



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2016 00576

(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:
• MUNTEANU SILVESTRU BOGDANEL,
STR. GRĂDINARI NR. 15, BL. B1-2, SC. A,
ET. 3, AP 1, IAȘI, IS, RO;
• GHIOCEL EMIL IOANID, STR. SĂRĂRIE
NR. 13, IAȘI, IS, RO;

• PRICOPE GINA-MIHAELA,
STR. PARCULUI NR. 24, BL. B6, SC. A,
AP. 17 MANSARDA (5), IAȘI, IS, RO;
• MITELUȚ AMALIA CARMEN,
SOS. PANTELIMON NR. 258, BL. 47, SC. D,
ET. 6, AP. 239, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B,
RO;
• TĂNASE ELISABETA-ELENA,
STR. CONSTANTIN BRÂNCOVEANU NR. 4,
BL. D2, AP. 6, PĂTĂRLAGELE, BZ, RO;
• VASILE CORNELIA, STR.PANTELIMON
NR.29, BL.308, SC.A, ET.3, AP.12, IAȘI, IS,
RO

(54) **PROCEDEU ȘI COMPOZIȚII DE OBȚINERE
A UNOR COMPOZITE STRATIFICATE BIOACTIVE
(ANTIBACTERIENE/ANTIFUNGICE/ANTIOXIDANTE),
DESTINATE AMBALAJELOR ALIMENTARE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor compozite stratificate bioactive, utilizate în industria ambalajelor alimentare. Procedeu conform invenției constă în electrodepunerea coaxială a unor structuri nanoporoase de element bioactiv electrofilabil, constând din chitosan, pe substraturi de poliesteri biodegradabili, de tip acid polilactic sau polihidroxi-butirat, pretratați în plasmă, din care rezultă un

compozit stratificat, conținând nanofibre de chitosan care încapsulează un element activ non-electrofilabil, de tip uleiuri esențiale sau uleiuri vegetale de presă, având activitate antibacteriană, antifungică și antioxidantă îmbunătățită.

Revendicări: 5



DESCRIEREA INVENȚIEI

PROCEDEU ȘI COMPOZIȚII DE OBTINERE A UNOR COMPOZITE STRATIFICATE BIOACTIVE (ANTIBACTERIENE/ANTIFUNGICE/ANTIOXIDANTE) DESTINATE AMBALAJELOR ALIMENTARE.

Invenția de față descrie procedeul de obținere și compozițiile unor compozite stratificate cu proprietăți antimicrobiene și antioxidante pentru ambalarea alimentelor, pe bază de poliesteri biodegradabili cum ar fi acidul polilactic (PLA) sau polihidroxibutiratul (PHB), un polimer natural – chitosan și uleiuri vegetale ca uleiul de argan și cel din sămburi de măceșe.

Utilizarea uleiurilor vegetale în vederea obținerii de materiale bioactive pentru ambalarea alimentelor este intens studiată în ultimul deceniu datorită cerințelor consumatorilor și protecția alimentelor fără utilizarea aditivilor sintetici. În acest scop s-au propus atât un număr mare de uleiuri cât și de tehnici de obținere. Spre exemplu, folia de polietilenă de densitate joasă, utilizată frecvent în uzul casnic pentru acoperirea alimentelor a fost acoperită cu o soluție 10 % în etanol de extract de rozmarin de uz alimentar comercial, solubil în lipide, care conține 4.5 % acid carnosic. Soluția a fost distribuită uniform cu ajutorul unei pensule pe suprafața filmului și apoi solventul a fost evaporat. Acoperirea formată s-a dovedit eficientă în limitarea oxidării lipidelor din carne [1,2] dar persistența ei timp îndelungat este limitată.

Este cunoscută activitatea antibacteriană a chitosanului cât și cea antifungică, în cazul chitosanului conținând 10-25 % oligomeri de chitosan [3]. Datorită activității antibacteriene chitosanul a fost utilizat pentru a obține acoperiri antibacteriene [4,5,6].

De asemenea, combinația chitosan/uleiuri esențiale s-a dovedit a avea efect antibacterian [7,8,9,10]. În acest sens, s-au obținut și analizat combinații de chitosan cu cinamaldehydă (0.5-5%) [7], ulei de oregano și cuișoare (1%) [11] cu ulei de cimbru [12], ulei de cuișoare, scortişoară [13]. De asemenea combinația chitosan/uleiuri esențiale s-a dovedit a avea efect antifungic pentru chitosan combinat cu polifenol extras din măr [14].

Multe studii și brevete raportează atât activitate antibacteriană cât și antioxidantă pentru combinația chitosan uleiuri esențiale: cu garcinia mangostana [15], extract de caprifoi, de goji, de semințe de struguri ori polifenoli extrași din ceai (20-25 % [16]), ulei de *Eucalyptus globulus* 1-4% [17], chimen și oregano [18], *Aristotelia chilensis* [19].

Arutek
Lăuși
Lăuși
Lăuși

În multe cazuri chitosanul și elementele bioactive se amestecă inițial în aceeași soluție din care se obține filmul final (prin evaporarea solventului) [20,16, 17, 18, 19, 13] sau din care se obțin nanofibre prin metoda electrofilării [7, 8, 15].

S-au raportat de asemenea încapsulări de uleiuri esențiale în particule de chitosan [23] de ordinul micronilor [5, 24] (microparticule) sau chiar mai mari (10 microni [24], 100-1000 microni [25]).

Există și studii în care materialul bioactiv pe bază de chitosan și uleiuri esențiale este depus pe diverse substraturi ca cel de polipropilenă [11, 26] sau pe material textil din bumbac [9]. Au fost propuse diverse proceduri pentru acoperirea cu agent antimicrobian (cu / fără polimer cu rol de încapsulare/încorporare): prin aplicare cu un aplicator pentru cromatografie în strat subțire [27], banc de acoperire de laborator [28], aplicator cu bară [29], pensulă [30]), pulverizare (nebulizare) [31], laminare [6], imprimare prin gravură [32], imersie [35]. Aceste procedee deși sunt simple nu asigură stabilitatea în timp a stratului aplicat iar substanțele conținute pot migra în alimentul ambalat.

Uleiul de argan este benefic în tratamentul artritelor sau a altor boli reumatice, are beneficii pentru organism în lupta cu cancerul și alte boli grave, boli vasculare și obezitate. Uleiul de cuișoare conține cei mai mulți agenți antioxidanți. El este apreciat ca antifungic, agent antibacterian, antiseptic și analgesic, este o excelentă sursă de mangan, de acizi grași omega-3, vitamina K, vitamina C, calciu, magneziu și fibre. Uleiul de cuișoare conține o cantitate importantă de eugenol, care a făcut subiectul a numeroase studii de prevenire a toxicității produse de poluanții din mediu (precum tetraclorura de carbon) și studii privind prevenirea cancerului tractului digestiv sau a inflamațiilor articulațiilor. Uleiul de cuișoare poate reduce concentrația de glucide din sânge la diabetici și este cunoscut ca fiind un potențial remediu împotriva cancerului pulmonar.

Polihidroxibutiratul (PHB) este un poliester biodegradabil ce este produs de microorganisme (*Ralstonia eutrophus* sau *Bacillus megaterium*) și oferă avantaje față de materialele plastice clasice: pe lângă faptul că este biodegradabil se formează din resurse regenerabile și este complet non-toxic. Are proprietăți fizice mai bune decât polipropilena pentru producerea de ambalaje.

Acidul polilactic (PLA) este un poliester biodegradabil ce poate de asemenea fi sintetizat din resurse regenerabile. Este pe larg studiat pentru posibile aplicații în producerea de ambalaje datorită modulului de elasticitate mare și permeabilității scăzute pentru arome.

Invenția de față rezolvă problema lipsei caracterului antimicrobian și antioxidant al PLA prin încorporarea unui polimer natural, **chitosanul** și a unor **uleiuri vegetale** ca cel de argan și cel de cuișoare, care imprimă proprietăți antioxidante și de asemenea determină efecte biologice specifice materialelor obținute.

Invenția de față înlătură dezavantajele menționate prin aceea că chitosanul este încorporat în masa de PLA la temperatura camerei, își menține activitatea antimicrobiană și este împiedicat să difuzeze rapid în alimentele ambalate, menținându-se la suprafața ambalajului și prin încorporarea simultană în compoziție a uleiurilor vegetale cu proprietăți specifice. Scopul invenției de față este obținerea de noi materiale pentru ambalarea alimentelor pe bază de PLA tratat în plasmă rece de înaltă frecvență, chitosan și uleiuri vegetale, în ideea de a combina caracteristicile unice ale acestora cu scopul de a obține materiale cu proprietăți antimicrobiene, antioxidante și biologic active, având în vedere calitățile particulare ale chitosanului și ale uleiurilor vegetale.

O modalitate de a efectua imobilizarea compusului bioactiv este acoperirea prin electrofilare/electropulverizare). Electrofilarea [34] este un proces prin care un jet polimeric încărcat electrostatic curge spre un electrod colector metalic datorită forțelor electrostatice. În urma evaporării solventului jetul de polimer se solidifică și se obține astfel pe colector o structură de micro/nano fire polimerice, cu raport suprafață/volum mare, cu diametre de ordinul 0.01-10 μm. În cazul în care pe colector nu se obțin fire ci numai particule procesul se mai numește electropulverizare. Acoperirea prin electrofilare /electropulverizare este o metodă convenabilă datorită mai multor avantaje dintre care se menționează:

- (a) prin electrofilare se pot obține nanofibre foarte subțiri (de ordinul nanometrilor). Fibrele pot da naștere la o structură mai poroasă decât o aglomerare de particule, cu raport arie/volum mare.
- (b) grosimea stratului acoperit poate fi ușor controlată prin varierea timpului de depunere și a debitului de curgere. Astfel, este posibil să se obțină acoperiri foarte subțiri, care, în unele cazuri sunt suficiente pentru a imprimarea efectului antibacterian dorit [35]. Dacă se compară grosimea stratului obținut prin alte metode (3 μm [36], 2 ÷ 9 μm [37], 2 ÷ 3 μm [38]) cu acoperirea foarte subțire (sute de nm) realizată prin electrofilare/electropulverizare este evident de asemenea avantajul de a consuma o cantitate mică din materialul de acoperire.

Proprietățile uleiurilor vegetale (esențiale/ne-esențiale) depind de modul de distribuire al acestora pe suprafețele acoperite și de modul în care acestea intră în contact cu alimentul. Prin urmare încorporarea acestora în interiorul fibrelor sau particulelor de chitosan oferă ocazia de a

produce materiale fibroase/poroase performante prin electrofilare. Datorită dimensiunilor nanometrice și a raportului mare suprafață/volum al nanoparticulelor înglobarea acestora în interiorul (și implicit și la suprafața) nanofirelor polimere conduce la creșterea cantității de agent bioactiv (AA) care este accesibil pentru interacțiunea cu alimentul. Încorporarea agentului bioactiv (de exemplu în chitosan) duce la îmbunătățirea caracteristicilor materialului (filmului) mixt obținut.

Prin metoda coaxială de electrofilare/electropulverizare se pot obține fire și particule de agent bioactiv (de exemplu chitosan) electrofilabil ce încapsulează un al doilea agent bioactiv (de exemplu *ulei de cuișoare sau argan*) care nu este electrofilabil. Prin acul exterior se injectează agentul bioactiv electrofilabil (chitosanul) iar prin acul interior se injectează al doilea agent bioactiv non-electrofilabil (uleiul de cuișoare sau argan).

Procedul conform invenției de obținere prin electrofilare/electropulverizare a unor suprafețe bioactive constă în două etape:

- I. Tratarea filmelor de poliester biodegradabil (PLA) în plasma de azot în condiții optime de descărcare (frecvența 1.3 MHz, putere 100 W, presiune de lucru 0.4 mbar).
- II. Acoperirea propriu-zisă a filmelor de poliester biodegradabil (PLA) prin electrofilare/electropulverizare coaxială care duce la încapsularea unui agent bioactiv non-electrofilabil în interiorul agentului bioactiv electrofilabil.

Procedul și suprafețele biocompatibile obținute în acest mod prezintă următoarele avantaje:

- tratarea suprafeței poliesterului biodegradabil (PLA) în plasma de azot urmată de expunerea în aer asigură funcționalizarea suprafeței prin formarea de radicali activi și conduce la implementarea pe suprafață a unor grupe polare reactive (peroxizi, carbonil, carboxyl, amino) de care se pot lega covalent chitosanul și unele componente din uleiul vegetal folosit. În acest mod stratul bioactiv se leaga prin legături covalente de substrat devenind mai stabil împiedicând pierderea agenților activi în timpul stocării și migrarea în alimentele ambalate și asigură protecția alimentelor ambalate fara a migra.

- se pot depune straturi foarte subțiri cu grosime controlabilă în acest mod caracterul bioactiv se imprimă la costuri și cu consum minim de compuși bioactivi.

Alutetut
Fănușă
Gărdese
Ioanica
Juf
Im4

- se poate controla morfologia straturilor depuse prin modificarea condițiilor de electrodepunere (tensiunea aplicată, distanța dintre ac și colector, concentrația soluției utilizate și debitul de depunere) în scopul modificării caracteristicilor de suprafață ale substratului fără a modifica și pe cele de volum, caracteristicile depunerilor realizate fiind reproductibile;

- prezența nanofirelor/particulelor de chitosan imprimă suprafeței materialului polimeric o structură nano-poroasă precum și caracter antibacterian/antifungic

-prezența AA încapsulate în firele/particulele de chitosan conduce la îmbunătățirea proprietăților antibacteriene/antioxidante/antifungice ale chitosanului cele două componente acționând sinergetic, acoperirile în ansamblu prezentând caracteristici superioare și efecte biologice specifice .

S-au utilizat următoarele materiale:

Acidul polilactic (PLA) - 2002D achiziționat de la firma NatureWorks LLC, având o densitate de 1.24 g/cm^3 , indicele de curgere (MFI) de 5–7 g/(10 min) (la $210 \text{ }^\circ\text{C}/2.16 \text{ kg}$) și n conținut de 96 % L-lactidă și 4 % iyomer D. Masa moleculară medie gravimetrică determinate prin GPC a fost de 4475 kDa.

Polihidroxibutiratul (PHB) sub forma de pulbere a fost furnizat de BIOMER CO KRAILING (Germany), (batch no. 19T302/12/2106). Inainte de topire, PHB a fost uscat la $50 \text{ }^\circ\text{C}$ timp de 6 h. Filme cu grosimea de max. $100 \text{ }\mu\text{m}$ au fost obtinute prin presare in topitura folosind o presa Carver ($177 \text{ }^\circ\text{C}$ 2 min pre-topire la 50 atm si 2 min presare la 100 atm).

- *Chitosan (CS)* (Aldrich) cu masă moleculară medie = 400 000, grad de deacetilare (DD) = 68 %.

- *Uleiul de argan*: ulei de argan extra virgin presat la rece, extras din semințele arborelui de argan (*Argania spinosa*) de la firma Herbalsana ROMANIA. Fără adaos.

- *Uleiul de cuișoare*: ulei de Cuișoare obtinut din muguri florali uscați de *Syzygium aromaticum* – de la firma Fares ROMANIA

Procedeu de obținere a unor noi composite stratificate sub formă de filme cu proprietăți antioxidante și antimicrobiene pe bază poliesteri, chitosan și uleiuri vegetale pentru ambalarea alimentelor, **conform invenției, constă în aceea că** filmele de PLA sau PHB cu o grosime de $0.3 \text{ mm} \pm 0.05 \text{ mm}$ s-au obținut prin presarea granulelor cu o presă Carver la $175 \text{ }^\circ\text{C}$ (2 min

pre-topire și 2 min presare la 240 bar). Înainte de activare în plasma rece au fost spălate cu etanol și apoi uscate. Filmele de PLA sau PHB obținute, care sunt transparente și au o grosime de aproximativ 25 micrometri au fost expuse la acțiunea plasmei reci de azot de frecvență înaltă (1.3 MHz) cu puterea sursei 100 W și o presiune de 0.4 mbar). Pe suprafața tratată în plasmă a filmelor se depune prin electrofilare chitosan în care s-au încapsulat diferite uleiuri vegetale.

Instalația de electrofilare constă dintr-o sursă de înaltă tensiune continuă (0-30 kV), platan rotitor metallic și o seringă orientată cu acul perpendicular pe acesta. Tensiunea înaltă este aplicată între platanul metallic și acul seringii. Soluțiile de chitosan/ulei din seringă sunt împinse afară cu debit constant. Pe colectorul metallic rotator se montează substratul de poliester biodegradabili expus în prealabil plasmă. Parametrii utilizați în procesul de electrospining/electropulverizare (pentru toate probele) au fost: -intensitatea câmpului electric 10 kV/cm; -debit 1.2 microlitri/min; (atât pentru acul interior cât și pentru acul exterior); -timp de depunere 30 min.

Soluțiile de chitosan 1.5 wt% cu masa moleculară mare (CSH) au fost preparate în amestec 9/1 acid acetic glacial/apă distilată. Soluțiile de ulei vegetale 1.5 wt% au fost preparate în acid acetic glacial. Prin acul exterior s-a injectat chitosan iar prin acul interior s-a injectat uleiul vegetal. Prin metoda coaxială de electrospining/electropulverizare s-au obținut straturi omogene de fire și particule de chitosan ce încapsulează (conțin) ulei vegetal, material obținut fiind o compozită stratificată.

Pentru materialele obținute s-au determinat următoarele proprietăți:

- morfologia, diametrul și mărimea particulelor/firelor prin metode microscopice,
- proprietățile *antibacteriene/antioxidante și antifungice*

Metode de investigare

Microscopia electronica de baleiaj (SEM): s-a utilizat un microscop QUANTA 200

Microscopia electronica prin transmisie (TEM) : s-a utilizat un microscop Hitachi High-Tech HT7700 (tensiune de accelerare 100 kV).

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 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, și *Listeria monocytogenes* constă în următoarele etape: sterilizarea mostrelor; contaminare cu bacterii de

Aluteț
Jucăș G. Prigoș
100000
Jucăș

cultură ATCC; inoculare și incubare efectuată 24 și 48 de ore la 44°C; identificarea germeilor țintă. Sterilizarea probelor a fost făcută într-o autoclavă la 110°C, 0,5 bari timp de 20 min.

Identificarea germeilor țintă: Următoarele metode standardizate ale procedurilor bacteriologice au fost utilizate în conformitate cu standardele în vigoare: *SR ISO 16649- coli Escherichia; Metoda orizontală pentru b -glucuronidase- Escherichia coli pozitiva cuantificarea- Partea 2: numărarea coloniilor la 44 C folosind 5-brom-4-clor-3-indolil beta-D-glucuronid conform " Minerale Modified Glutamat bulion " (Cat. 1,365) producerea collonies albastru sau verde-albastru pe agar glucuronid; SR ISO 11290 monocytogenes EN-monocytogenes; SR EN ISO 6579/2003 / AC / 2004 / AC / 2006, Amd.1: 2007-Salmonella sp.*

Testele antifungice s-a testat efectul probelor acoperite la suprafața de contact a acestora cu trei ciperici: *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *Penicillium corylophilum* CBMF1 și *Fusarium graminearum* G87. Ciupercile au fost crescute în mediu PDA timp de 7-9 zile și depozitate la 25°C. Suspensia de spori a fost obținută în condiții aseptice și apoi colectate de pe suprafața coloniilor. Mediul de cultura a fost preparat conform protocolului și sterilizat și turnat în vase Petri. După solidificare, acesta a fost inoculat cu 2 μL de suspensie de spori în patru puncte din vasul Petri. Probele au fost apoi aplicate în contact cu spori. Vasele Petri au fost apoi izolate cu parafină și incubate 25 °C timp de 7 zile. Rezultatele au fost exprimate ca număr de spori aflați pe suprafața în contact cu proba exprimați ca procent din numărul de spori care nu au fost în contact cu proba (rata de inhibiție).

Activitatea antioxidantă: Activitatea antioxidantă a nanofirelor a fost măsurată utilizând metoda de evaluare a inhibiției radicalilor liberi cu ajutorul 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (metoda DPPH). În prezența probelor s-a măsurat descreșterea absorbantei la 517 nm.

Se prezintă în continuare patru exemple de realizare ale invenției utilizând ca substrat poliesterii degradabili PLA sau PHB iar ca agenți bioactivi chitosanul cu masa moleculară mare (agentul electrofilabil) în combinație cu uleiul de cuișoare respectiv uleiul de argan (agentul non-electrofilabil). Filmele de PLA s-au obținut prin presarea din topitură la presiune de timp de 5 minute.

Exemplele descrise în continuare se bazează pe rezultatele prezentate în Figurile 1-3 și Tabelele 1-2

EXEMPLUL 1: PLA/ulei de cuișoare

7

Alutubet Leonida
Janas Origo Amy

Pe colector se montează filmul de PLA obținut prin presarea din topitura la o presiune de timp de minute care este transparent și are o grosime de 25 microni și este tratat în plasma de azot.

Se prepară soluții de 1.5 % CSH în în amestec 9/1 acid acetic glacial/apă distilată și de ulei de cuișoare 1.5 wt% în acid acetic glacial cu care se încarcă siringile de la pompa 1 și respectiv 2. Prin acul exterior s-a injectat soluția de chitosan în acid acetic iar prin acul interior s-a injectat soluția de ulei (cuișoare sau argan). Colectorul se rotește cu o viteză de 30 rpm. Se pornesc cele doua pompe care trimit soluțiile prin acele exterior și respectiv interior cu un debit constant 1 2 microlitri/min timp de 30 minute.

Prin metoda electrospining/electropulverizare s-au obținut prin electrofilare/electrodepulverizare pe filmele PLA plasate pe colectorul metalic o acoperire cu un diametru de 12-15 cm, grosimea stratului depus este de aproximativ 200nm, ce constă din fire și particule de chitosan ce încapsulează (conțin) ulei de cuișoare.

Filmul de PLA acoperit cu nanostructuri încapsulate de ulei de cuișoare în chitosan se investighează prin SEM și TEM și se testează pentru activitatea antioxidantă, antibacteriană și antifungică.

Nanofibrele au un diametru mediu de 400 nm iar particulele 250 nm și formează împreună o meșă relativ poroasă care acoperă uniform suprafața. Testele antioxidante indică o activitate antiradicalică de 80% (dupa 70 h), cele antifungice de peste 95 % iar activitatea antibacteriană de peste 80% . Aceste valori sunt superioare celor imprimare de chitosan (Tabel 1)

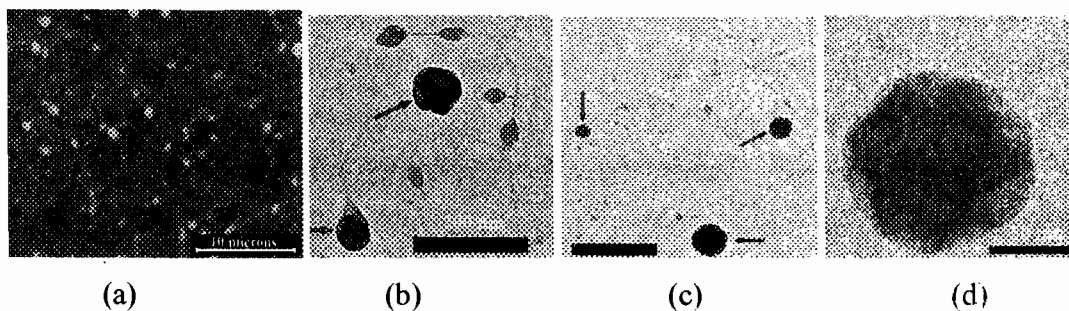


Figura 1: imagini SEM (a) și TEM (b, c, d) ale probelor PLA/Chitosan cu Masă Moleculară Mare /Cuișoare.

Imaginile SEM evidențiază o morfologie de tip fibre/particule. Aceasta se datorează vâscozității mari a chitosanului ceea ce duce la o mai buna interpătrundere a lanțurilor moleculare în cazul acestor probe. Este cunoscut faptul că pentru a obține nanofibre utilizând procedeul de electrospining/electropulverizare este necesar un anumit grad de interpătrundere a lanțurilor

macromoleculare în soluția electropulverizată [39]. Imaginile TEM evidențiază o morfologie mai fină decât imaginile SEM pentru toate probele. Precum și nanofibre cu diametre mai mici decât cele vizibile în imaginile SEM. De asemeni, se evidențiază existența particulelor foarte fine (de ordinul 100 nm). Imaginile TEM evidențiază de asemeni o morfologie de tip "beads-into-fiber/beads-into-string" cu particule de ulei încapsulate din loc în loc în interiorul fibrei de chitosan. Intre "nodurile" conținând particulele de ulei nu există decât chitosan simplu.

Tabel 1: rezultatele testelor antibacteriene pentru probele PLA/Chitosan cu Masă Moleculară Mare /Cuișoare și PLA/Chitosan cu Masă Moleculară Mare /Argan:

E. COLI		LISTERIA		SALMONELA	
24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
<i>PLA/Chitosan cu Masă Moleculară Mare</i>					
10	53	16	58	35	71
<i>PLA/Chitosan cu Masă Moleculară Mare / Argan</i>					
49	82	47	100	55	94
<i>PLA/Chitosan cu Masă Moleculară Mare / Cuișoare</i>					
53	78	53	100	65	90

Rezultatele testelor pentru activitatea antioxidantă:

S-a determinat și reprezentat grafic

pentru soluția martor DPPH: $A_{DPPH}(t) / A_{DPPH}(t_{ini})$ = absorbanta soluției de DPPH (martor) la momentul la care s-a făcut măsurătoarea (ca fracție din absorbanta la momentul începerii experimentului) iar pentru probele PLA, PLA/CH/N₂ și PLA/CH/Clove/N₂ : $[A_{DPPH}(t) - A_{SAMPLE}(t)] / A_{DPPH}(t)$ in care $A_{DPPH}(t)$ = absorbanta soluției de DPPH (martor) la momentul la care s-a făcut măsurătoarea $A_{SAMPLE}(t)$ = absorbanta probei la momentul la care s-a făcut măsurătoarea

n

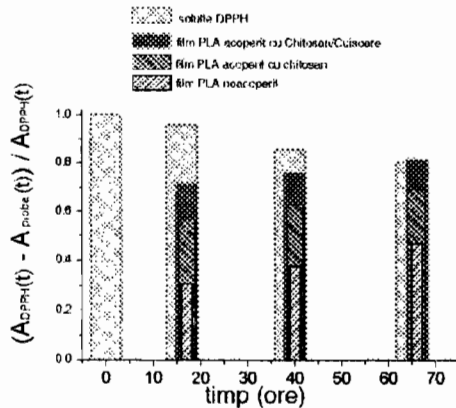


Figura 2: Activitatea anti oxidantă a probelor PLA/Chitosan cu Masă Moleculară Mare /Cuișoare

Se constată ca activitatea anti oxidantă a filmelor acoperite cu amestecul Chitosan cu Masă Moleculară Mare / Cuișoare este mai mare decât activitatea anti oxidantă a filmelor acoperite numai cu Chitosan cu Masă Moleculară Mare precum și de asemeni mai mare decât a filmelor neacoperite.

Astfel, avantajele formulărilor pe baza de ulei încapsulat în chitosan sunt:

- îmbunătățirea proprietăților antibacteriene prin utilizarea combinației chitosan/ulei esențial ne-esențial.
- adăugarea de proprietăți anti oxidante/antifungice provenind de la uleiul încapsulat
- de asemeni, este de așteptat o creștere a stabilității în timp a uleiului încapsulat împreună cu o eliberare mai lentă a acestuia.

EXEMPLUL 2: PLA/ulei de argan

Se efectuează conform Exemplului 1 cu deosebirea ca în loc de ulei de cuișoare se utilizează ulei de argan dizolvat în cloroform.

Filmul de PLA acoperit cu nanostructuri încapsulate de ulei de cuișoare în chitosan se investighează prin SEM și TEM și se testează pentru activitatea anti oxidantă, antibacteriană și antifungică.

Abuleteul /oxid h
Lacost
Gricose Um4

Nanofibrele au un diametru mediu de 360 nm iar particulele 220 nm și formează împreună o meșă relativ poroasă care acoperă uniform suprafața. Testele antifungice indică o activitate de peste 95 % iar activitatea antibacteriană de peste 50%. Aceste valori sunt superioare celor imprimate de chitosan .

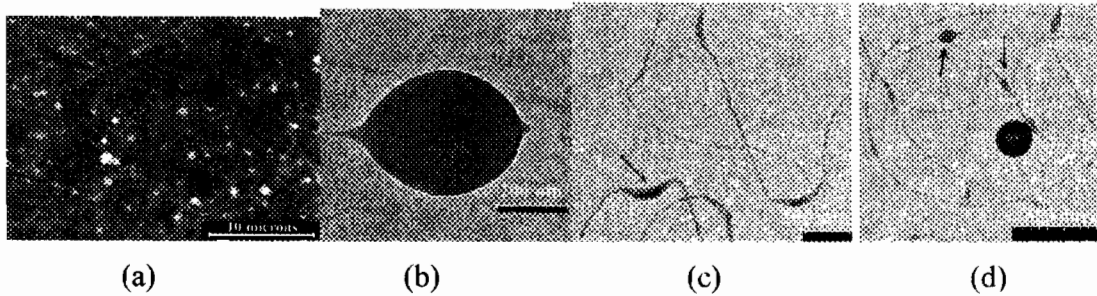


Figura 3: imaginile SEM (a) și TEM (b, c, d) ale probelor PLA/Chitosan cu Masă Moleculară Mare /Argan

Și în acest caz imaginile SEM evidențiază o morfologie de tip fibre/particule pentru probele conținând chitosan cu masă moleculară mare. Aceasta se datorează vascozității mai mari a chitosanului ceea ce duce la o mai bună interpătrundere a lanțurilor moleculare în cazul acestor probe. Imaginile TEM evidențiază o morfologie similară cu cea a probelor conținând ulei de cuișoare și anume morfologie de tip "beads-into-fiber/beads-into-string" cu particule de ulei încapsulate din loc în loc în interiorul fibrei de chitosan. Intre "nodurile" conținând particulele de ulei nu există decât chitosan simplu.

REVENDICĂRI

1. Procedeu de obtinere de filme/structuri stratificate obținute prin depunerea pe filme poliesterice biodegradabile tratate în plasmă N₂ a structurilor nanoporoase de element bioactiv electrofilabil ce încapsulează elemente active non-electrofilabile, electrodepuse prin metoda coaxială în care în acul exterior se introduce soluția de element bioactiv electrofilabil iar în acul interior se introduce elementul activ non-electrofilabil care asigură atât stabilitatea stratului bioactiv depus cât și încorporarea uleiului vegetal bioactiv
2. Compoziții bioactive, antibacteriene/antifungice/antioxidante, formate din substraturi de poliester biodegradabil și depuneri poroase de nanofibre-nanoparticule de chitosan în care se imobilizează uleiuri vegetale.
3. Material conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că poliesterul biodegradabil constă în acid polilactic (PLA) sau polihidroxibutirat (PHB).
4. Material conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că elementul activ electrofilabil constă în chitosan.
5. Material conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că elementele active non-electrofilabile constau în uleiuri esențiale sau uleiuri vegetale de presă.