



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2020 00328**

(22) Data de depozit: **12/06/2020**

(41) Data publicării cererii:
30/10/2020 BOPI nr. **10/2020**

(71) Solicitant:

• UNIVERSITATEA TEHNICĂ DIN
CLUJ-NAPOCA - CENTRUL UNIVERSITAR
NORD DIN BAIJA MARE,
STR.DR.VICTOR BABEȘ NR.62A,
BAIJA MARE, MM, RO;
• CEPROHART S.A.,
BD.ALEXANDRU IOAN CUZA NR.3,
BRĂILA, BR, RO;
• NATIONAL INSTITUTE OF CHEMISTRY,
HAJDRIHOVA ULICA 19, SI -1000, WAT
NO.SI 33840890, LJUBLJANA, SI;
• UNIVERSITY OF CAMERINO,
PIAZZA CAVOUR, NO.19/F, WAT
NO.00291660439, CAMERINO, IT;
• SYNBIOTEC, VIA GENTILE III DA
VARANO, WAT NO.01543880437,
CAMERINO (MC), IT;
• ANDALTEC, CALLE VILCHES,
POL.IND.CANADA DE LA FUENTE NO.S/N
23600, WAT NO.G23492655, MARTOS
(JAEN), ES

(72) Inventatori:

• PETER ANCA, STR.T.VLADIMIRESCU
NR.74, BAIJA MARE, MM, RO;
• MIHALY COZMUTA ANCA,
STR.TRANDAFIRILOR NR.24 F, MOCIRA,
MM, RO;
• NICULA CAMELIA, STR.ANA IPĂTESCU
NR.1, AP.18, BAIJA MARE, MM, RO;
• MIHALY COZMUTA LEONARD,
STR.TRANDAFIRILOR NR.24 F, MOCIRA,
MM, RO;
• TALAȘMAN CĂTĂLINA MIHAELA,
ALEEA LEBEDEI NR. 5, BL. F2, SC. 2,
ET. 1, AP. 26, BRĂILA, BR, RO;
• CĂPRIȚĂ FLORINA-CRISTIANA,
STR.HIPODROM NR.14, BRĂILA, BR, RO;
• CONSTANTIN CONSTANTIN,
STR.PRINCIPALĂ NR.184, CHIȘCANI, BR,
RO;

• DUMITRAȘCU IONUȚ,
ALEEA CHIMIȘTILOR NR.3, BRĂILA, BR,
RO;
• DRAZIC GORAN, KAMNIKARJEVA ULICA
19, SKOFLJICA, SI;
• BELE MARJAN, MEDVEDOVA CESTA 19,
LJUBLJANA, SI;
• CHERNYSHOVA ELENA, KRISKA VAS
59E, VISNJA GORA, SI;
• SILVI STEFANIA, VIA CARDUCCI
12, CASTELRAIMONDO, MC, IT;
• SAGRATINI GIANNI, VIA ANTONIO
GIOIOSO 11, CAMERINO, MC, IT;
• HUANG XIAOUI, LONGTING DISTRICT,
BEIJIAO XIANG, DONGJING ROAD, MING
YA YUAN 24, KAIFENG (HENAN), CN;
• KANGANG NZEKOU ASTRIDE
FRANKS, MONTEE KONDENGUI,
YAOUNDE, CM;
• ANTONIO PENAS SANJUAN,
STR.MANUEL CABALLERO VENZALA
NR.20, JAEN, ES;
• ANTONIO JESUS CALAHORRO
CASANOVA, AVENIDAD DE MADRID
NR.68, JAEN, ES;
• MANUELA CANO GALEY, PASEO DE
ESPANIA NR.38, JAEN, ES;
• MARIA DOLORES RAMIREZ
RODRIGUEZ, VEREDA DE MENGIBAR
NR.28, TORREDELCAMPO (JAEN), ES;
• VERDENELLI MARIA CRISTINA, VIA DEI
MILLE LI.1, TREIA (MC), IT;
• ORPIANESI CARLA, VIA PONTE
CASTELLO 15, FIUMINATA (MC), IT;
• COMAN MARIA MAGDALENA, VIA
OTTAVIANI 29, CAMERINO (MC), IT

(74) Mandatar:

CABINET INDIVIDUAL NEACȘU CARMEN
AUGUSTINA, STR. ROZELOR NR.12/3,
BAIJA MARE, MM

(54) PROCEDEU DE OBTINERE A UNOR AMBALAJE ALIMENTARE ACTIVE PE BAZĂ DE ACID POLILACTIC MODIFICAT CU NANOCOMPOZIT

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor ambalaje alimentare active pe bază de acid polilactic modificat cu nanocompozit în proporție de 0,4-4% care asigură conservarea caracteristicilor alimentelor cum ar fi brânza proaspătă de vaci sau carnea de pui și le prelungește durata de valabilitate, utilizabile atât în gospodărie, cât, mai ales, în industria alimentară și în comerțul cu amănuntul. Procedeu, conform invenției, de obținere a ambalajelor active pe bază de acid polilactic (PLA), se derulează astfel: în 10-100 g de granule de acid polilactic (PLA) se introduce un compozit nanostructurat, astfel încât procentul masic de compozit în ambalaj să fie de 0-0,4-0,6%, procedându-se astfel: mai

întâi se obțin granule PLA modificat cu compozit nanostructurat de dioxid de titan modificat (Ag-TiO₂-GN 0,01-0,03 II tt) cu grafenă (GN) (0,01-0,03 g gel) și cu nanoparticule de argint (0,03-0,05g/10-30 g gel); apoi, peste folia PLA 0,4-0,6 se depune, prin presare la cald (50°), coală de hârtie (H) obținută din două tipuri de celuloză, una cu fibră lungă și una cu fibră scurtă, amidon soluție 1%, agent de umplere (CaCO₃), agent de incleiere, agent de retenție; apoi, structura H, PLA 0,4-0,6 este acoperită cu probiotice prin pulverizare, folosind tulpina *Lactobacillus plantarum* IMC 509.

Revendicări: 4

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



18

PROCEDEU DE OBTINERE A UNOR AMBALAJE ACTIVE PE BAZĂ DE ACID POLILACTIC MODIFICAT CU NANOCOMPOZIT

Prezenta invenție se referă la un procedeu de obținere a unor ambalaje active pe bază de acid polilactic modificat cu compozit nanostructurat în proporție de 0,4-4 %, care asigură conservarea caracteristicilor organoleptice, fizico-chimice și microbiologice ale alimentelor cum ar fi brânzeturi proaspete și carne și le prelungesc durata de valabilitate. Aceste ambalaje pot fi folosite atât la nivel individual în gospodărie dar, mai ales, pe scară industrială, în toate operațiunile care vizează alimentele cum ar fi brânzeturile proaspete și carnea: producție, depozitare, transport, vânzare.

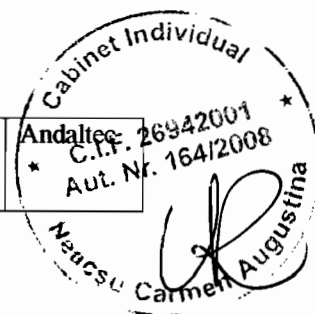
Ambalajul alimentar este esențial și omniprezent. El este esențial pentru că izolează alimentul de mediul exterior și îi menține calitățile și este omniprezent pentru că aproape toate produsele alimentare sunt ambalate într-un anumit fel. Funcția principală a unui ambalaj alimentar este de a menține siguranța produselor alimentare și a băuturilor în timpul depozitării și transportului, și de a prelungi perioada lor de valabilitate, controlând permeabilitatea umidității, a gazelor și a altor componente volatile, precum aromele.

Cerințele pe care trebuie să le îndeplinească un material pentru a avea calitatea de ambalaj alimentar sunt: flexibilitate, proprietăți de barieră împotriva gazelor, aromelor, umidității și luminii, stabilitate la variațiile temperatură/umiditate. Un ambalaj activ are, pe lângă proprietățile amintite, și alte caracteristici precum acțiune antimicrobiană, capacitate de a degrada compușii intermediari formați în spațiul de ambalare, menținerea unui echilibru de gaze în interiorul ambalajului.

Se cunoaște că biopolimerii sunt de mare interes ca materiale de ambalare, datorită naturii lor biodegradabile, comparativ cu omologii lor pe bază de petrol. Dintre aceștia, acidul polilactic (PLA), care este un poliester alifatic derivat din resursele regenerabile precum fermentarea amidonului. Este cunoscut ca potențial material de ambalare. Ambalajele pe bază de acid polilactic au proprietăți mecanice, termice și biodegradabile bune, dar aplicarea lor este limitată din cauza dezavantajelor pe care le prezintă, și anume: flexibilitate redusă, rezistență la impact redusă și proprietăți de barieră scăzute.

Se cunosc, de asemenea, ambalaje alimentare pe bază de hârtie. Dezavantajul acestora este faptul că sunt relativ slabe din punct de vedere al rezistenței mecanice și prezintă stabilitate fizică și chimică reduse.

Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------



Se cunoaște documentul de brevet CN 1359790(A), care se referă la un ambalaj alimentar pe bază de acid polilactic. Dezavantajul acestei invenții este faptul că prezintă flexibilitate și rezistență la impact reduse.

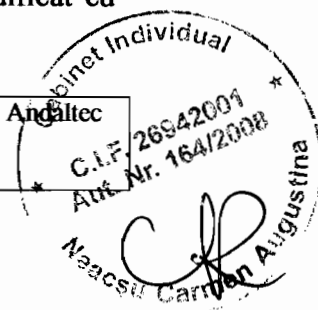
Problema tehnică pe care își propune să o rezolve invenția revendicată este de a realiza un procedeu de obținere a unor ambalaje alimentare active dintr-o compoziție de acid polilactic (PLA) modificat cu compozit nanostructurat în proporție de 0,4-4 % și coală de hârtie (H) obținută din celuloză, amidon soluție 1%, agent de umplere (CaCO_3), agent de încliere, agent de retenție, structura HPLA0,4-0,6 fiind acoperită cu probiotice prin pulverizare, obținându-se astfel ambalaje alimentare active cu flexibilitate mai ridicată, cu rezistență la impact mai mare, cu stabilitate fizică și chimică ridicate și cu proprietăți de barieră îmbunătățite, care să asigure conservarea produselor alimentare pentru o durată mai mare de timp, în condiții de refrigerare ($0-10^\circ\text{C}$), precum și să mențină caracteristicile alimentelor pe perioada de conservare.

Procedeul de obținere a unor ambalaje active pe bază de acid polilactic modificat cu nanocompozit, conform invenției revendicate, rezolvă această problemă tehnică prin faptul că utilizează ca material pentru realizarea ambalajului alimentar o compoziție ce are ca materie primă acidul polilactic modificat cu compozit nanostructurat de dioxid de titan (TiO_2) modificat cu grafenă (GN) (0,01-0,03 g/10-30 g gel) și cu nanoparticule de argint (Ag)(0,03-0,05g/10-30 g gel) (Ag- TiO_2 -GN 0,01-0,03 II tt), în proporție de 0,4-4 %, respectiv o structură hârtie-acid polilactic modificat cu compozit nanostructurat de dioxid de titan (TiO_2) modificat cu grafenă (GN) (0,01-0,03 g/10-30 g gel) și cu nanoparticule de argint (Ag)(0,03-0,05g/10-30 g gel) (Ag- TiO_2 -GN 0,01-0,03 II tt), în proporție de 0,4-4 %.

Se pot obține, în acest mod, următoarele tipuri de ambalaje active, în funcție de combinația dintre elementele mai sus menționate, după cum urmează:

- 1) Acid polilactic (PLA) cu compozit în proporție masică de 0% (PLA)
- 2) Acid polilactic (PLA) cu compozit în proporție masică de 0,4-0,6% (PLA0,4-0,6)
- 3) Acid polilactic (PLA) cu compozit în proporție masică de 0,9-1,1% (PLA1,1)
- 4) Acid polilactic (PLA) cu compozit în proporție masică de 2-4% (PLA2-4)
- 5) Hârtie-acid polilactic (H-PLA)
- 6) Hârtie-acid polilactic modificat cu probiotice (H-PLA-LP)
- 7) Hârtie-acid polilactic cu compozit în proporție masică de 0,4-0,6% (H-PLA0,4-0,6)
- 8) Hârtie-acid polilactic cu compozit în proporție masică de 0,4-0,6%, modificat cu probiotice (H-PLA0,4-0,6-LP)

Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec	Andaltec
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------	----------



9) Hârtie cu compozit în proporție masică de 0,4-0,6% - acid polilactic cu compozit în proporție masică de 0,4-0,6% (H0,4-0,6-PLA0,4-0,6)

10) Hârtie cu compozit în proporție masică de 0,4-0,6% - acid polilactic cu compozit în proporție masică de 0,4-0,6%, modificat cu probiotice (H0,4-0,6-PLA0,4-0,6-LP)

Există un interes din ce în ce mai mare în ceea ce privește utilizarea fibrelor, probioticelor și a combinațiilor dintre ele pentru îmbunătățirea compoziției microbiotei intestinale și implicit, a sănătății digestive. Lactobacilii probiotici au un potențial ridicat de a produce compuși antimicrobieni, care inhibă și controlează dezvoltarea microorganismelor patogene. Eficiența probioticelor pentru sănătate depinde de tipul de tulpină pro-biotică și de concentrație

Nanoparticulele de Ag și TiO_2 cristalizat de dimensiune nanometrică sunt, în general, incluse în materialele de ambalare datorită rolului lor antimicrobian (Lin și colab. 2020). Efectul exercitat de compozitul Ag- TiO_2 asupra bacteriilor gram-pozitive și gram-negative este mai intens comparativ cu cel manifestat de TiO_2 sau de Ag luate separat (Lin și colab. 2020). Pe lângă rolul antimicrobian, s-a demonstrat că acest compozit îmbunătățește și proprietățile mecanice ale filmului de gelatină.

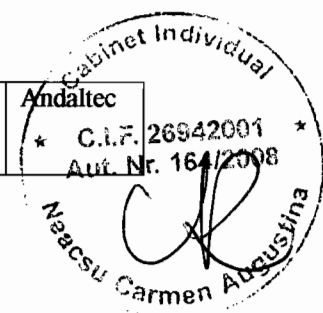
Grafena este considerată cel mai robust material cu excelente proprietăți de barieră, termice și mecanice

Se cunosc doar informații despre performanțele fotocatalitice ale activității antimicrobiene și potențialul de utilizare în funcționarea celulelor solare a materialului compozit care include Ag, TiO_2 și grafenă. Nu se cunosc date cu privire la includerea acestuia ca agent activ în ambalaje alimentare.

Pe de altă parte, se cunoaște activitatea antimicrobiană doar a filmului de PLA modificat cu alți compuși, dar nu cu Ag- TiO_2 -grafenă. Mai mult decât atât, utilizarea PLA, respectiv a structurii hârtie - PLA modificată cu Ag- TiO_2 -grafenă ca material de ambalare a alimentelor și, în special, a brânzeturilor proaspete, respectiv a cărnii, nu a fost raportată, așa cum nu sunt studii despre ambalajele active hârtie-PLA modificate cu Ag- TiO_2 -grafenă și cu tulpini probiotice.

Pentru testarea activității conservante a ambalajelor active pe bază de PLA obținute prin procedeul conform invenției, s-a folosit brânză proaspătă. S-a decupat câte un film de ambalaj cu dimensiunea de 40 cm/40 cm, în care s-au ambalat câte 50-100 g brânză. Probele s-au păstrat la refrigerare la 1-10°C timp de 14 zile și s-au monitorizat caracteristicile organoleptice, fizico-chimice și microbiologice.

Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec	Andaltec * C.I.F. 26942001 Aut. Nr. 164/2008 *
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------	--



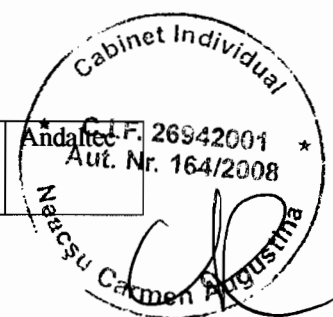
La începutul experimentului, brânza are un aspect exterior omogen fără scurgeri, culoare albă uniformă în toată masa, consistență fină, nesfărâncioasă, ușor grunjoasă și miros plăcut, aromă caracteristică de fermentație lactică, fără nuanțe străine. După 3 zile de păstrare, brânza din toate cele patru tipuri de ambalaje nu și-a modificat caracteristicile organoleptice, acesta fiind exact ca în ziua 0 a experimentului. După 10 zile de păstrare, parametrii organoleptici care s-au modificat au fost culoarea și mirosul, consistența rămânând ca în ziua 0. Culoarea probei din PLA a devenit gălbuie, în schimb culoarea brânzei din celelalte ambalaje (PLA0,4-0,6, PLA0,9-1,1 și PLA2-4 a rămas neschimbată). Mirosul probelor PLA, PLA0,4-0,6 și PLA0,9-1,1 a devenit ușor acru, în schimb cel al probei PLA2-4 a rămas neschimbat. După 14 zile de păstrare, parametrii organoleptici care s-au modificat au fost, de asemenea, culoarea și mirosul. Probele PLA, PLA0,4-0,6 și PLA0,9-1,1 au căpătat o culoare gălbuie, în schimb culoarea probei PLA2-4 nu s-a modificat față de cea a brânzei din ziua 0. Variațiile de miros sunt aceleași ca după 10 zile de păstrare. Conform legislației în vigoare, probele de brânză păstrate 14 zile în toate cele 4 tipuri de ambalaje îndeplinesc condițiile de admisibilitate în ceea ce privește caracteristicile senzoriale.

În **Tabelul 1**, sunt prezentate câteva din rezultatele experimentelor fizico-chimice realizate pe durata depozitării brânzei proaspete de vaci în ambalajele obținute prin procedeul descris în invenția revendicată, după 14 zile de păstrare, în care "+" și "-" înseamnă creștere, respectiv scădere față de ziua 0. Cea mai redusă pierdere de masă a avut loc în cazul probei PLA2-4. Aciditatea brânzei proaspete de vaci la începutul experimentului a fost de 130,2⁰T. Intervalul maxim admis, conform legislației în vigoare, de aciditate până la care brânza proaspătă de vaci este sigură pentru consum este 160-240⁰T. Acest interval nu a fost atins în nici unul dintre ambalaje pe durata a 14 zile de păstrare. Cea mai redusă variație a indicelui de peroxid avut loc în proba PLA2-4, în schimb cea mai slabă degradare a proteinei și a grăsimii s-a înregistrat în proba PLA0,4-0,6.

Nivelul minim admis de substanță uscată, conform legislației în vigoare este de 20%. Acest prag nu a fost atins de nici una dintre probele de brânză din ambalajele active după 14 zile de păstrare.

De asemenea, conținutul de grăsime pentru brânza proaspătă trebuie să fie cuprins între 0,1 și 35%. Variația grăsimii în probele de brânză este între 5,5 și 2,5%, ceea ce demonstrează că și după 14 zile de păstrare, brânza din toate cele 4 tipuri de ambalaje întrunește condițiile de admisibilitate referitoare la conținutul de grăsime.

Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------



Tabelul 1.

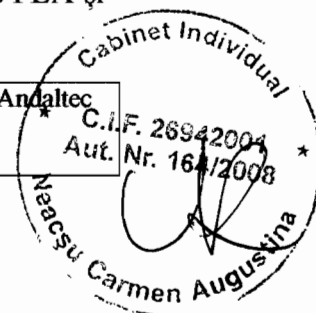
Parametru	Ambalaj			
	PLA	PLA0,4-0,6	PLA0,9-1,1	PLA2-4
Pierdere de masă (%)	8,34	11,5	10,9	7,32
Aciditate (⁰ T) (diferență față de ziua 0, adică față de 130,2 ⁰ T)	-73	-37	-54	-63
Indice de peroxid (mEg/kg) (diferență față de ziua 0)	+14	+7	+7	+6
Substanță uscată (%) (diferență față de ziua 0)	+2	+2	+2	+3
Proteină (%) (diferență față de ziua 0)	-5,5	-5,3	-5,4	-5,6
Grăsime (%) (diferență față de ziua 0)	-3,07	-1,6	-1,8	-1,94

În Tabelul 2, sunt prezentați parametri microbiologici ai brânzei proaspete măsurate pe durata păstrării, în care "+" și "-" înseamnă creștere, respectiv scădere față de ziua 0. Legislația în vigoare prevede că nivelul maxim admis de mezofile totale trebuie să fie mai mic de 10^6 UFC/g, de stafilococ coagulază pozitiv trebuie să fie mai mic de 100 CFU/g, de colonii de *Pseudomonas* spp. trebuie să fie sub 10^5 CFU/g, *Esherichia coli* nu trebuie să depășească 10^3 CFU/g, iar *Bacillus cereus* să fie mai mic de 10^4 CFU/g.

Rezultatele referitoare la variația nivelului total de mezofile aerobe sunt: după 3 zile, nivelul din probele PLA0,4-0,6 și PLA2-4 este semnificativ mai scăzut decât cel din proba PLA0,9-1,1, iar nivelul din proba PLA0,4-0,6 este semnificativ mai scăzut decât în proba PLA. După 6 zile de păstrare, numărul de colonii din proba PLA este semnificativ mai scăzut decât cel din celelalte ambalaje. După 9 zile de păstrare, valorile numărului de mezofile din probele PLA0,4-0,6 și PLA este semnificativ mai redus decât în proba PLA2-4.

Rezultatele referitoare la variația nivelului de coliformi sunt: Nivelul de coliformi a crescut pe durata păstrării în toate ambalajele, dar cel din brânza ambalată în probele PLA și PLA0,4-0,6 a fost semnificativ mai scăzut decât în celelalte probe.

Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec	Andaltec
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------	----------



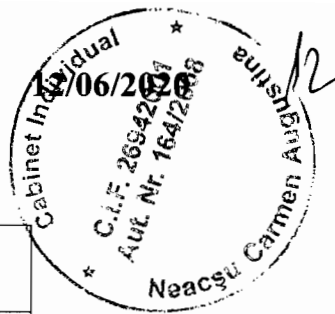
Rezultatele referitoare la variația nivelului de stafilococ coagulază-positiv sunt: valorile înregistrate în proba PLA sunt mai scăzute decât în celelalte ambalaje. Variația numărului de colonii din ambalajul PLA0,4-0,6 este similară celei din proba PLA.

Rezultatele referitoare la variația nivelului de *Pseudomonas spp.* sunt: După 6 zile de păstrare, nivelul de colonii din proba PLA a fost semnificativ mai scăzut decât cel din proba PLA0,9-1,1.

Rezultatele referitoare la variația nivelului de *Bacillus cereus* sunt: După 6 zile de păstrare, nivelul de colonii din proba PLA a fost semnificativ mai scăzut decât în celelalte probe. După 9 zile de păstrare, numărul de tulpini din probele PLA și PLA0,9-1,1 a fost mai redus decât în probele PLA2-4 și PLA0,4-0,6.



Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec	Andaltec
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------	----------



Tabelul 2.

Parametru	Ambalaj															
	PLA				PLA0,4-0,6				PLA0,9-1,1				PLA2-4			
	3	6	9	14	3	6	9	14	3	6	9	14	3	6	9	14
	perioada de păstrare (zile)															
Mezofile totale (log CFU/g) (diferență față de ziua 0)	+2,2	+2,2	+3,5	+4	+1,8	+3,2	+3,5	+3,8	+2,5	+3,2	+4	+4	+2	+3,2	+4,2	+4
Coliformi totali (log CFU/g) (diferență față de ziua 0)	+0,4	+1,1	+3	+5,6	+0,4	+1,6	+1,8	+5,4	+0,9	+2	+3	+6	+0,8	+2,6	+3,6	+5,6
Stafilococ coagulază-pozitiv (log CFU/g) (diferență față de ziua 0)	+1	+2	+2,5	+4,2	+1	+3	+3,2	+4,3	+1,6	+3	+3,5	+4,5	+1,5	+3	+4,2	+4,3
Pseudomonas spp. (log CFU/g) (diferență față de ziua 0)	+2,8	+4	+4,5	+4,5	+2,5	+4,5	+4,5	+4,5	+3,2	+4,5	+4,5	+4,5	+2,8	+4,5	+5,2	+4,5
Bacillus cereus (log CFU/g) (diferență față de ziua 0)	+0,7	0	+2	+3,3	+0,7	+2	+3,6	+3,7	+1,7	+3	+2	+4,3	+0,7	+2	+3,6	+4,2
Escherichia coli (log CFU/g) (diferență față de ziua 0)	+1,5	+2	+3,5	+5	+0,2	+3,5	+3,7	+4,5	+1,5	+3,5	+3,5	+5,5	+1	+3,5	+4,5	+6

Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec	Andaltec
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------	----------

Rezultatele referitoare la variația nivelului de *Esherichia coli* sunt: După 3 zile de păstrare, nivelul de colonii din PLA0,4-0,6 a fost mai scăzut decât cel din PLA0,9-1,1. După 6 zile de păstrare, cel mai mic număr de colonii s-a determinat în PLA. Ulterior, până la sfârșitul experimentului, s-a menținut cel mai redus nivel de colonii tot în probele PLA și PLA0,4-0,6.

Nivelul de bacterii anaerobe, drozii și mucegaiuri a fost sub limita de detecție pe toată durata experimentului în toate ambalajele.

În **Tabelul 3**, este prezentată perioada, adică zilele în care nivelul de microorganisme se încadrează în limita maximă admisă conform Ce.I.R.S.A. 2017. Ambalajele PLA și PLA0,4-0,6 mențin brânza proaspătă o perioadă mai lungă decât celelalte ambalaje testate. Dacă se are în vedere numărul de coliformi totali, durata de păstrare în PLA a crescut cu 2 zile față de PLA0,9-1,1 și cu 2,5 zile față de PLA2-4, iar păstrarea în PLA0,4-0,6 se poate face cu 1 zi mai mult decât în PLA0,9-1,1 și cu 2,5 zile mai mult decât în PLA2-4. Dacă se coroborează toți timpii de păstrare, concluzia este că ambalajele PLA și PLA0,4-0,6 cresc durata de păstrare a brânzei proaspete cu 50% față de PLA0,9-1,1 și PLA2-4.

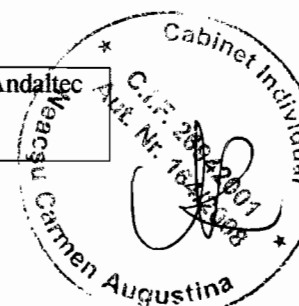
Tabel 3.

	Ambalaj			
	PLA	PLA0,4-0,6	PLA0,9-1,1	PLA2-4
Mezofile totale	3	4,5	<3	4,5
Coliformi totali	7	6	5	4,5
Stafilococ coagulază-pozitiv	6	4,5	3	3
<i>Pseudomonas</i> spp.	4	4	<3	3
<i>Bacillus cereus</i>	3	3	2	<3

Pentru testarea activității conservante a ambalajelor active pe bază de hârtie-PLA obținute prin procedeul conform invenției, s-a folosit carne proaspătă. O cantitate de 10-50 g carne a fost introdusă în fiecare ambalaj având formă circulară cu aproximativ 20-50 cm diametru. Bucata de carne s-a pus în contact cu suprafața cu PLA.

Probele s-au păstrat la refrigerare. Analizele microbiologice au constatat în determinarea nivelurilor de mezofile, bacterii lactice, enterobacteriacee, *Pseudomonas*, stafilococ coagulază-pozitiv.

Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec	Andaltec
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------	----------



Acestea s-au efectuat astfel: o anumită cantitate de probă de carne a fost omogenizată într-un digester împreună cu 90 mL soluție fiziologică sterilă, după care s-au făcut diluții care au fost incubate la 37⁰ C timp de 24-48 h, cu excepția celor pentru măsurarea tulpinilor anaerobe.

S-a monitorizat și evoluția aminelor biogene, și anume: triptamină, 2-fenil-etil-amină, putresceină (PUT), cadaverină (CAD), histamină (HIS), tiramină (TYR), spermidină (SPD) și spermină (SPM). Analiza s-a efectuat prin tehnica de cromatografie HPLC-DAD, după metoda descrisă de Sirocchi și colab. (2013). Din valorile aminelor biogene s-au calculat:

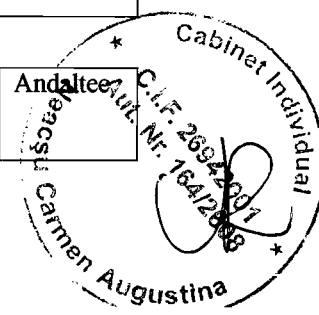
- BAI (Indice de amine biogene): PUT + CAD + HIS + TYR.
- CQI (Indice de calitate chimică): (PUT + CAD + HIS) / (1 + SPM + SPD).
- BAs = PUT + CAD + HIS + TYR + 2-PHE + TRY + SPM + SPD.

Analiza senzorială a arătat că proba H-PLA-LP a conservat cel mai bine aspectul cărnii timp de 7 zile comparativ cu celelalte ambalaje cu structură H-PLA, acesta primind cel mai mare scor. După 5 zile de păstrare, cele mai mai scoruri pentru miros și elasticitate au fost primite de carnea păstrată în H-PLA0,4-0,6-LP. După 7 zile de păstrare, ambalajul care a conservat cel mai bine culoarea cărnii a fost H-PLA0,4-0,6.

Tabelul 4.

Parametru	Ambalaj					
	H-PLA	H-PLA-LP	H-PLA0,4-0,6	H-PLA0,4-0,6-LP	H0,4-0,6-PLA0,4-0,6	H0,4-0,6-PLA0,4-0,6-LP
Mezofile totale (log CFU/g)	+2,5	+2,5	+1,8	+2,5	+3	+3
Bacterii lactice (log CFU/g)	+0,2	+2,5	-1	+2	+0,3	+2
Enterobacteriaceae (log CFU/g)	+3,5	+4	+3,5	+3,5	+3,5	+4
Pseudomonas (log CFU/g)	+3,2	+5	+3	+3	+5	+5
Stafilococ coagulază-positiv(log CFU/g)	+1,8	+2,4	+1,8	+1,8	+3	+3,2
BAI (mg/kg)	+750	+1150	+650	+1200	+2350	+1150
CQI (mg/kg)	+1,55	+1,3	+1,1	+1,9	+3,55	+3,2
BAs (mg/kg)	+760	+1220	+700	+1200	+2500	+2000

Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec	Andaltee Carmen Augustina
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------	------------------------------



În **Tabelul 4**, sunt prezentați parametrii microbiologici și chimici ai cărnii de pui după 7 zile de păstrare la refrigerare. Valorile sunt prezentate față de ziua 0 a experimentului, iar "+" și "-" înseamnă creștere, respectiv scădere față de ziua 0, singura amină biogenă reglementată este histamina a cărei nivel maxim în carne și produsele din pește trebuie să fie maxim între 200 și 400 mg kg⁻¹. Nivelul de histamină al probelor de carne de pui nu a depășit valoarea maximă admisă nici după ziua a 7-a de păstrare.

Rezultatele referitoare la variația nivelului total de mezofile aerobe sunt: după 2 zile de păstrare, nivelul de mezofile din proba H-PLA0,4-0,6 a fost semnificativ mai scăzut decât cel din celelalte probe, fiind urmat de H-PLA și H0,4-0,6-PLA0,4-0,6. După 5 zile de păstrare, cel mai redus nivel de mezofile s-a acumulat în H-PLA0,4-0,6 și H-PLA, iar după 7 zile de păstrare, proba H-PLA0,4-0,6 a permis dezvoltarea celui mai mic număr de colonii.

Rezultatele referitoare la variația nivelului total de bacterii lactice sunt: cel mai mic număr de bacterii lactice s-a dezvoltat pe probele H-PLA0,4-0,6, H-PLA și H0,4-0,6-PLA0,4-0,6 după 2, 5 și 7 zile de păstrare.

Rezultatele referitoare la variația nivelului de enterobacteriaceae sunt: după 2 zile de păstrare, cel mai mic nivel s-a determinat în H-PLA0,4-0,6-LP, urmat de H-PLA0,4-0,6. Acest efect nu s-a menținut și după ziua a 5-a, când H-PLA0,4-0,6 a păstrat cel mai mic nivel de enterobacteriaceae. În ultima zi de studiu, cel mai eficient ambalaj a fost H-PLA0,4-0,6.

Rezultatele referitoare la variația nivelului de *Pseudomonas* spp. sunt: după 7 zile de păstrare, cel mai redus nivel de colonii s-a determinat în proba H-PLA0,4-0,6-LP. Deci, acest ambalaj poate păstra carnea de pui în condiții de siguranță până la 2 zile.

Rezultatele referitoare la variația nivelului de stafilococ coagulază-positiv sunt: după 5 și 7 zile de păstrare, cele mai eficiente ambalaje au fost H-PLA, H-PLA-LP, H-PLA0,4-0,6 și H-PLA0,4-0,6-LP.

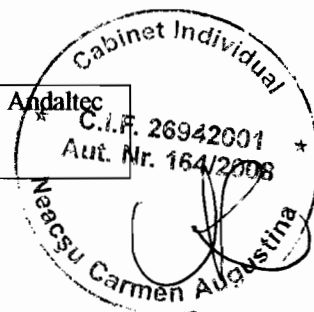
Nivelul de *Escherichia coli*, bacterii anaerobe și *Clostridium perfringens* a fost sub limita de detecție pe toată durata studiului.

Rezultatele referitoare la variația BAI sunt: după 7 zile de păstrare, cel mai redus indice s-a determinat în H-PLA0,4-0,6 și H-PLA0,4-0,6-LP.

Rezultatele referitoare la variația CQI sunt: după 5 zile de păstrare, cel mai mic indice de calitate a fost măsurat în H-PLA-LP și H-PLA0,4-0,6-LP.

Rezultatele referitoare la variația BAs sunt: Probele H-PLA și H-PLA0,4-0,6 au conservat cel mai eficient probele de carne și au redus cel mai mult viteza de formare a aminelor biogene și, implicit, degradarea proteinelor din carne.

Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec	Andaltec C.I.F. 26942001 Aut. Nr. 164/2008
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------	--





Analizele microbiologice au arătat că probele din carne pot fi păstrate în condiții de siguranță alimentară în H-PLA timp de 6 zile, în H-PLA-LP și H-PLA0,4-0,6 timp de 3,5 zile și în H-PLA-LP timp de 4,5 zile.

Se prezintă, în continuare, un exemplu de realizare practică a procedurii de obținere a unor ambalaje alimentare active pe bază de acid polilactic, conform invenției revendicate.

Procedura de obținere a unor ambalaje alimentare active pe bază de acid polilactic, respectiv structura hârtie-acid polilactic, conform invenției revendicate, constă în următoarele etape: obținerea compozitului nanostructurat, obținerea compoziției PLA modificat cu compozit nanostructurat și obținerea ambalajelor active.

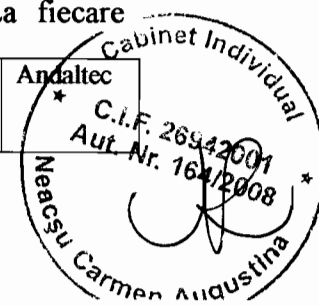
Pentru compozitul nanostructurat de dioxid de titan modificat (Ag-TiO₂-GN 0,01-0,03 II tt) cu grafenă (GN) (0,01-0,03 g/10-30 g gel) și cu nanoparticule de argint (0,03-0,05g/ 10-30 g gel), procedura de obținere prezintă următoarele etape: întâi, se prepară solul de dioxid de titan (TiO₂) (10-30g) prin metoda sol-gel în cataliză acidă, utilizându-se ca sursă pentru Ti, tetra-izopropoxid de titan (Ti(O-*i*Pr)₄), hidrolizați de apă ultrapură, în prezența acidului azotic (catalizator), utilizând ca mediu de reacție etanolul absolut. În solul astfel obținut, se adaugă 0,01-0,03 g pulbere de grafenă sub agitare până la o dispersie a particulelor de grafenă în sol, urmat de gelificare. Se obține astfel, un gel de culoare neagră. După maturare, gelul de dioxid de titan - grafenă este introdus în 15-35 mL soluție de azotat de argint 0,005-0,025M timp de 24-48 h. Ulterior, gelul este uscat la 50-70⁰C până la masă constantă (diferența dintre două cântăriri este mai mică de 0,0002g) și tratat termic la 400-600⁰C 2-5h cu o viteză de creștere/descrescere a temperaturii de 4-10⁰C/minut.

Pentru obținerea ambalajelor active pe bază de acid polilactic procedura se derulează astfel: mai întâi se obțin granule PLA modificat cu compozit nanostructurat de dioxid de titan (TiO₂) modificat cu grafenă (GN) (0,01-0,03 g/10-30 g gel) și cu nanoparticule de argint (Ag)(0,03-0,05g/10-30 g gel) (Ag-TiO₂-GN 0,01-0,03 II tt). în proporție de 0,4-4 %.

Granulele PLA se usucă la 55-75⁰C timp de 4-8 h, compozitul nanostructurat se macină într-o moară cu bile la o turație de 600-900 rpm timp de 2-10 minute cu scopul de a ajunge la o dimensiune potrivită pentru includerea omogenă în PLA și să nu se formeze aglomerări de particule.

Pentru a se putea îngloba compozit nanostructurat în PLA, granulele de PLA sunt împărțite în trei fracțiuni în timp ce compozitul nanostructurat este separat în matrice. După adăugarea compozitului nanostructurat în granulele PLA, amestecul este încălzit la 170-200⁰C timp de 12-16 minute și, apoi, răcit până la temperatura camerei. La fiecare

Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec	Andaltec
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------	----------



7

omogenizare se obțin 100-200g PLA2-4. Procesul se repetă până se obțin 5-7 kg material. Apoi, acesta este transformat în granule, prin extrudare și tăiere. Pentru obținerea granulelor PLA0,9-1,1, se combină 1-2 kg de PLA2-4 cu 2-4 kg PLA, iar pentru obținerea PLA0,4-0,6, se combină 1-2 kg PLA0,9-1,1 cu 1-3 kg PLA.

Imaginea granulelor PLA2-4, PLA0,9-1,1 și PLA0,4-0,6 modificate cu compozit nanostructurat este prezentată în **Figura 1**. Filmul de ambalaj activ s-a obținut prin extrudare la 170-210°C. Se formează un balon de film care este apoi tăiat. Astfel s-au obținut ambalajele PLA, PLA0,4-0,6, PLA0,9-1,1, PLA2-4.

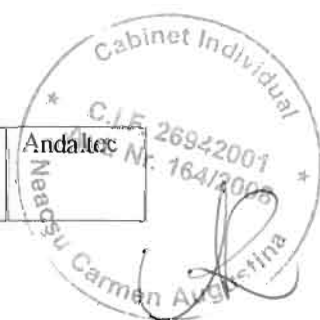


Figura 1.

Pentru obținerea ambalajelor active cu structura hârtie-acid polilactic modificate cu compozit nanostructurat, procedeul se derulează astfel:

- PLA și PLA0,4-4 se prepară după procedeul prezentat mai sus
- Hârtia se obține din două tipuri de celuloză, una cu fibră lungă și una cu fibră scurtă, amidon soluție 1%, agent de umplere (CaCO_3), agent de încleiere, agent de retenție. Celulozele se macină în instalația de preparare pastă a mașinii de hârtie la o consistență de 3-7%. Timpul setat la aparatul de format foi pentru uscarea acestui sortiment de hârtie este de 5-15 minute. Se alege un gramaj de 50-100g/m², ceea ce permite obținerea unui ambalaj cu toate caracteristicile fizico – mecanice și funcționale destinat contactului cu alimentele în condiții de siguranță.
- Hârtia cu compozit se obține prin introducerea compozitului nanostructurat măcinat în omogenizator, funcție de cantitatea calculată, după amestecul celor două celuloze, la o consistență de 1-10%. Compozitul se distribuie uniform în pasta de hârtie și nu au fost observate alte aspecte notabile privind comportamentul în pasta de hârtie.

Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec	Andaltec
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------	----------



6

- structura sandwich de tip H-PLA se obține prin presarea la cald, la aproximativ 50 °C a filmului de PLA pe suportul de hârtie.

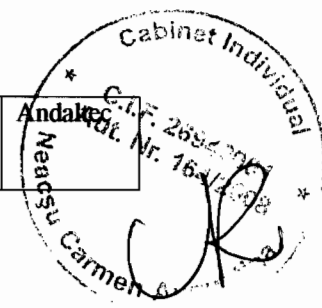
Acoperirea cu probiotice a ambalajelor active cu structură H-PLA se realizează prin pulverizare. Se folosește tulpina *Lactobacillus plantarum* IMC 509. Colile H-PLA sunt sterilizate prin iradiere cu ultraviolete (UV) timp de 2-5 h înainte de pulverizare. Se cântăresc 0,01-0,1g pulbere liofilizată de *Lactobacillus plantarum* IMC 509 care s-a dizolvat în 50-100 mL soluție tampon fosfat steril și amestecul s-a omogenizat. Soluția se pulverizează pe structura H-PLA în mod egal, după care se usucă în atmosferă controlată la 37°C și se sterilizează sub curent laminar de aer.

Exemplul 1. Pentru depozitarea brânzei proaspete de vaci în condiții de refrigerare, se utilizează ambalaj din acid polilactic (PLA) sub formă de folie. Rezultatele au indicat faptul că brânza poate fi păstrată în acest ambalaj timp de 14 zile la refrigerare deoarece, nu s-au depășit valorile maxime admise corespunzătoare analizei senzoriale, conținutului de apă, grăsime, aciditate. Nivelul maxim admis de mezofile și cel de *Bacillus cereus* a fost depășit după 3 zile, cel de coliformi după 7 zile, cel de stafilococ coagulază-positiv după 6 zile, cel de *Pseudomonas* spp după 4 zile.

Exemplul 2. Pentru depozitarea brânzei proaspete de vaci în condiții de refrigerare, se utilizează ambalaj din acid polilactic sub formă de folie în care este înglobat compozit nanostructurat în proporție masică de 0,4-0,6% (PLA0,4-0,6). Rezultatele au indicat faptul că brânza poate fi păstrată în acest ambalaj timp de 14 zile la refrigerare deoarece, nu s-au depășit valorile maxime admise corespunzătoare analizei senzoriale, conținutului de apă, grăsime, aciditate. Nivelul maxim admis de mezofile și de stafilococ coagulază-positiv a fost depășit după 4,5 zile, cel de coliformi după 6 zile, cel de *Pseudomonas* spp după 4 zile, iar cel de *Bacillus cereus* după 3 zile.

Exemplul 3. Pentru depozitarea brânzei proaspete de vaci în condiții de refrigerare, se utilizează ambalaj din acid polilactic sub formă de folie în care este înglobat compozit nanostructurat în proporție masică de 0,9-1,1% (PLA0,9-1,1). Rezultatele au indicat faptul că brânza poate fi păstrată în acest ambalaj timp de 14 zile la refrigerare deoarece, nu s-au depășit valorile maxime admise corespunzătoare analizei senzoriale, conținutului de apă, grăsime, aciditate. Nivelul maxim admis de mezofile și de *Pseudomonas* spp. a fost depășit după mai puțin de 3 zile, cel de coliformi după 5 zile, cel de stafilococ coagulază-positiv după 3 zile, iar cel de *Bacillus cereus* după doar 2 zile.

Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec	Andaltec
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------	----------

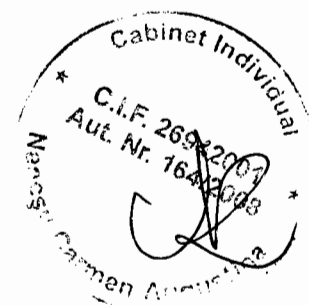


J

Exemplul 4. Pentru depozitarea brânzei proaspete de vaci în condiții de refrigerare, se utilizează ambalaj din acid polilactic sub formă de folie în care este înglobat compozit nanostructurat în proporție masică de 2-4% (PLA2-4). Rezultatele au indicat faptul că brânza poate fi păstrată în acest ambalaj timp de 14 zile la refrigerare deoarece, nu s-au depășit valorile maxime admise corespunzătoare analizei senzoriale, conținutului de apă, grăsime, aciditate. Nivelul maxim admis de mezofile și de coliformi a fost depășit după 4,5 zile, cel de stafilococ coagulază-pozitiv, *Pseudomonas* spp. și *Bacillus cereus* după 3 zile.

Exemplu 5. Pentru depozitarea cărnii de pui în condiții de refrigerare, se utilizează ambalaj activ H-PLA0,4-0,6. Rezultatele au arătat că după 7 zile de păstrare, acest ambalaj care a conservat cel mai bine culoarea cărnii. De asemenea, cel mai mic număr de colonii de mezofile, bacterii lactice, enterobacteriaceae și stafilococ coagulază-pozitiv și indici de amine biogene (BAI și BAs) s-au determinat în acest ambalaj după 7 zile. Carnea de pui poate fi păstrată la refrigerare timp de 3,5 zile în condiții de siguranță alimentară în acest ambalaj.

Exemplu 6. Pentru depozitarea cărnii de pui în condiții de refrigerare, se utilizează ambalaj activ H-PLA0,4-0,6-LP. După 5 zile de păstrare, cele mai mai scoruri pentru miros și elasticitate au fost primite de carnea păstrată în acest ambalaj. După 7 zile de păstrare, cel mai redus nivel de colonii de *Pseudomonas* spp. s-a determinat în acest ambalaj, precum și cei mai mici indicatori BAI și CQI. Carnea de pui poate fi păstrată în condiții de siguranță alimentară în H-PLA0,4-0,6-LP timp de 4,5 zile.



Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec	Andaltec
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------	----------

BIBLIOGRAFIE

Ce.I.R.S.A.- Centro Interdipartimentale di Ricerca e Documentazione sulla Sicurezza alimentare, Regione Piemonte. Linee Guida per l'analisi del Rischio nel campo della microbiologia degli alimenti (allegato B). *In*: Protocollo tecnico della Regione Piemonte per l'effettuazione dei controlli microbiologici ufficiali sugli alimenti e l'interpretazione e gestione degli esiti analitici (up dated 21.08.2017)

Coman M.M., Verdenelli M.C., Cecchini C., Silvi S., Orpianesi C., Boyko N., Cresci A. 2014. In vitro evaluation of antimicrobial activity of *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501®, *Lactobacillus paracasei* IMC 502 and SYN BIO against pathogens. *Journal of Applied Microbiology* 117:518-527.

Lin D., Yang Y., Wang J., Yan W., Wu Z., Chen H., Zhang Q., Wu D., Qin W., Tu Z. 2020. Preparation and characterization of TiO₂-Ag loaded fish gelatin-chitosan antibacterial composite film for food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules* 154:123-133.

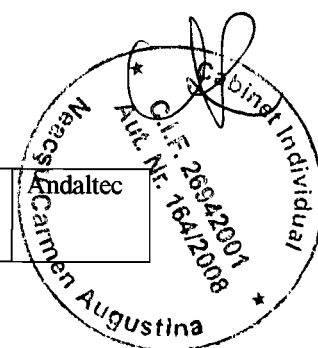
Manikandan N.A., Pakshirajan K., Pugazhenti G. 2020. Preparation and characterization of environmentally safe and highly biodegradable microbial polyhydroxybutyrate (PHB) based graphene nanocomposites for potential food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules* 154:866-877.

Palai B., Mohanty S., Nayak S.K. 2020. Synergistic effect of polylactic acid(PLA) and Poly(butylene succinate-co-adipate) (PBSA) based sustainable, reactive, super toughened eco-composite blown films for flexible packaging applications. *Polymer Testing* 83:106130.

Regulament (CE) nr. 1234/2007 al CE din 22.10. 2007, de instituire a unei organizări comune a piețelor agricole și privind dispoziții specifice referitoare la anumite produse agricole (Regulamentul unic OCP), publicat în Jurnalul Oficial al Uniunii Europene L 299, 16.11.2007, p. 1-149, documentelor normative ale Comisiei Codex Alimentarius, CODEX STAN GENERAL 206-1999 privind utilizarea termenilor privind produsele lactate, CODEX STAN 221-2001 privind brinză nematurată, inclusiv brânză proaspătă.

Sirocchi V., Caprioli G., Cecchini C., Coman M.M., Cresci A., Maggi F. ... & Sagratini G. 2013. Biogenic amines as freshness index of meat wrapped in a new active packaging system formulated with essential oils of *Rosmarinus officinalis*. *International journal of food sciences and nutrition* 64(8):921-928.

Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec	Andaltec
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------	----------

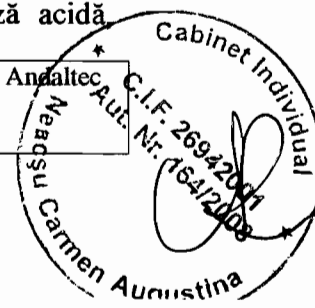


4

REVENDICĂRI

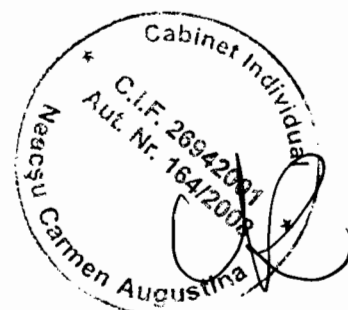
1. Procedeu de obținere a unui ambalaj activ pe bază de acid polilactic **caracterizat prin aceea că**, în 10-100g de granule de acid polilactic se introduce un compozit nanostructurat, astfel încât procentul masic de compozit în ambalaj să fie de 0,4-4%, procedându-se astfel: mai întâi se obțin granule PLA modificat cu compozit nanostructurat de dioxid de titan modificat (Ag-TiO₂-GN 0,01-0,03 II tt) cu grafenă (GN) (0,01-0,03 g/10-30 g gel) și cu nanoparticule de argint (0,03-0,05g/ 10-30 g gel); apoi, peste folia PLA0,4-4 se depune, prin presare la cald (50⁰), coala de hârtie (H) obținută din două tipuri de celuloză, una cu fibră lungă și una cu fibră scurtă, amidon soluție 1%, agent de umplere (CaCO₃), agent de încliere, agent de retenție; apoi, structura H-PLA0,4-4 este acoperită cu probiotice prin pulverizare, folosind tulpina *Lactobacillus plantarum*.
2. Procedeu de obținere a unui ambalaj activ pe bază de acid polilactic, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, granulele PLA modificat cu compozit nanostructurat se obțin astfel: granulele PLA se usucă la o temperatură de 55-75⁰C timp de 4-8 h, compozitul nanostructurat se macină într-o moară cu bile la o turație de 600-900 rpm timp de 2-10 minute, apoi amestecul de granule PLA este încălzit la 170-200⁰C timp de 12-16 minute și omogenizat, după care este răcit până la temperatura camerei și se obțin 100-200g PLA2-4, apoi procesul se repetă până se obțin 5-7 kg material PLA2-4, iar apoi acesta este transformat în granule, prin extrudare și tăiere, după care se adaugă compozitul nanostructurat, astfel încât granulele PLA0,9-1,1 se obțin din combinarea 1-2 kg PLA0,9-1,1 cu 1-2 kg PLA, după care filmul de ambalaj activ se obține prin extrudare la 170-210⁰C și se formează un balon de film care apoi se taie.
3. Procedeu de obținere a unui ambalaj activ pe bază de acid polilactic, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, compozitul nanostructurat de dioxid de titan modificat (Ag-TiO₂-GN 0,01-0,03 II tt) cu grafenă (GN) (0,01-0,03 g/10-30 g gel) și cu nanoparticule de argint (0,03-0,05g/ 10-30 g gel) se obține astfel: se prepară solul de dioxid de titan (TiO₂) (10-30g) prin metoda sol-gel în cataliză acidă.

Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec	Andaltec
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------	----------



utilizându-se ca sursă pentru Ti, tetra-izopropoxid de titan ($Ti(O-iPr)_4$), hidrolizați de apă ultrapură, în prezența acidului azotic (catalizator), utilizând ca mediu de reacție etanolul absolut, după care în solul astfel obținut, se adaugă 0,01-0,03 g pulbere de grafenă sub agitare până la o dispersie a particulelor de grafenă în sol, urmat de gelificare, obținându-se astfel, un gel de culoare neagră, care după maturare este introdus în 15-35 ml soluție de azotat de argint 0,005-0,025M timp de 24-48 h, după care este uscat la 50-70⁰C până la masă constantă adică diferența dintre două cântăriri este mai mică de 0,0002g și apoi este tratat termic la 400-600⁰C 2-5h cu o viteză de creștere/descreștere a temperaturii de 4-10⁰C/minut.

4. Procedeu de obținere a unui ambalaj activ pe bază de acid polilactic, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, structurile H-PLA0,4-4 sunt sterilizate prin iradiere cu UV timp de 2-6 ore înainte de pulverizare, se cântăresc 0,01-0,1 g pulbere liofilizată de *Lactobacillus plantarum* care s-a dizolvat în 10-100 ml soluție tampon fosfat steril și amestecul s-a omogenizat, apoi soluția se pulverizează pe structura H-PLA în mod egal, după care se usucă în atmosferă controlată la 37⁰C și se sterilizează sub curent laminar de aer.



Universitatea tehnică din Cluj Napoca, Centrul Universitar NORD din Baia Mare	Ceprohart S.A.	National Institute of Chemistry	University of Camerino	Synbiotec	Andaltec
--	-------------------	---------------------------------------	------------------------------	-----------	----------