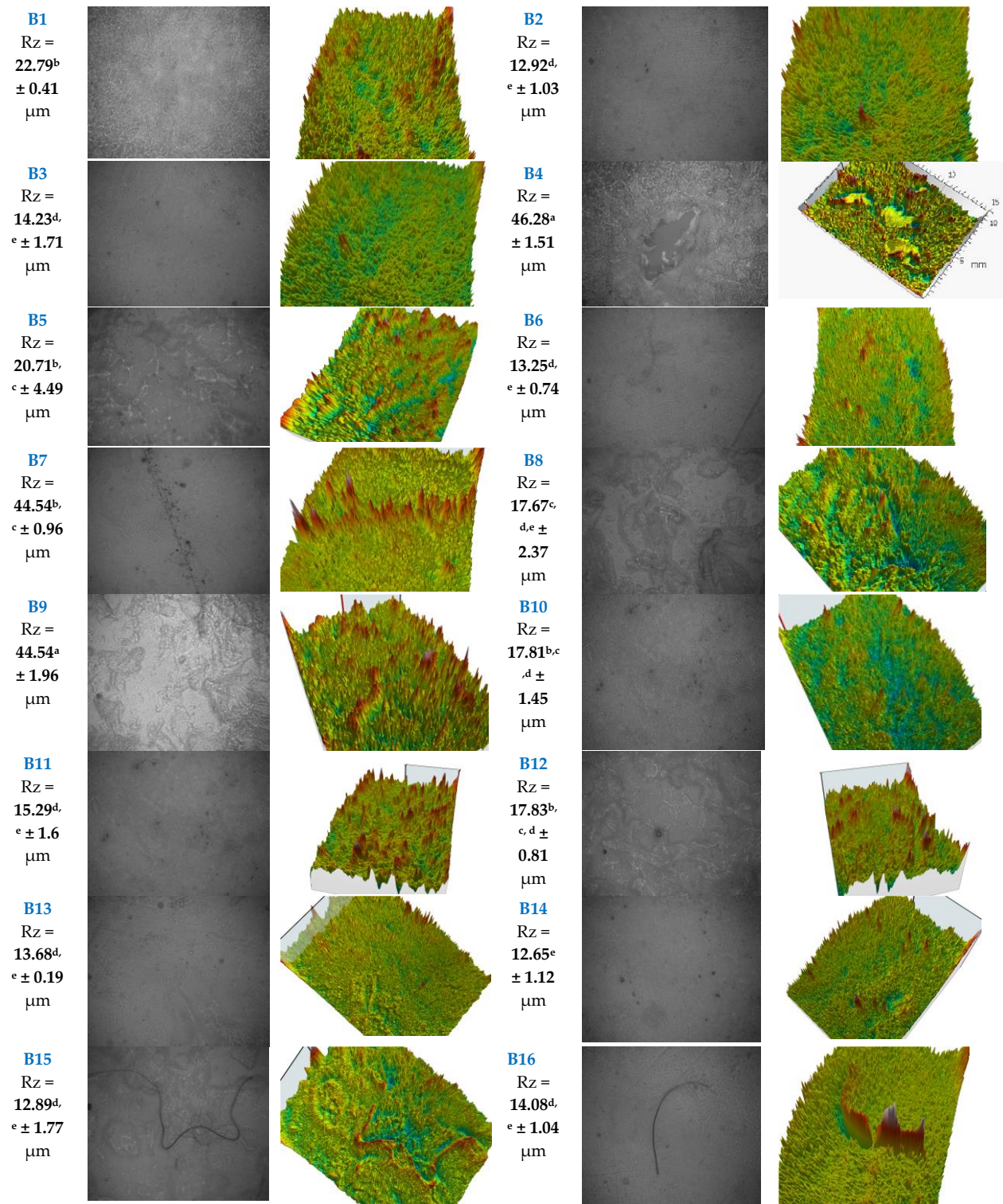


Figura 1. Imagini SEM și microtopografii ale probelor testate

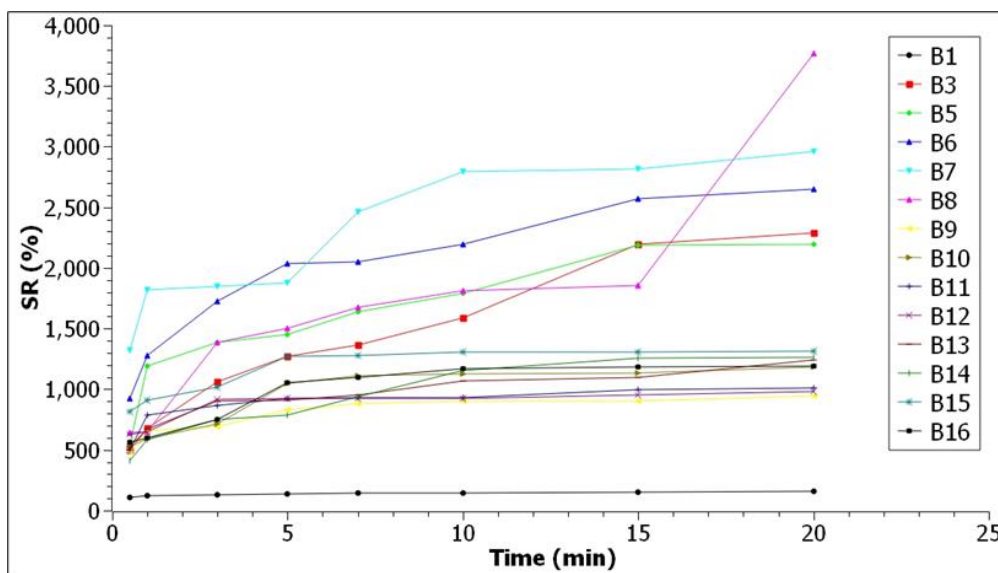
Solubilitatea materialelor nou obținute interesează datorită aplicabilității ulterioare a acestora. Întrucât studiul a urmărit dezvoltarea de filme ce pot fi folosite pentru ambalarea alimentelor și suplimentelor alimentare, foliile pot fi consumate odata cu produsul conținut, atunci când acesta este imersat în lichide cu temperaturi de peste 45°C.

**Tabel 4. Caracteristici ale peliculelor obținute**

Film	Rezistența la rupere, MPa	Alungirea la rupere, %	Umiditate, (%)	Solubilitate în apă, (%)	Indice de activitate a apei, $a_w$
B1	6.12	12.82	18.86 <sup>b</sup> ± 0.64	40.71 <sup>h</sup> ± 0.41	0.417 <sup>e, f</sup> ± 0.04
B2	10.75	22.45	17.12 <sup>c</sup> ± 0.33	solubilizare completă	0.427 <sup>d, e, f</sup> ± 0.33
B3	16.85	53.10	10.83 <sup>b</sup> ± 0.09	31.58 <sup>j</sup> ± 0.25	0.414 <sup>f</sup> ± 0.05
B4	2.15	17.70	10.26 <sup>i</sup> ± 0.61	39.63 <sup>i</sup> ± 0.33	0.437 <sup>c, d</sup> ± 0.66
B5	26.75	33.30	9.56 <sup>j</sup> ± 0.09	46.24 <sup>f</sup> ± 0.56	0.434 <sup>c, d</sup> ± 0.09
B6	25.45	21.20	14.17 <sup>f</sup> ± 0.65	40.24 <sup>h</sup> ± 0.66	0.418 <sup>e, f</sup> ± 0.33
B7	10.85	42.20	14.30 <sup>f</sup> ± 0.33	21.73 <sup>k</sup> ± 0.46	0.438 <sup>b, c, d</sup> ± 0.13
B8	21.55	42.70	14.55 <sup>f</sup> ± 0.07	43.00 <sup>g</sup> ± 0.32	0.436 <sup>c, d</sup> ± 0.66
B9	47.40	92.15	12.80 <sup>g</sup> ± 0.04	56.38 ± 0.06	0.429 <sup>d, e</sup> ± 0.90
B10	14.45	17.45	14.20 <sup>f</sup> ± 0.71	51.66 <sup>c</sup> ± 0.32	0.443 <sup>a, b, c</sup> ± 0.81
B11	2.40	35.35	13.25 <sup>g</sup> ± 0.48	62.08 <sup>d</sup> ± 0.30	0.418 <sup>e, f</sup> ± 0.72
B12	30.10	72.25	13.21 <sup>g</sup> ± 0.36	60.67 <sup>a</sup> ± 0.05	0.418 <sup>e, f</sup> ± 0.46
B13	8.95	38.15	15.85 <sup>e</sup> ± 0.05	52.75 <sup>a</sup> ± 0.71	0.451 <sup>a, b</sup> ± 0.33
B14	8.55	60.85	22.01 <sup>a</sup> ± 0.76	49.03 <sup>e</sup> ± 0.18	0.457 <sup>a</sup> ± 0.17
B15	11.25	31.15	16.50 <sup>d</sup> ± 0.31	57.52 <sup>b, c</sup> ± 0.33	0.427 <sup>d, e, f</sup> ± 0.98
B16	31.20	42.55	21.85 <sup>a</sup> ± 0.93	58.23 <sup>b</sup> ± 0.50	0.420 <sup>e, f</sup> ± 0.50

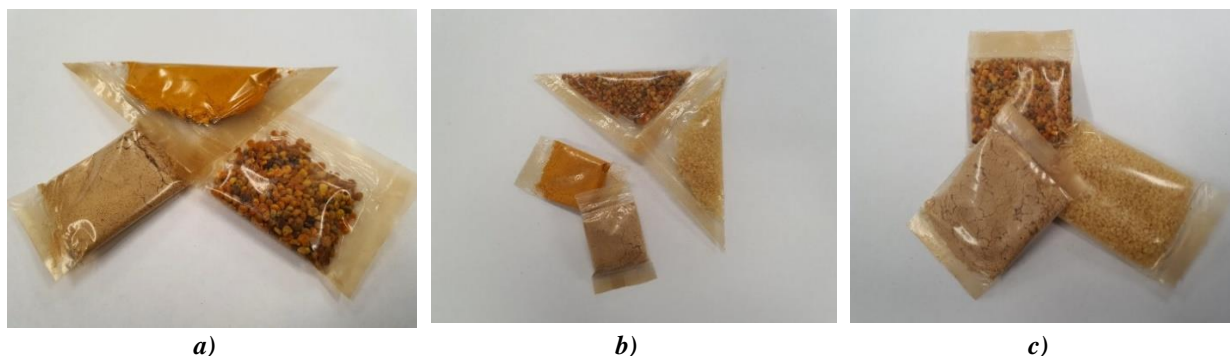
Notă: valorile urmate de aceeași literă nu prezintă semnificație statistică ( $\alpha:0,05$ ).

După testarea capacității indicelui de umflare conform graficului din Figura 3, probele B2 și B4 nu au putut fi evaluate, deoarece s-au dezintegrat în primele 30 de secunde de imersie în apă. Proba B4 a arătat o tendință de a se desprinde și s-a dezintegrat imediat. Conform acestor determinări, aceste folii pot fi folosite pentru ambalarea acelor produse cu umiditate scăzută (cum ar fi pulberi, tablete, băuturi instant, lapte praf etc., care necesită solubilizare înainte de consum).



**Figura 2. Solubilitatea în apă a peliculelor obținute**

Conținutul ridicat de agar din compoziție a facilitat reducerea valorilor luminozității (cea mai mică la proba **B1** – 86.221, unde masa de agar este de 3 g). Cea mai ridicată valoare a luminozității – 92.772 – se regăsește la proba **B10** unde, deși nu există variații mari între masele celor doi biopolimeri, aceasta conține o cantitate mai ridicată de plastifiant în compoziție (0.75 g). Conținutul ridicat de alginat a avut ca rezultat obținerea unor pelicule cu valori ridicate ale transmitanței. Astfel, conform rezultatelor obținute, probele **B2** (3 g alginat, T - 81.10 %) și **B7** (2.5 g alginat, T- 63.79 %) au prezentat transmitanță mai ridicată spre deosebire de cele cu conținut mai ridicat de agar. Excepție fac însă probele **B3** și **B14** unde, deși cantitatea de agar este mai ridicată, filmele au prezentat valori mari ale transmitanței (67,17 %, respectiv 51.70 %). Acest comportament ar putea fi pus pe seama masei mai ridicate de plastifiant din compoziția filmului sau datorită efectului sinergic dintre compușii folosiți. În mod invers, probele cu valori reduse ale transmitanței au prezentat opacitate ridicată. De exemplu, opacitatea probei **B1**, cu 3 g de agar și fără alginat de sodiu în compoziție, a fost de  $18.33 \text{ A} \cdot \text{mm}^{-1}$ , fiind urmată de proba **B8**, cu  $15.56 \text{ A} \cdot \text{mm}^{-1}$  și **B11**, cu  $13.94 \text{ A} \cdot \text{mm}^{-1}$ . Conform rezultatelor obținute, nu se poate identifica o corelație bine stabilită între compoziția filmelor și opacitate, întrucât cele trei probe cu valori ridicate prezintă proporții diferite de biopolimeri. Aplicabilitatea acestor folii este intens studiată, mai ales datorită proprietăților comune cu cele ale materialelor de ambalare convenționale. În imaginile din Figura 3 se pot observa diverse aplicații ale noilor materiale. În funcție de rezultatele obținute, s-au utilizat probele **B14**, **B15** și **B16**. Acestea pot fi destinate ambalării produselor și suplimentelor alimentare ce necesită solubilizare în apă cu temperatura de peste  $40^\circ\text{C}$ , înainte de consum, rezultatul utilizării acestora fiind unul de tipul zero-deșeu.



**Figura 3. Aplicații ale materialelor nou dezvoltate: suplimente alimentare (pudră de ghimbir, turmeric, polen, cus-cus) ambalate în filmele B14 (a), B15 (b), B16 (c)**

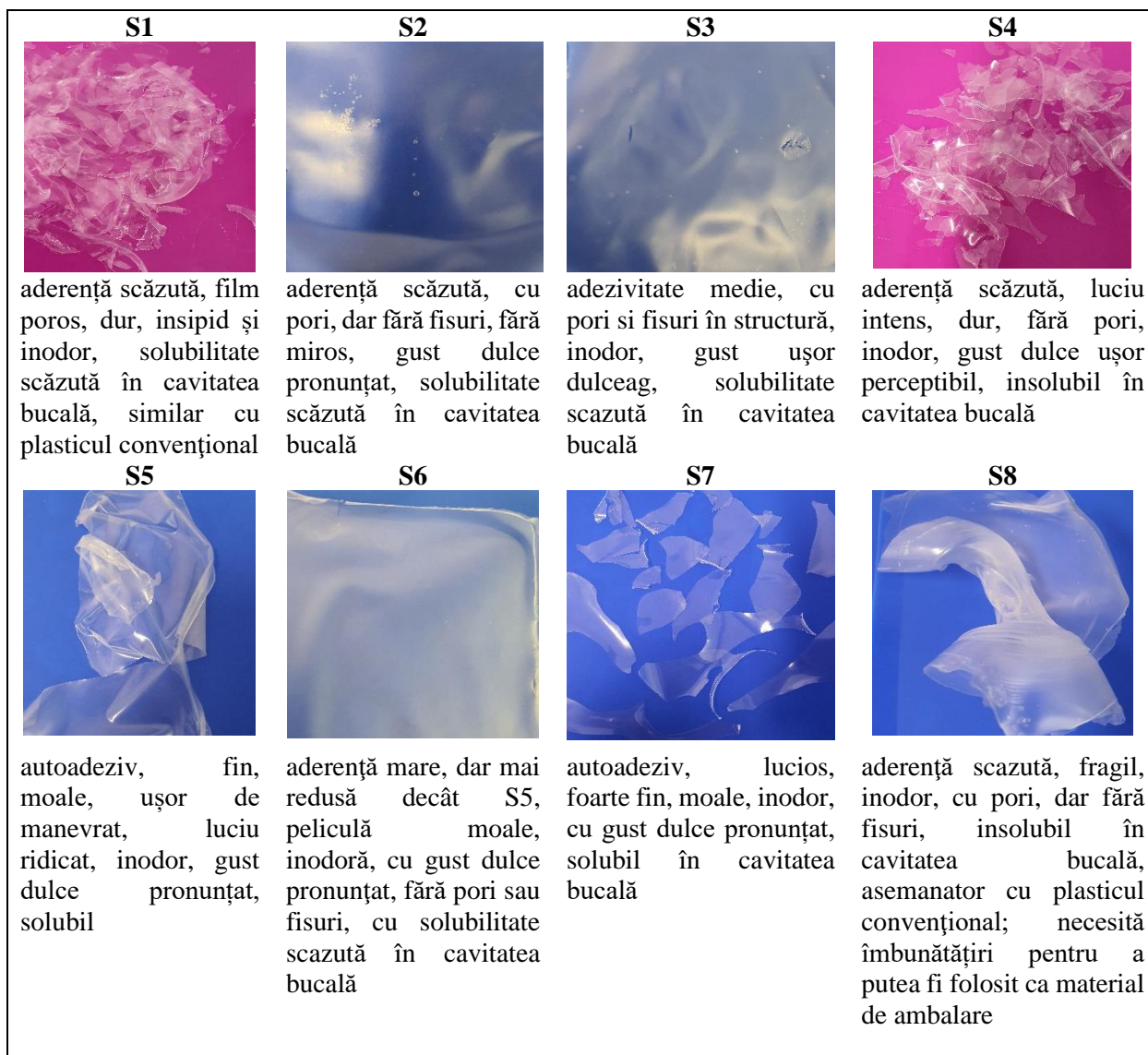
**Determinarea caracteristicilor microbiologice** a evidențiat siguranța ingerării acestor pelicule atunci când sunt consumate odată cu produsul ambalat. Niciunul din microorganismele testate, respectiv bacterii coliforme, enterococi, enterobacterii, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* sau drojdii și mușcăiuri nu s-a dezvoltat pe mediul de cultură. Incidența și proliferarea microorganismelor este îngreunată și de valorile reduse ale indicelui de activitate al apei. În urma determinărilor, valorile acestuia au variat între 0.414 și 0.457 (Tabel 4), fiind destul de reduse pentru a împiedica contaminarea microbiană. Aceasta caracteristică este una extrem de importantă întrucât păstrarea caracteristicilor nutriționale și senzoriale, dar și păstrarea valabilității produsului depind de prezența microorganismelor de alterare. De asemenea, incidența microorganismelor patogene pune în pericol sănătatea consumatorului, fapt exclus în acest caz.

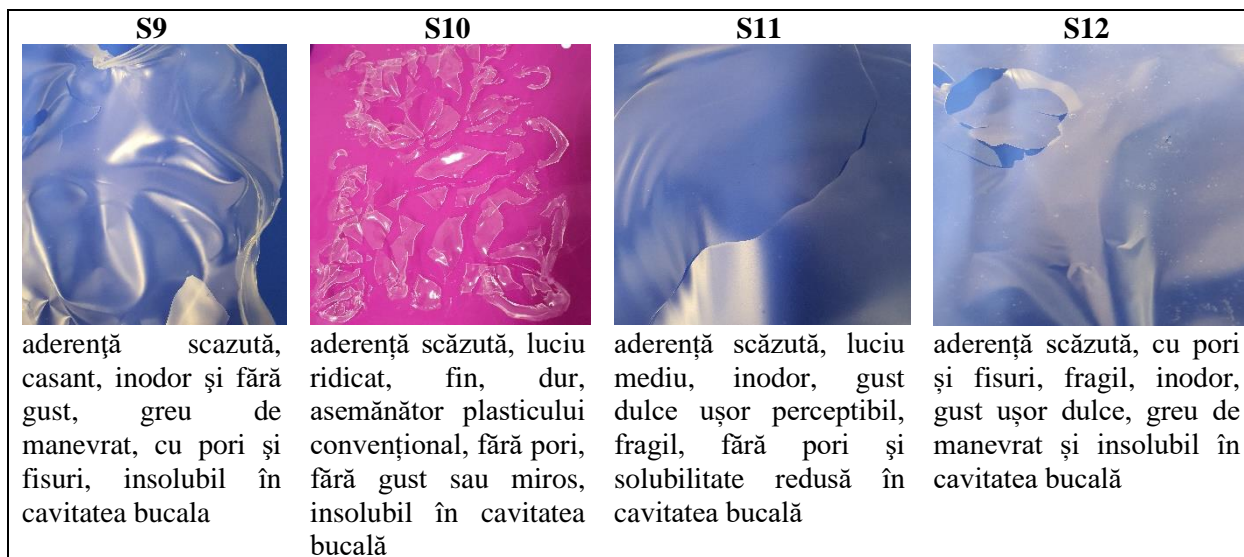


Rezultatele au fost diseminate și în cadrul articolelor publicate în regim open access, respectiv *Polymers* **2021**, zona Q1, IF – 4,329, „*Edible Biopolymers-Based Materials for Food Applications—The Eco Alternative to Conventional Synthetic Packaging*”, autori Roxana Gheorghita Puscaselu, Irina Besliu, Gheorghe Gutt, vol. 13(21), 3779; <https://doi.org/10.3390/polym13213779> și *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, indexat BDI în baze de date internaționale, lucrare „*Use of polymers in the development of edible packaging materials for food supplements*”, autori Roxana Gheorghita, Sonia Amariei, Gheorghe Gutt, Vol. XXV, No. 1, 2021, ISSN 2285-1364, [http://biotechnologyjournal.usamv.ro/pdf/2021/issue\\_1/Art17.pdf](http://biotechnologyjournal.usamv.ro/pdf/2021/issue_1/Art17.pdf).

Un alt compus natural testat pentru obținerea de materiale biopolimerice a fost amidonul. Întrucât acesta posedă proprietăți filmogenice diferite, în funcție de origine și modul de obținere, s-au luat în calcul trei tipuri de amidon, respective din cartofi, din grâu și din porumb.

Imagini ale peliculelor obținute se pot vizualiza în Figura 4.





*Figura 4. Imagini și caracteristici ale probelor obținute*

Conform rezultatelor, o cantitate mai mare de plastifiant în compoziție a facilitat dezvoltarea peliculelor autoadezive, care au fost mai moi, mai fine, mai plăcute la atingere, mai lucioase și fără pori sau fisuri (S6, S7). Proba obținută cu amidon de porumb (S6) este însă mai ușor de manevrat, spre deosebire de cea pe bază de amidon de cartofi (S7) care, deși mult mai moale și mai lucioasă, este autoadezivă și se manipulează cu dificultate. Utilizarea amidonului de cartofi în cantități mai mari (4,125-5,5 g per probă) și reducerea plastifiantului (0-0,55 g) au facilitat dezvoltarea unor pelicule dure, cu flexibilitate extrem de scăzută, similare cu materialele plastice convenționale (S1, S4, S10). În acest caz, pentru a fi utilizate ca materiale de ambalare, sunt necesare modificări ale compoziției, fie prin combinare cu alți biopolimeri, fie prin suplimentarea masei de plastifiant. Proprietăți mai bune a prezentat filmul S5: mai moale, mai fin, dar autoadeziv, a fost obținut din amidon de grâu și glicerol în raport de 1:1. Probele S8 și S9, fără adaos de glicerol, nu au putut fi manipulate, fiind dure și casante. Indiferent de natura amidonului, fără prezența unei substanțe care acționează ca plastifiant, filmele dezvoltate nu pot fi folosite. 10% glicerol în compoziție a fost insuficient, nereușind să îmbunătățească caracteristicile peliculelor, deși, conform probelor S11 și S12, pelicula obținută din amidon de grâu (S11) are caracteristici mult mai bune decât cea din amidon de porumb (S12), care s-a dovedit a fi mai fragil și mai opac.

Scopul testării a fost acela de a identifica sursa optimă de amidon ce poate fi folosită pentru a dezvolta materiale utilizate pentru ambalarea alimentelor, întrucât aceasta este un ingredient mult mai ieftin decât ceilalți biopolimeri testați până în prezent. Conform rezultatelor, filmele obținute din amidon de cartofi și porumb, plastificate cu o cantitate mai mare de glicerol, ar putea fi folosite ca folii de ambalare. Autoadezivitatea, deși ridică probleme în manipularea foliilor, poate fi una benefică, dacă ținem cont că, în acest fel, pot fi eliminate diverse substanțe folosite pentru lipirea ambalajelor convenționale, obținute de obicei prin procedee chimice. Filmele obținute din amidon de cartofi, fără sau cu conținut scăzut de plastifiant (10%) nu pot fi prelucrate sau manipulate, deși, la prima vedere, seamănă cu materialele plastice convenționale. Creșterea cantității de glicerol a facilitat îmbunătățirea tuturor proprietăților, așa cum se poate observa în cazul probei S7.

Îmbunătățirea proprietăților se poate realiza prin combinarea cu alți biopolimeri naturali, precum cei utilizați până acu, respectiv agar, alginat de sodiu, caragenan, chitosan sau cei pe bază de proteine. Filmele obținute ar putea fi folosite pentru ambalarea pulberilor vegetale sau a legumelor deshidratate, folosite de obicei în zona Horeca, ambalate de regulă în materiale convenționale, de tipul multistrat, greu de sortat și aproape imposibil de reciclat. Pe lângă avantajul unui ambalaj complet solubil în apă, amidonul din compoziția lor poate fi folosit ca agent de îngroșare sau de texturare pentru produsele finite.

Diseminarea rezultatelor s-a realizat prin prezentare în cadrul conferinței internaționale „21st International Scientific GeoConference SGEM 2021” și publicare a articolului „*The importance of starch source in the development of edible materials for food packaging*”, autori Roxana Gheorghita, Gheorghe Gutt, în volumul indexat ISI – „*Conference Proceedings of the 21st International Scientific GeoConference SGEM 2021*”. Cercetarea a fost una de mare interes atunci când a fost prezentată în cadrul conferinței SGEM 2021, fiind premiată. Numeroși participanți și-au arătat interesul și dispoziția de a colabora în dezvoltarea de astfel de ambalaje, după prezentarea rezultatelor obținute. Același interes a fost manifestat și când rezultatele au fost diseminate în cadrul conferinței „The International Conference “Biotechnologies, Present and Perspectives” Suceava, Romania”, prin prezentarea lucrării „*New applications of starch in the food industry: the development of edible packaging materials*”, autori Roxana Gheorghita, Gheorghe Gutt, a cărei abstract a fost publicat în volumul conferinței, „*The International Conference “Biotechnologies, Present and Perspectives” Suceava, Romania, 8th Edition, 5th November 2021. ABSTRACTS*”, ISSN 2068 – 0819, pag. 77, <https://fajournal.usv.ro/conference2021/>.

O modalitate de îmbunătățire a caracteristicilor fizice, de solubilitate și senzoriale este reprezentată de adaosul de substanțe naturale în compoziția soluției formatoare de film ce are la bază dezvoltarea viitorului material de ambalare. Un mod facil și de succes este reprezentat de adaosul de uleiuri esențiale naturale. În acest sens, primele testări au vizat dezvoltarea de filme biopolimerice cu adaos de ulei esențial de oregano, cimbru și rozmarin în compoziție. Adaosul de ulei esențial a îmbunătățit microstructura, cea mai redusă valoare a rugozității identificându-se la proba cu o cantitate mai mare de ulei esențial de oregano adăugat în compoziție, iar cea mai mare valoare a rugozității, la proba fără adaos de ulei esențial. Astfel, adaosul de ulei a avut un efect benefic nu doar asupra caracteristicilor senzoriale, ci și asupra microstructurii, aspect important atunci când se urmărește folosirea acestor filme ca materiale de ambalare.

Grosimea probelor a variat între 32,80 - 52,80  $\mu\text{m}$ . Diferența maximă dintre filmul cu cea mai mică valoare a grosimii și cel cu cea mai mare valoare a fost de 20  $\mu\text{m}$ . Filmele obținute au avut grosime uniformă, fapt evidențiat și de valorile reduse ale abaterilor standard, respectiv 0,03-0,05. Valoarea maximă a raportului de retragere a fost identificată la proba cu adaos redus de ulei de oregano în compoziție, iar cea mai mică la proba cu adaos mai ridicat, respectiv 50  $\mu\text{l}$  de ulei esențial. Creșterea volumului de ulei esențial adăugat a dus, implicit, la creșterea valorilor grosimii și a raportului de retragere. Luminozitatea filmelor nu a prezentat variații mari ( $SD = \pm 0,49$ ). Din rezultate, nu se observă nicio schimbare datorată adaosului de ulei esențial.

Diferențe majore au fost observate la solubilitatea filmelor. Astfel, cu adaos de ulei de oregano în compoziție nu au putut fi testate datorită solubilității lor complete după 8 ore de la imersie.

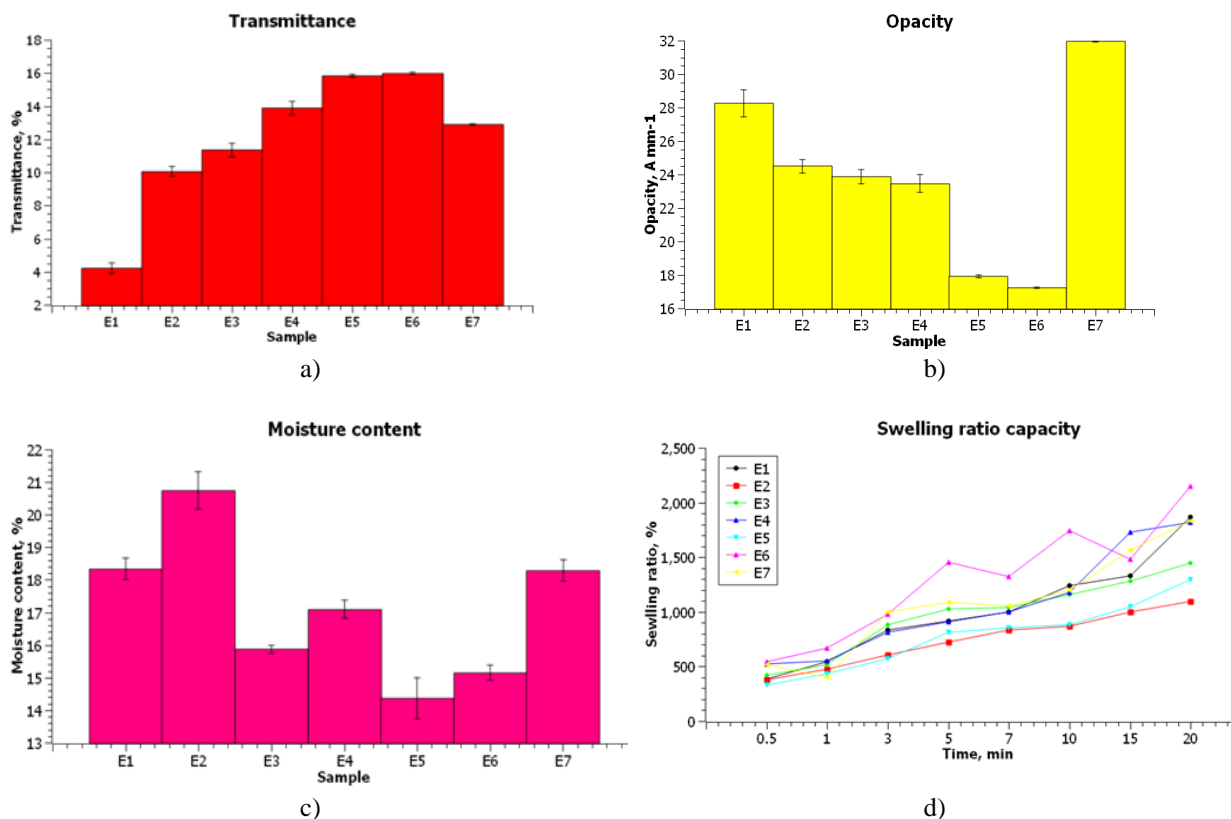


Figura 5. Caracteristici ale filmelor cu adaos de ulei esențial în compoziție: a) transmitanță, b) opacitate, c) umiditate, d) solubilitate în apă.

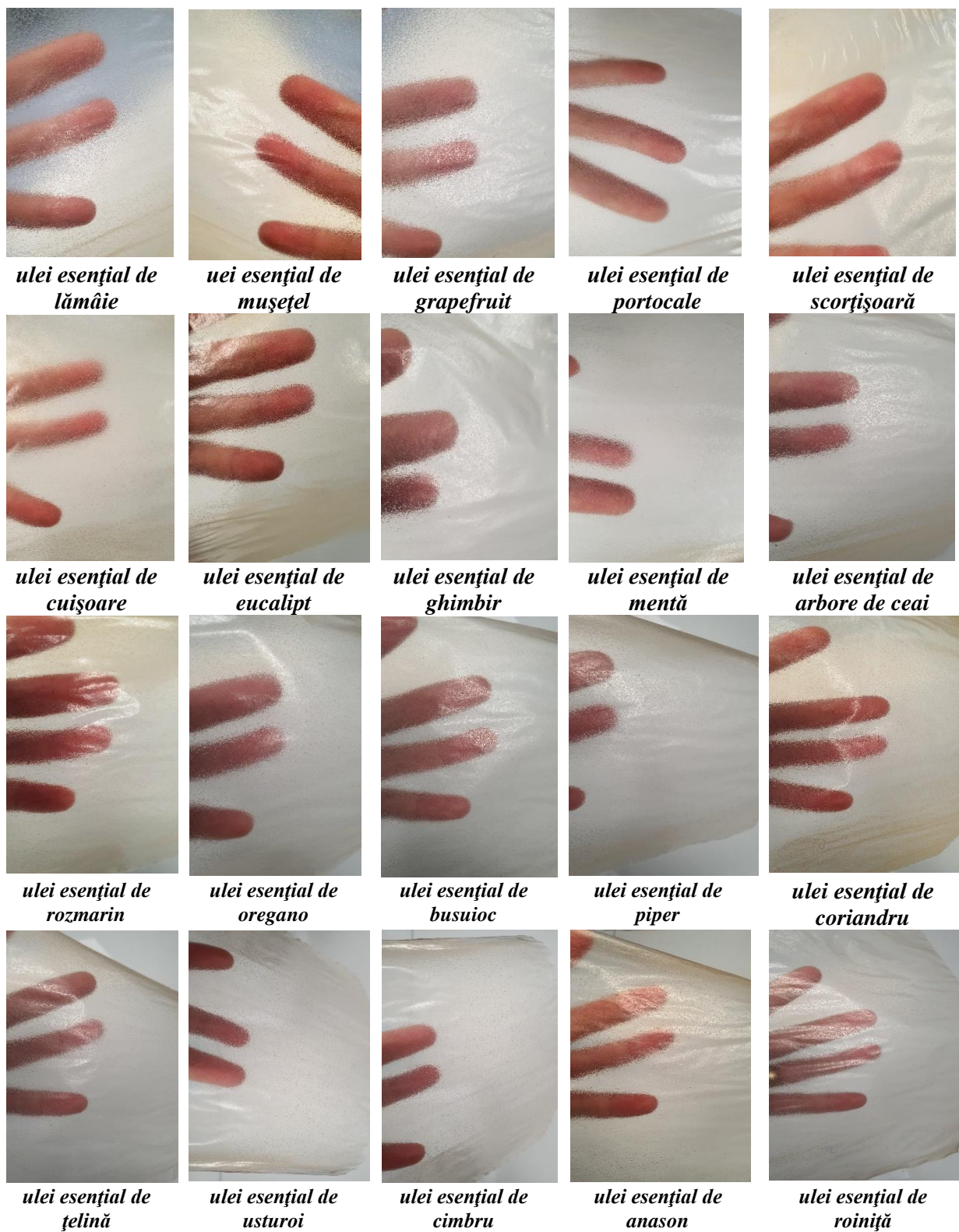
Conform rezultatelor obținute, peliculele dezvoltate pot fi folosite pentru ambalarea alimentelor. Datorită capacității mari de rehidratare, se recomandă folosirea lor pentru produsele cu umiditate redusă, care necesită dizolvarea înainte de consum (lapte praf, ceai instant, diverse pulberi sau alte amestecuri de vegetale deshidratate). Adaosul de ulei esențial a îmbunătățit aspectul și proprietățile senzoriale ale filmelor. Întrucât ambalajul este un factor major în strategia de marketing a produsului, proprietățile fizice și optice ale acestor filme indică succesul în acest sens.

Rezultatele au fost diseminate prin prezentare în cadrul conferinței internaționale „21st International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2021” și publicare în volumul indexat ISI – „Conference Proceedings of the 21st International Scientific GeoConference SGEM 2021” a lucrării „Are biopolymers the weapon against pollution due to disposable packaging? New biobased edible materials for packaging food supplements”, autori Roxana Gheorghita, Gheorghe Gutt.

Cercetările viitoare implică evaluarea solubilității acestor materiale în lichide cu temperaturi diferite. De asemenea, se va urmări capacitatea lor antioxidantă atunci când sunt



utilizate pentru ambalarea produselor ce pot suferi degradare oxidativă. În acest sens, materialele au fost deja obținute și se află în curs de testare (Figura 6).



**Figura 6. Filme biopolimerice cu adaos de diferite uleiuri esențiale**

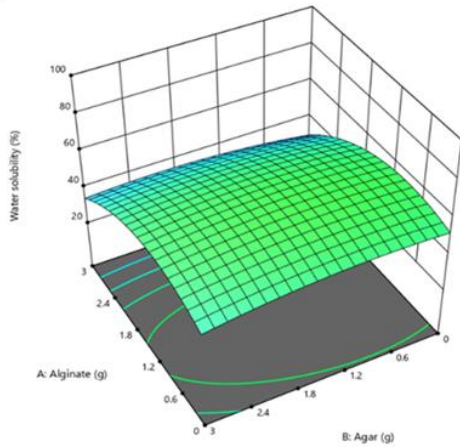


Rezultatele vor fi diseminate în cadrul congresului „*6th ASIA PACIFIC International Modern Sciences Congress*”, 15-16.12.2021, Delhi, India, prin prezentarea lucrării „*Use of Biopolymers and Natural Essential Oils for the Development of Edible Packaging for Food Supplements*”, autori Roxana Gheorghita, Gheorghe Gutt. Ulterior, rezumatul acesteia va face parte din volumul conferinței, ce va putea fi urmărit pe pagina <https://en.iksadasia.org/kitaplar>. De asemenea, rezultatele cercetării ce implică adaosul de uleiuri esențiale vor fi diseminate în cadrul conferinței internaționale „*New trends in polymer science – health of the planet, health of the people*”, 25-27.05.2022, Torino, Italia, cu lucrarea „*Innovative edible biomaterials with natural essential oils for powdered supplements: new strategies to improve food quality and reduce waste from disposable packaging*”, autori Roxana Gheorghita, Gheorghe Gutt.

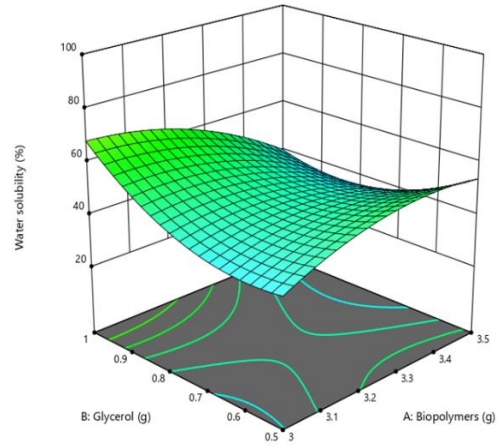
**Optimizarea compozițiilor în vederea dezvoltării unui material cu proprietăți superioare – Activitatea 2.6** *Optimizarea compoziției cu ajutorul programelor statistice în vederea obținerii unui material cu proprietățile urmărite*

Conform imaginilor prezentate în Figura 7, analiza statistică a vizat optimizarea substanțelor utilizate pentru obținerea filmelor. S-a luat în calcul influența conținutului acestora asupra proprietăților fizice și optice și a solubilității în apă. Astfel, pentru o valoare medie a solubilității în apă, cantitățile de biopolimeri sunt de 1,24 g agar, 0,98 g alginat (Figura 7a), iar raportul dintre biopolimeri: glicerol ar trebui să fie 3:1 (Figura 7b). Creșterea solubilității este direct proporțională cu creșterea conținutului de alginat. Grosimea este puternic influențată de conținutul în biopolimeri. Un conținut mai mare de agar în compoziție va facilita obținerea de materiale cu grosime mai mare, în timp ce creșterea masei de alginat va favoriza dezvoltarea celor mai subțiri. Conform optimizării, pentru dezvoltarea unei pelicule subțiri, este necesar ca biopolimerii să mențină raportul de 3:1,5 (Figura 7c). În mod similar, creșterea conținutului de glicerol în compoziție va favoriza dezvoltarea unor pelicule mai subțiri. Pentru a obține materiale cu grosime medie, rezultatele optimizării indică un raport de 3:0,5 conținut de biopolimer: plastifiant (Figura 7d). Opacitatea este direct corelată cu adaosul de agar în compoziție, fiind cunoscut faptul că filmele cu adaos mare de alginat sunt mai transparente. Pentru a obține filme cu opacitate scăzută, raportul biopolimer: glicerol trebuie menținut la 3,5: 1 (Figura 7e). Creșterea masei de alginat și a celei de glicerol va favoriza dezvoltarea materialelor cu opacitate scăzută și, implicit, transmitanță ridicată (Figura 7f).

**Solubilitate în apă**

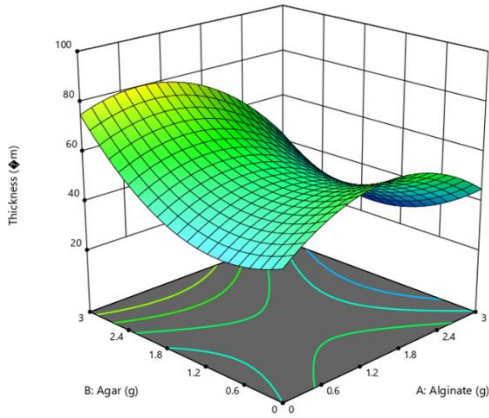


**a)**

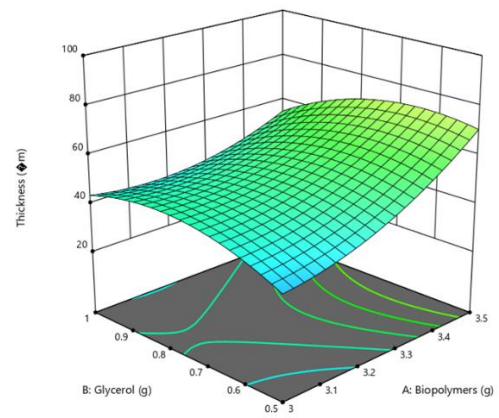


**b)**

**Grosime**

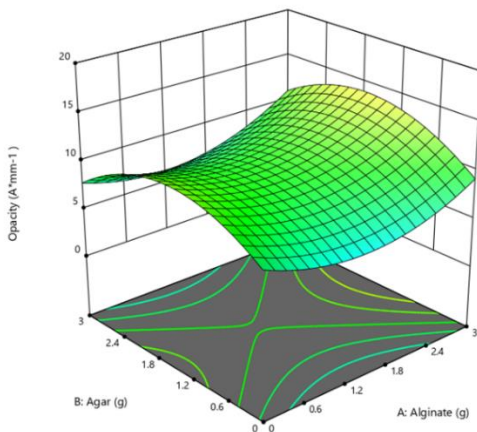


**c)**

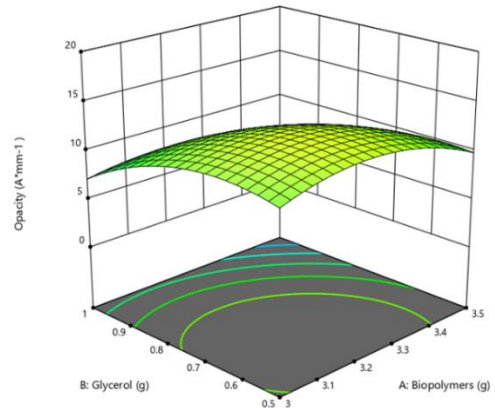


**d)**

**Opacitate**

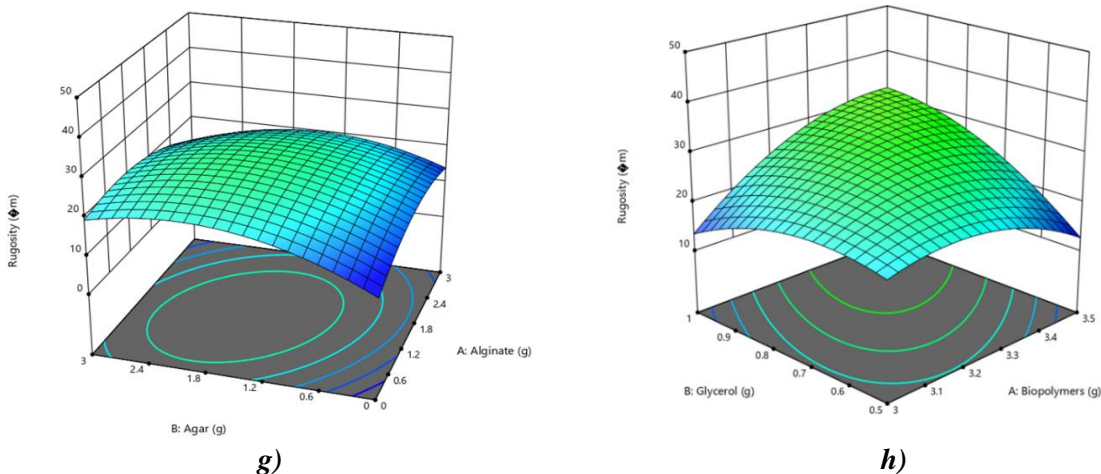


**e)**



**f)**

**Rugozitate**



**Figura 7. Rezultatele optimizării statistice**

Toate ingredientele folosite pentru obținerea materialelor sunt naturale și pot fi consumate fără atenționări suplimentare, fiind acceptate ca utilizare în doze *quantum statis*.

**Diseminarea rezultatelor** obținute pe parcursul etapei a II-a a vizat participarea la cinci conferințe de specialitate, din țară și străinătate, obținerea a două premii (cel mai bun poster și cea mai bună prezentare), precum și publicarea, respectiv acceptul, a patru articole, unul în jurnal indexat zona Q1 (IF 4.329), două acceptate în reviste indexate ISI și unul în jurnal BDI. Rezultatele actuale vor fi prezentate și în cadrul unei conferințe internaționale organizată în Italia, în mai 2022.

Pe lângă aceste rezultate, compoziția filmului cu cele mai bune performanțe (**B14**) a fost propusă pentru protejare intelectuală și industrială, prin propunere de brevet, înregistrată la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci, număr de înregistrare A00737/06.12.2021.

Parte dintre rezultatele obținute în cadrul testărilor a fost integrată în cartea „**Îndrumar de utilizare a filmelor și foliilor subțiri**”, autor Roxana Gheorghita, ISBN 978-606-685-835-9, aflată în curs de publicare la Editura Performantica, acreditată CNCSIS, Iași. Manualul aduce în fața cititorului o serie de determinări specifice filmelor biopolimerice, a căror utilizare s-a intensificat în prezent, datorita proprietăților comparabile cu materialele convenționale și a beneficiilor în utilizare.

În vederea diseminării rezultatelor, pagina web a proiectului – [www.innomat.usv.ro](http://www.innomat.usv.ro) este funcțională și pune la dispoziția vizitatorului obiectivele proiectului, precum și stadiul cercetărilor și a rezultatelor.

Director Proiect,  
Dr. ing. Roxana Gheorghită