



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2016 00575

(22) Data de depozit: 11/08/2016

(41) Data publicării cererii:
30/05/2017 BOPI nr. 5/2017

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL DE CHIMIE
MACROMOLECULARĂ "PETRU PONI"
DIN IAȘI, ALEEA GRIGORE GHICA VODĂ
NR.41 A, IAȘI, IS, RO

(72) Inventatori:
• BUTNARU ELENA, BD. NICOLAE IORGA
NR. 43A, BL. X1, ET. 3, AP. 15, IAȘI, IS, RO;

• STOLERU ELENA, BD. PRIMĂVERII
NR. 19C, BL. D2B, ET. 4, AP. 17, IAȘI, IS,
RO;
• BREBU MIHAI ADRIAN,
STR. PLOPII FĂRĂ SOȚ NR. 7
TRONSON 1, ET. 1. AP. 6, IAȘI, IS, RO;
• RÂPĂ MARIA, ALEEA GORNEȘTI NR.3,
BL.52, SC.1, AP.2, SECTOR 4, BUCUREȘTI,
B, RO;
• VASILE CORNELIA, STR.PANTELIMON
NR.29, BL.308, SC.A, ET.3, AP.12, IAȘI, IS,
RO

(54) **PROCEDEU ȘI COMPOZIȚIE PENTRU OBTINEREA DE NOI
MATERIALE POLIMERICE PRIN ÎNCORPORAREA
DE ULEIURI VEGETALE ÎN MATRICEA DE CHITOSAN,
CU APLICAȚII ÎN INDUSTRIA AMBALAJELOR**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un material polimeric și la un procedeu pentru obținerea acestuia, utilizat în industria ambalajelor pentru alimente. Materialul conform invenției este constituit, în procente masice, din 54,9...55,8% chitosan cu masă moleculară medie, 36,6...37,2% ulei de sămburi de măceșe, 6,86...6,97% Tween 80 și 1,64% argilă. Procedeu conform invenției constă în prelucrarea materiilor prime în soluție la

temperatura camerei, după care din emulsia rezultată se evaporă solventul, rezultând un material sub formă de film uniform, având o grosime de 0,148...0,237 mm, flexibilitate mărită, un grad de inhibare după 24 h de acțiune a unor microorganisme de 59...82%, și o activitate antioxidantă mărită de la 1,6% la 6,78%.

Revendicări: 2



Invenția se referă la compoziția unor noi materiale polimerice obținute prin încorporarea de uleiuri vegetale, cum ar fi ulei din sămburi de măceșe și nanoargila tip montmorilonit în matrice de chitosan, cu proprietăți antimicrobiene și antioxidante, pentru aplicații în industria ambalajelor, și un procedeu de obținere a acestora.

Bioîncorporarea constă în introducerea și imobilizarea unor molecule bioactive, în matrici polimerice. Această metodă este intens utilizată în industria alimentară [Gómez-Estaca *et al.*, 2010; López-Mata *et al.*, 2013].

În ultimele decenii, încorporarea compușilor bioactivi precum vitamine, proteine, coloranți, argile sau uleiuri vegetale a devenit o tehnologie de mare interes. Încorporarea de compuși bioactivi în matrici polimerice se poate realiza prin tehnica emulsiei. Emulsiile sunt amestecuri a două lichide imiscibile care sunt stabilizate cu ajutorul unui agent tensioactiv. O emulsie poate fi obținută utilizând diferite procese, precum: microfluidizarea, omogenizarea la presiune înaltă sau ultrasunarea. Emulsiile sunt în general obținute prin procesul de dispersare cu ajutorul ultrasunetelor, fiind o metodă accesibilă și convenabilă din punct de vedere economic [Sugumar *et al.*, 2015]. Pentru stabilizarea emulsiilor, în general se folosesc surfactanți precum Tween 20 sau Tween 80, cu rol de a ușura dispersarea fazei interne în cea externă și de a stabiliza emulsia prin formarea unui strat monomolecular în jurul particulelor dispersate și astfel protejându-le de aglomerare.

Biopolimerii utilizați ca matrici sub formă de filme sunt materiale excelente pentru încorporarea unor tipuri variate de aditivi, precum substanțe antioxidante sau agenți antifungici și antimicrobieni [Rhim and Ng 2007].

Determinarea proprietăților de barieră ale unui polimer este importantă pentru estimarea și prezicerea termenului de valabilitate a produsului ambalat. În general, polizaharidele inclusiv chitosanul, pot forma legături intra- și intermoleculare și astfel este de așteptat ca aceste materiale biodegradabile să aibă proprietăți superioare de barieră comparativ cu filmele convenționale utilizate în industria ambalajelor. Vaporii de apă, oxigenul și dioxidul de carbon sunt parametri importanți care sunt studiați în aplicațiile pentru ambalaje, deoarece pătrunderea oxigenului prin pereții ambalajului conduce la oxidarea alimentului (modificări de miros, culoare, aromă) [Mura *et al.*, 2011].

Chitosanul este un polimer biodegradabil, netoxic, derivat din chitină, aceasta fiind al doilea polimer natural după celuloză. De asemenea, chitosanul este un material mai des utilizat în industria ambalajelor comparativ cu alți biopolimeri, datorită activității sale puternic antimicrobiene împotriva bacteriilor și mucegaiurilor și prin urmare poate prelungi termenul de valabilitate al alimentelor. S-a demonstrat că filmele de chitosan pot crea o

barieră semipermeabilă, care poate întârzia creșterea microbiană și astfel protejează calitatea alimentelor [González-Aguilar *et al.*, 2009]. Cu toate acestea, unul dintre principalele dezavantaje ale chitosanului este acțiunea sa limitată ca barieră împotriva umidității și are proprietăți antioxidante slabe. Pentru îmbunătățirea acestor proprietăți s-a studiat posibilitatea încorporării de compuși bioactivi, precum uleiuri vegetale, în matricea de chitosan [Campos *et al.*, 2011].

Industria alimentară a acordat o atenție deosebită uleiurilor vegetale datorită proprietăților antioxidante și antimicrobiene. Uleiul din sămburi de măceșe are o consistență ușoară, de culoarea chihlimbarului, fiind obținut din miezul semințelor de măceșe. Din sămburii de măceșe se poate extrage un conținut mic de ulei, aproximativ 8 %; principalii componenți ai uleiului de măceșe sunt acizii linolenic și linoleic (40,5 % și respectiv 16 %) [da Silva *et al.*, 2008]. Uleiul din sămburi de măceșe (UM) conține o varietate de compuși chimici (în principal, carotenoide, tocoferoli, squalene, fitosteroli, compuși fenolici, acizi grași) care conferă activitate antioxidantă și antimicrobiană acestuia [Grajzera *et al.*, 2015].

O altă alternativă privind îmbunătățirea proprietăților de barieră, precum și cele mecanice ale filmelor pe bază de chitosan, reprezintă obținerea de nanocompozite deoarece prin folosirea unei cantități mici de nanoargilă materialul nou obținut va avea proprietăți fizice, termice și mecanice semnificativ mai bune. Din mai multe studii s-a observat îmbunătățirea proprietăților mecanice [Lavorgna *et al.*, 2010] și de barieră [Casariego *et al.*, 2009] ale filmelor pe bază de chitosan încorporate cu un conținut de 1-5 wt.% nanoargilă.

Invenția de față rezolvă problema lipsei flexibilității filmului de chitosan pur precum și îmbunătățirea proprietăților mecanice și de barieră, prin încorporarea unor substanțe cu caracter antioxidant și antimicrobian, precum uleiul de măceșe și nanoargilă C30B.

Compoziția conform invenției înlătură dezavantajele menționate prin aceea că uleiul de măceșe și nanoargila C30B sunt încorporate în filmul de chitosan la temperatura camerei, prin procesul de dispersare cu ajutorul ultrasunetelor și astfel se asigură controlul proprietăților obținându-se un material flexibil și cu proprietăți mecanice, antimicrobiene și antioxidante mult îmbunătățite comparativ cu cele ale filmului de chitosan pur.

Scopul invenției de față este încorporarea unor compuși bioactivi, respectiv uleiul de măceșe și nanoargila C30B în matricea de chitosan și crearea unei bariere între compușii bioactivi și mediu. Această barieră reprezintă o protecție împotriva oxigenului, apei, luminii și evitarea contactului cu alimentul, precum și controlul eliberării lor în timp.

Pentru obținerea materialelor încorporate **descrise în invenția de față** s-au utilizat:

- Chitosan cu masă moleculară medie (CHM), achiziționat de la firma Sigma Aldrich, cu $M_w = 190,000-300,000$ g/mol, grad de deacetilare de 75-85% și vâscozitate 200-800 cP;
- Ulei din sâmburi de măceșe (UM) comercial de la firma Herbavit, România;
- Tween 80 (T80): Cunoscut și sub denumirea de Polisorbat 80, Tween 80 este un surfactant neionic și emulsifiant și se prezintă sub forma unui lichid galben vâscos solubil în apă. În protocolul experimental s-a utilizat Tween 80 produs de firma Sigma Aldrich, a cărui masă moleculară este de 1310 g/mol, cu un conținut ≥ 58 % acid oleic.
- Cloisite 30B Montmorilonite (C30B) procurat de la firma Southern Clay Inc de la Rockwood Additives Ltd., este o argilă tip montmorilonit modificată cu sare cuaternară de amoniu (MT2EtOH = clorură de alchil bis (2-hidroxiethyl) metilamoniu), cu un conținut de argilă de 75 %, umiditate < 2 % și densitate $1,98$ g/cm³. Structura argilei conține lanțuri de grăsimi derivate din seu (T) cu următoarea compoziție: ~ 65 % C18, ~ 30 % C16 și ~ 5 % C14. Cloisite 30B este cea mai utilizată argilă tip montmorilonit, deoarece fiind modificată organic cu un surfactant, dispune de două grupări funcționale (grupări OH și ramificări alchil legate de grupări cuaternare de amoniu) [Esposito *et al.*, 2010] și este aprobat pentru utilizarea în contact cu alimentele de către FDA.

Procedeu de obținere a unor noi materiale cu flexibilitate, proprietăți mecanice, antioxidante și antimicrobiene îmbunătățite, pe bază de filme pentru aplicații în industria ambalajelor, **conform invenției, constă în aceea că** s-au obținut filme pe bază de CHM/UM și CHM/UM_C30B prin tehnica de evaporare a solventului în condiții controlate. Pentru aceasta s-au dizolvat 3 g chitosan în 100 mL soluție acid acetic de concentrație 5 %, timp de 72 ore sub agitare magnetică. Apoi, în soluția de chitosan se adaugă 2 mL ulei din sâmburi de măceșe (0,75 mL/1g chitosan) și 0,375 g Tween 80 (0,125 g/1g chitosan), și respectiv 2 mL ulei din sâmburi de măceșe (0,75 mL/1g chitosan), 0,09 g argilă C30B și 0,375 g Tween 80 (0,125 g/1g chitosan). Soluțiile astfel obținute au fost omogenizate cu ajutorul unui aparat de ultrasonare UP50H (Hielscher – Ultrasound Technology, Teltow, Germania, 50 W la 30 kHz). Filmele au fost obținute prin turnarea a 50 mL emulsie în vase Petri din sticlă (153 cm²) și uscarea mai întâi la nișă la 25 °C timp de 24 h și apoi la etuvă la 40 °C. Pentru o uscare mai eficientă, filmele au fost ulterior uscate și la etuva de vid, la 40 °C, timp de 24 ore, pentru a obține filme uniforme de culoare gălbui-roșiatic. Înainte de caracterizarea fizico-chimică, filmele au fost condiționate în exicator timp de 2 zile la 22 °C, cu o soluție saturată de NaBr (58% umiditate relativă).

Tehnologia de obținere descrisă mai sus este redată schematic în Figura 1.

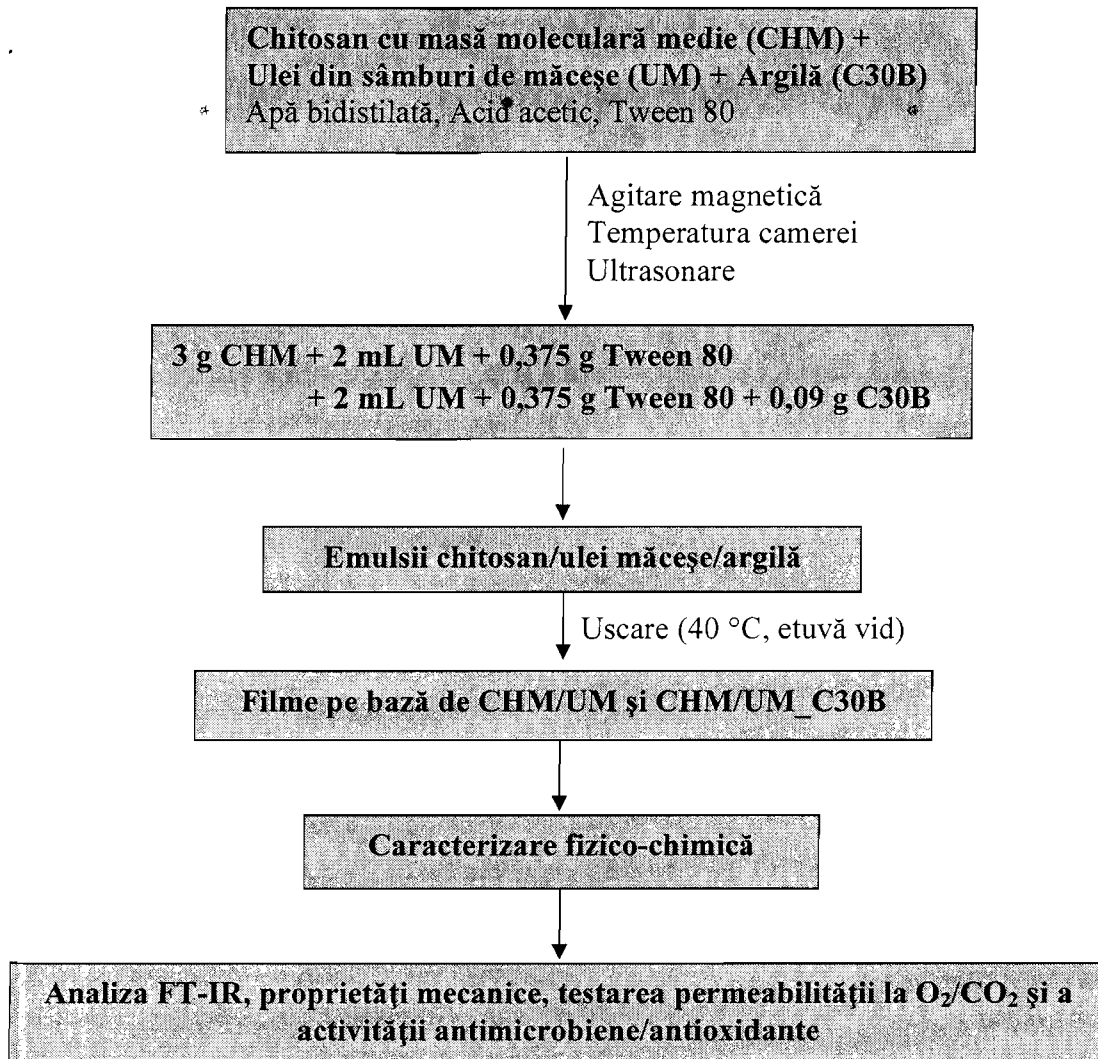


Figura 1. Schema tehnologiei de obținere a filmelor pe bază de chitosan, ulei din sămburi de măceșe și argilă C30B

Invenția prezintă avantajul că se obțin filme pe bază de chitosan încorporate cu ulei de măceșe și argilă modificată organic C30B, cu proprietăți speciale, ce se pot utiliza ca ambalaje în industria alimentară.

În continuare se dau **2 exemple de realizare a invenției**, unde sunt redată comportarea mecanică și permeabilitatea la O₂/CO₂ a materialelor obținute, gradul de inhibare a unor microorganisme ca de exemplu *Bacillus Cereus*, *Escherichia coli* și *Salmonella typhymurium* și precum și date privind caracterul antioxidant ale materialelor pe bază de CHM conținând ulei din sămburi de măceșe și argilă C30B ca agenți antimicrobieni și antioxidanți.

Metode de caracterizare

FTIR-ATR: Probele au fost investigate cu ajutorul tehnicii analitice FTIR-ATR, înregistrând spectrele corespunzătoare în absorbanta, în domeniul spectral cuprins între 500-4000 cm^{-1} cu ajutorul unui spectrometru Bruker VERTEX 70. Toate spectrele (16 scanări cu o rezoluție de 4 cm^{-1} și raportat la un spectru background adecvat) au fost înregistrate la 25 °C. Procesarea și analiza spectrelor s-au realizat folosind programele OPUS și Origin.

Proprietăți mecanice: Testarea la tracțiune – caracteristicile evaluate la testele de tracțiune (modulul lui Young, rezistența la rupere, alungirea la rupere) au fost înregistrate conform standardului SR EN ISO 527-2/1996, utilizând un aparat Instron 3345, având viteza de testare de 10 mm/min, lungimea epruvetei fiind de 40 mm. Toate epruvetele au fost inițial condiționate la 23 °C și 50 % umiditate relativă. Au fost testate 5 epruvete și s-au luat în considerare valorile medii ale rezultatelor.

Permeabilitatea la O_2/CO_2 – Testele de permeabilitate au fost realizate cu ajutorul unui tester de permeabilitate model Lyssy L100-5000 (Systech Illinois), la 23 °C, după ce probele au fost stabilizate minim 4 ore. Principiul de funcționare al aparatului constă în modificarea presiunii prin intermediul transmiterii gazului prin filme. În camera de măsurare, probele sub formă de filme sunt separate în două compartimente, compartimentul inferior fiind vidat sub presiune definită, în timp ce un flux continuu de gaz (O_2 , CO_2 , N_2 , etc) trece prin compartimentul superior. Prin închiderea supapei crește presiunea în compartimentul inferior datorită migrației prin intermediul filmului a gazului din compartimentul superior. Instrumentul măsoară timpul necesar pentru creșterea presiunii în termen de două limite pre-definite și comparând cu valorile măsurate pentru un film etalon, calculează permeabilitatea filmului testat.

Teste antimicrobiene – Testele antimicrobiene au fost efectuate în conformitate cu metodele standard ISO 16649-2 SR / 2007 - Microbiologia produselor alimentare și animale. Protocolul experimental pentru testarea eficienței antimicrobiene împotriva *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* și *Salmonella typhimurium*, constă în următoarele etape: sterilizarea mostrelor; contaminare cu bacterii de cultură ATCC; inoculare și incubare efectuată la 24 și 48 de ore la 44°C; identificarea germenilor țintă. Sterilizarea probelor a fost făcută într-o autoclavă la 110°C, 0,5 bari timp de 20 min.

Identificarea germenilor țintă: Următoarele metode standardizate ale procedurilor bacteriologice au fost utilizate în conformitate cu standardele în vigoare:

- SR ISO 16649 - *Escherichia coli*; Metoda orizontală pentru enumerarea bacteriilor din genul *Escherichia coli* β -glucuronidaza pozitivă. Partea 2: Tehnica numărării coloniilor la 44

°C folosind 5-brom-4-clor-3-indolil beta-D-glucuronid conform "Minerale Modified Glutamat buLion" (Cat. 1,365) producerea coloniilor albastru sau verde-albastru pe agar glucuronid;

- SR EN ISO 6579/2003/AC/2004/AC/2006, 2007, Metoda orizontală pentru detectarea bacteriilor din genul *Salmonella spp*;
- SR EN ISO 7932/2005, Metoda orizontală pentru numărarea *Bacillus Cereus* prezumtiv. Tehnica de numărare a coloniilor la 30°C.

Activitatea antioxidantă: Pentru realizarea testului s-a utilizat 300 mg din fiecare probă, care au fost plasate într-un vas ce conține 10 mL cloroform sub agitare continuă timp de 24 ore. Din fiecare amestec s-a extras un volum de 1,5 mL care s-a amestecat cu 3 mL de soluție etanolică DPPH ($1.5 \cdot 10^{-4}$ mol/L). Controlul a fost obținut prin amestecarea aceluiași volum de cloroform cu 3 ml de DPPH. Amestecurile au fost lăsate timp de 30 minute la temperatura camerei, la întuneric, după care s-a măsurat absorbanța la 520 nm. Activitatea de dezactivare a radicalului a fost calculată folosind următoarea ecuație:

$$\%RSA = 100 \times \left(\frac{A_{control} - A_{proba}}{A_{proba}} \right) \quad (1)$$

Unde: %RSA reprezintă activitatea procentuală de inactivare a radicalului, $A_{control}$ este absorbanța soluției etanolice de DPPH și A_{proba} este absorbanța probei.

Exemplul 1.

Într-un pahar Berzelius se prepară o soluție de chitosan prin dizolvarea a 3 g de chitosan în 100 mL soluție slab acidă și se lasă la temperatura camerei sub agitare magnetică timp de 72 ore. În soluția de chitosan se adaugă 2 mL ulei de măceșe (0,75 mL ulei/1g CHM) și 0,375 g Tween 80 (0,125g/1g CHM) și se ultrasonază timp de 10 min, cu ajutorul unui aparat de ultrasonare UP50H. 50 mL din emulsia obținută se toarnă într-un vas Petri din sticlă (153 cm²) și se lasă la etuvă la 40 °C timp de 24 ore obținându-se filme cu compoziția 55,8 % chitosan cu masă moleculară medie, 37,2 % ulei din sâmburi de măceșe, 6,97 % Tween 80. Pentru o uscare mai eficientă (evaporarea acidului acetic) filmele au fost uscate și la etuva cu vid, la 40 °C, obținându-se filme uniforme galben/roșiatice, cu grosime de 0,237 mm, având rezistență la rupere de 60,09 MPa și o valoare a modulului lui Young de 3232,33 MPa. Alungirea la rupere are o valoare de 11,65 %, gradul de inhibare după 24 ore de acțiune a unor microorganisme a fost de 59 % pentru *Bacillus cereus*, 86 % pentru *Escherichia coli*, și de 61 % pentru *Salmonella typhymurium*, **permeabilitate mică la O₂ și CO₂** de 212 ml/m²/zi și respectiv 37 ml/m²/zi, iar **activitatea antioxidantă este de 6,78 %.**

Exemplul 2.

Se procedează ca în exemplul 1, iar în soluția de chitosan se adaugă în plus 0,09 g argilă modificată organic, C30B, filmul rezultat având compoziția 54,9 % chitosan cu masă moleculară medie, 36,6 % ulei din sămburi de măceșe, 6,86 % Tween 80 și 1,64 % argilă C30B. Se obține un film gălbui/roșiatic cu o grosime de 0,193 mm, având rezistență la rupere de 70,72 MPa și o valoare a modulului lui Young de 4110,95 MPa. Alungirea la rupere are o valoare de 11,4 %, gradul de inhibare după 24 ore de acțiune a unor microorganisme a fost de 82 % pentru *Bacillus cereus*, 90 % pentru *Escherichia coli*, și de 68 % pentru *Salmonella typhimurium*, **permeabilitate mică la O₂ și CO₂ de 134 ml/m²/zi și respectiv 18 ml/m²/zi, iar activitatea antioxidantă este de 6,22 %.**

Materialele sintetizate au fost testate cu ajutorul *spectroscopiei FTIR-ATR* cu scopul de a se demonstra încorporarea în emulsia de chitosan a uleiului de măceșe. Astfel, din spectrele FTIR-ATR – **Figura 2**, se observă că unele benzi caracteristice uleiului de măceșe s-au evidențiat și în spectrele FT-IR ale probelor CHM/UM și CHM/UM_C30B. Astfel, în intervalul 3100-2800 cm⁻¹ se evidențiază benzile de absorbție caracteristice vibrațiilor simetrice și asimetrice ale grupărilor alifatiche $\nu(\text{C-H})$ din CH₂ și CH₃ din resturi alchil ale trigliceridelor. Banda de la 1741 cm⁻¹ este caracteristică uleiurilor cu un conținut mare de acizi grași saturați, iar banda caracteristică uleiului de măceșe de la 1461 cm⁻¹ este asociată vibrațiilor de deformare $\delta(\text{CH})$.

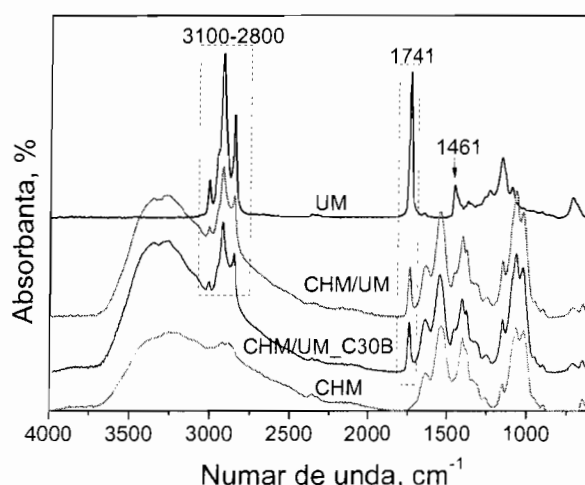


Figura 2. Spectrele FTIR-ATR ale uleiului de măceșe, chitosan și a materialelor obținute prin tehnica emulsiei

Au fost testate *proprietățile mecanice* ale materialelor obținute. Proprietățile mecanice sunt importante atunci când facem referire la materiale propuse pentru aplicații în industria ambalajelor, deoarece rezistența la rupere și flexibilitatea asigură integritatea ambalajului.

Proprietățile mecanice ale filmelor pe bază de chitosan sunt afectate de către tipul de chitosan, prezența plastifianților și de temperatura de uscare a filmului.

Pentru filmul de chitosan pur, considerat referință în cadrul invenției, s-a obținut o rezistență la rupere de 122,02 MPa, o valoare a modulului lui Young de 9302,12 MPa și o alungire la rupere de 3,8 %. Astfel, din rezultatele obținute – **Figura 3**, se observă că alungirea la rupere a materialului crește semnificativ de la 3,8 % în cazul filmului de chitosan la 11,65 % prin adăugarea uleiului din sămburi de măceșe și la 11,4 % prin adăugarea argilei C30B. Nu se observă diferențe majore între materialul care conține argila C30B (Exemplul 2) și cel care are doar ulei în compoziție (Exemplul 1). S-au înregistrat valori mari ale modulului lui Young pentru filmul de chitosan de aprox. 9000 MPa, acesta fiind un material rigid. Pentru filmele în care s-a încorporat ulei și argilă, valorile modulului lui Young au scăzut la 3232,33 MPa și respectiv 4110,95 MPa. De asemenea, rezistența la rupere a materialelor încorporate este mai mică comparativ cu cea a filmului de chitosan, deoarece uleiul vegetal acționează ca un plastifiant. Totuși, rezistența la rupere a filmului încorporat cu ulei este de 60,09 MPa și respectiv 70,72 MPa pentru materialul care conține și argilă, aceste valori fiind acceptabile în cazul materialelor propuse pentru obținerea de ambalaje bioactive.

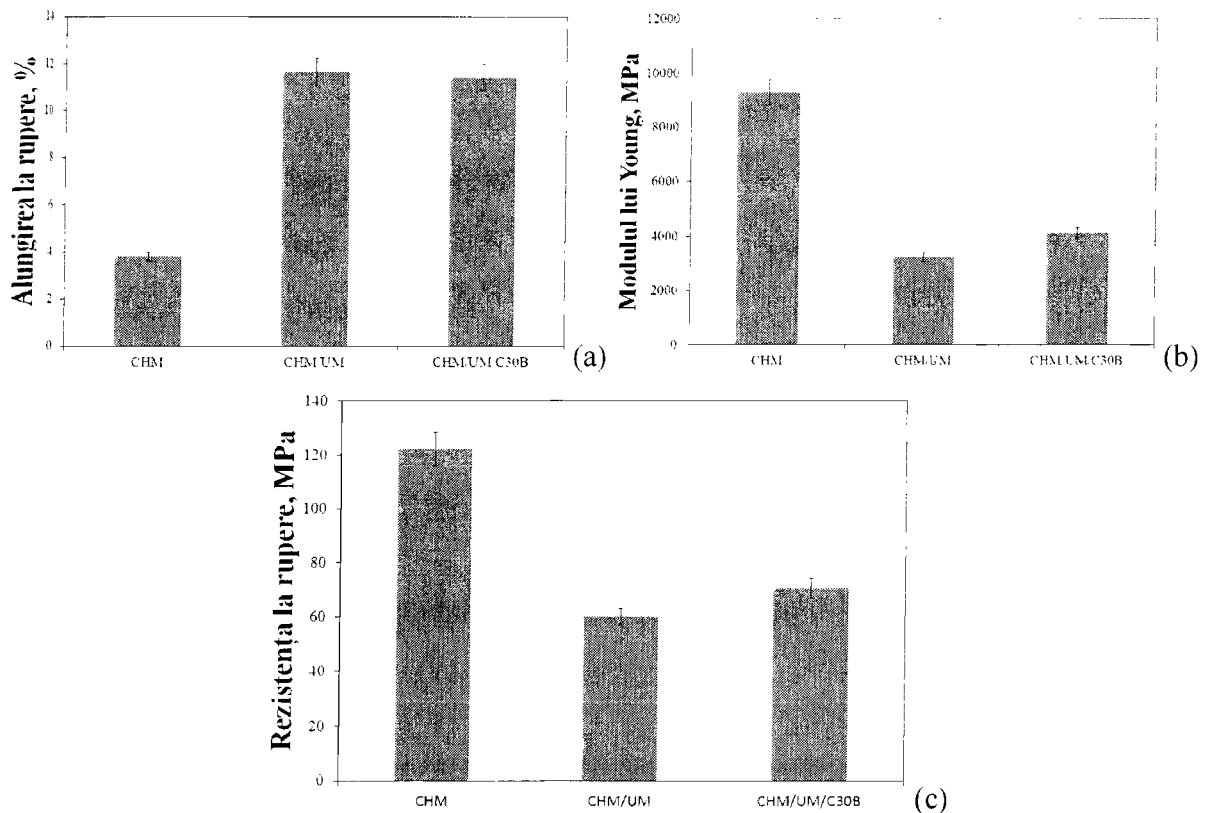


Figura 3. Valorile (a) alungirii la rupere, (b) modulului lui Young și (c) rezistenței la rupere pentru CHM și materialele (Exemplele 1-2) obținute prin tehnica emulsiei

Permeabilitatea la gaze a unui material polimeric poate fi definită ca fiind proprietatea materialului de a permite trecerea unui gaz sau a vaporilor de apă prin el. Proprietățile de barieră ale unui film au o importanță fundamentală pentru aplicații în obținerea ambalajelor de uz alimentar, deoarece prin contactul alimentelor cu oxigenul au loc mecanisme de degradare ale alimentelor, cum ar fi: fenomene corozive, oxidări și modificări ale proprietăților organoleptice. Oxigenul afectează în mod negativ proprietățile alimentelor în timpul perioadei de depozitare prelungită, deoarece acesta poate provoca oxidarea proteinelor și, de asemenea, poate afecta negativ aroma și culoarea alimentelor. Astfel, o valoare mai mică a permeabilității la oxigen a materialelor de ambalare, înseamnă o protecție mai mare a calității produselor. De asemenea, dioxidul de carbon poate iniția reacții de deteriorare și trebuie eliminat pentru a asigura prospețimea produselor alimentare.

În literatură au fost raportate valori scăzute ale permeabilității la O₂ pentru filme de chitosan [Butler *et al.*, 1996]. În cazul materialelor supuse invenției, pentru permeabilitatea la oxigen s-au obținut valori de 134 ml/m²/zi (Exemplul 2) și 212 ml/m²/zi (Exemplul 1). Variația permeabilității la oxigen în funcție de compoziție, prezentată în **Tabelul 1**, a evidențiat o scădere a acestei proprietăți, după adăugarea nanoargilei C30B în sistem. Cele mai multe materiale comerciale folosite în industria ambalajelor sunt: polietilena (PE), polipropilena (PP), poli(acid lactic) (PLA), polietilentereftalat (PET). Pentru comparație au fost testate două tipuri de ambalaje comerciale pe bază de LDPE/PP – **Tabel 1**. Se observă că pentru materialele obținute în cadrul invenției se obțin valori ale permeabilității mult mai mici comparativ cu ambalajele din comerț pe bază de LDPE/PP.

Tabel 1. Rezultate teste permeabilitate la dioxid de carbon și oxigen

Nr.	Proba	Grosime probă (mm)	CO ₂ ml/m ² /zi	O ₂ ml/m ² /zi
1	Folie ambalare LDPE/PP	0,009	128 347	35 629
2	Pungi de congelator	0,020	64 601	50 266
1	CHM	0,148	45	67
2	CHM/UM	0,237	37	212
3	CHM/UM_C30B	0,193	18	134

S-a investigat activitatea de inhibare a materialelor sintetizate asupra a două bacterii Gram-negative și anume *Escherichia coli* și *Salmonella typhimurium*, și o bacterie Gram-^{*}pozitivă, *Bacillus*^{*} *cereus*. Rezultatele testelor antimicrobiene sunt ilustrate în **Tabelul 2**.

Tabel 2. Activitatea antimicrobiană a CHM și a materialelor (Exemplele 1-2) obținute prin tehnica emulsiei

Probe	% Inhibare ATCC <i>Bacillus cereus</i> 14579	% Inhibare <i>Escherichia Coli</i> ATCC 25922	% Inhibare <i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i> 14028
	24h	24h	24h
Folie comercială PE	0	0	0
CHM	82	73	65
CHM/UM	59	86	61
CHM/UM_C30B	82	90	68

Din **Tabelul 2**, se observă că folia comercială de polietilenă nu manifestă efect de inhibare împotriva coloniilor *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* și *Salmonella typhimurium*, în schimb în cazul probelor care conțin CHM, creșterea celor trei bacterii a fost inhibată. La 24 h, s-a înregistrat un procent de inhibare cuprins între 59 % și 90 % pentru toate cele trei bacterii. Precum se observă din **Tabelul 2**, activitatea antimicrobiană a materialelor a fost ușor influențată de conținutul de ulei de măceșe și argilă C30B. Astfel, cea mai eficientă activitate antimicrobiană s-a obținut față de *Escherichia coli*, obținându-se un procent de inhibare la 24 h de 86 % și 90 % pentru filmele care conțin ulei de măceșe și respectiv argilă C30B.

Proprietățile antioxidante, în special activitatea de inactivare a radicalilor, sunt importante deoarece radicalii liberi au un efect negativ asupra produselor alimentare. Activitatea de inactivare a radicalilor pentru materiale pe bază de chitosan a fost măsurată folosind metoda DPPH ((2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)). DPPH este un foarte cunoscut radical care prezintă un maxim de absorbție în UV la 517 nm și care devine încolor sau slab gălbui atunci când este neutralizat.

Din rezultatele înregistrate pentru *evaluarea activității antioxidante* și prezentate în **Figura 4** se constată că prin încorporarea uleiului de măceșe și respectiv a argilei C30B, activitatea de inactivare a radicalului este îmbunătățită înregistrându-se valori de la 1,6 % pentru referință CHM la 6,78 % (Exemplul 1) și 6,22 % (Exemplul 2). Activitatea

antioxidantă a emulsiilor pe bază de chitosan (Exemplele 1 și 2) poate fi atribuită efectului sinergetic dintre chitosan și ulei.

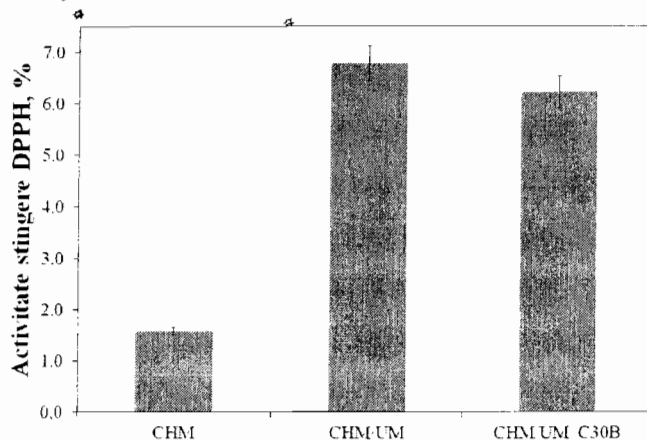


Figura 4. Activitatea antiradicalică DPPH a CHM și materialele (Exemplele 1-2) obținute prin tehnica emulsiei

BIBLIOGRAFIE

- Butler B.L., Vergano P.J., Testin R.F., Bunn J.M., Wiles J.L. Mechanical and barrier properties of edible chitosan film as affected by composition and storage. *Journal of Food Science*, 61(5):953-961, 1996.
- Campos C.A., Gerschenson L.N., Flores S.K. Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology* 4(6):849-875, 2011.
- Casariego A., Souza B.W.S., Cerqueira M.A., Teixeira J.A., Cruz L., Díaz R., Vicente A.A., Chitosan/clay films' properties as affected by biopolymer and clay micro/nanoparticles' concentrations. *Food Hydrocolloids* 23(7):1895-1902, 2009.
- da Silva C.E., Vandenabeele P., Edwards H.G., de Oliveira L.F. NIR-FT-Raman spectroscopic analytical characterization of the fruits, seeds, and phytotherapeutic oils from rosehips. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 392:1489-1496, 2008.
- Esposito A., Raccurt O., Charneau J-Y., Duchet-Rumeau J. Functionalization of Cloisite 30B with fluorescent dyes. *Applied Clay Science* 50(4):525-532, 2010
- Gómez-Estaca J., López de Lacey A., López-Caballero M.E., Gómez-Guillén M.C., Montero P. Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology* 27(7):889-896, 2010.
- González-Aguilar G.A., Valenzuela-Soto E., Lizardi-Mendoza J., Goycoolea F., Martínez-Télliz M.A., Villegas-Ochoa M.A., Monroy-García I.N., Ayala-Zavala J.F. Effect of chitosan

**PROCEDEU ȘI COMPOZIȚIE PENTRU OBTINEREA
DE NOI MATERIALE POLIMERICE PRIN ÎNCORPORAREA DE ULEIURI
VEGETALE ÎN MATRICEA DE CHITOSAN, CU APLICAȚII ÎN INDUSTRIA
AMBALAJELOR PENTRU ALIMENTE**

REVENDICĂRI

1. Material polimeric biocompatibil, cu proprietăți antimicrobiene și antioxidante pentru aplicații în industria ambalajelor pentru alimente **caracterizat prin aceea că** este constituit din 54,9...55,8 % chitosan cu masă moleculară medie, 36,6...37,2 % ulei din sămburi de măceșe (0,75 mL/1g chitosan), 6,86...6,97 % Tween 80 (0,125 g/1g chitosan) și 1,64 % argilă C30B.

2. Procedeu de obținere a materialului definit la revendicarea 1 **caracterizat prin aceea că** materiile prime se prelucrează în soluție la temperatura camerei, din care se obțin emulsii, din care rezultă după evaporarea solventului în condiții controlate un material sub formă de film uniform de culoare gălbui-roșiatică, cu o grosime de 0,148 mm - 0,237 mm și flexibilitate mărită, cu o alungire de 3,8..11,65 %, un modul de elasticitate de 3232,33...9302,13 MPa, rezistență la rupere de 60,09...122,02 MPa, gradul de inhibare după 24 ore de acțiune a unor microorganisme de 59-82% pentru *Bacillus cereus*, 86-90% pentru *Escherichia coli*, și de 61-68 % pentru *Salmonella typhymurium*, permeabilitate mică la O₂ de 67...212 ml/m²/zi și respectiv CO₂ de 18...45 ml/m²/zi și prezintă activitate antioxidantă mărită de la 1,6 % la 6,78 %.