



Universitatea
Ștefan cel Mare
Suceava

Facultatea de Inginerie Alimentară



TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

**CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC,
Prof.univ.dr.ing. Sonia AMARIEI**

**DOCTORAND,
Ing. Roxana Elena PUȘCĂȘELU**

SUCEAVA, 2019

CERCETĂRI PRIVIND REALIZAREA
UNOR MATERIALE
BIOPOLIMERICE PENTRU
AMBALAJE INTELIGENTE

**„Un om de știință în laboratorul său nu este un simplu tehnician;
el este și un copil pus față în față cu un fenomen natural
care l-a impresionat ca și cum ar fi o poveste cu zâne”
Marie Curie**

Mulțumiri,

Primele gânduri de recunoștință și mulțumire se îndreaptă către doamna decan Prof. univ. dr. ing. Sonia AMARIEI, coordonator științific, pentru permanenta îndrumare, sprijinire și încurajare pe parcursul acestor ani, pentru că a crezut în mine și în puterea mea de a reuși. Pentru modul în care m-a motivat, pentru cunoștințele transmise și pentru abordările inovatoare sugerate constant îmi sunt profund recunoscătoare.

De asemenea, doresc să îmi exprim gratitudinea față de membrii comisiei de îndrumare, domnului Prof. univ. dr. ing. Gheorghe GUTT, domnului decan Prof. univ. dr. ing. Mircea OROIAN și doamnei Conf. univ. dr. ing. Maria POROCH-SERITAN pentru sfaturile și sugestiile oferite, dar și pentru perspectivele de extindere a cercetării doctorale.

În aceeași măsură, adresez mulțumiri întregului colectiv al Facultății de Inginerie Alimentară și colegilor de doctorat.

În încheiere, aș dori să mulțumesc în mod special familiei mele iubite, care m-a sprijinit necondiționat pe toată perioada studiilor doctorale și care a subliniat întotdeauna importanța unei bune educații.

Roxana Elena PUȘCĂȘELU

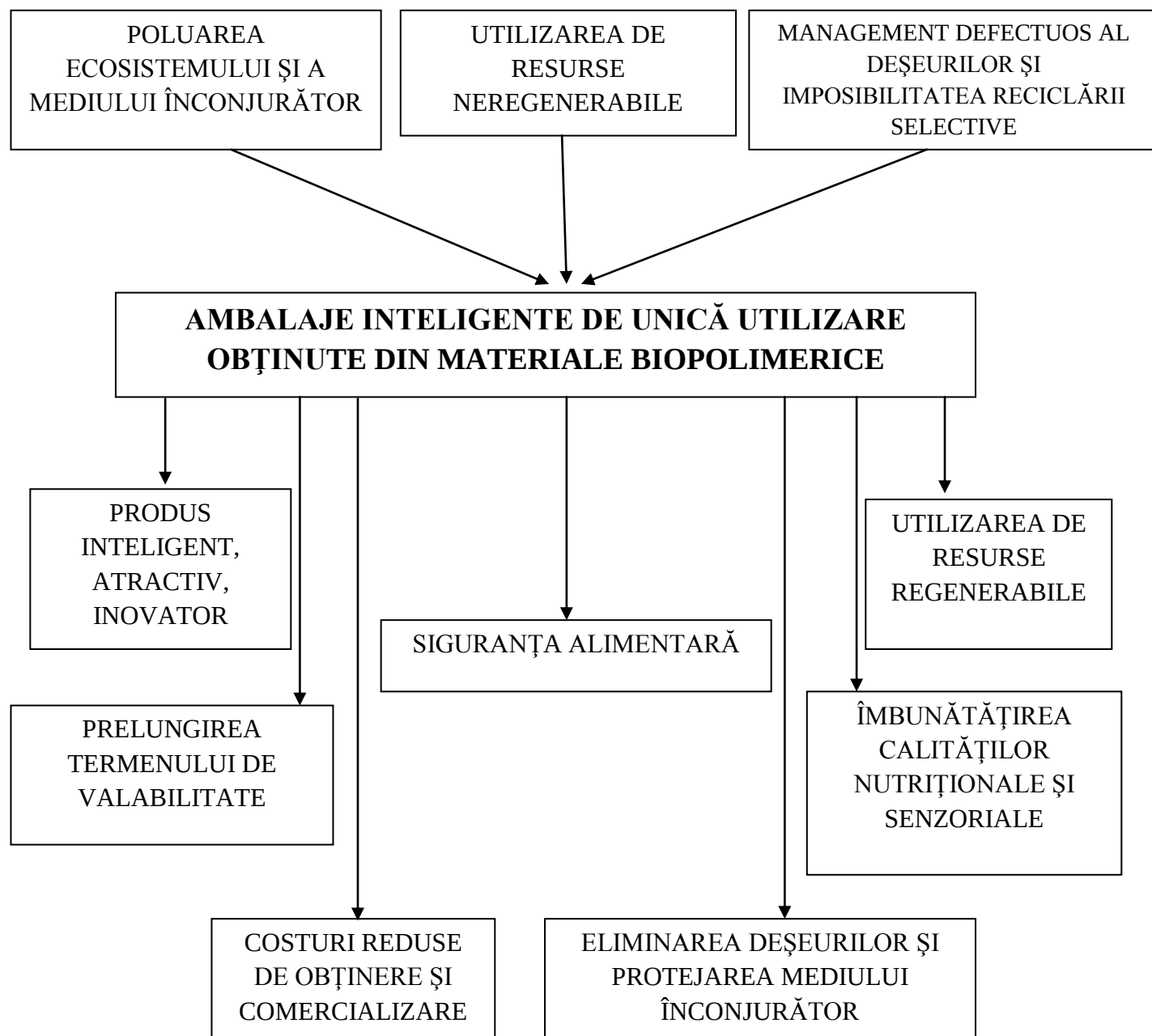
CUPRINS

	Rezumat	Teză
Glosar de abrevieri și termeni utilizați în prezenta lucrare		8
Contextul actual și motivația alegerii temei	8	10
Obiective științifice cheie	9	11
CAPITOL 1. STADIUL ACTUAL PRIVIND CERCETĂRILE ȘI REALIZĂRILE REFERITOARE LA MATERIALELE BIODEGRADABILE FOLOSITE PENTRU AMBALAJE DE UNICĂ UTILIZARE	10	13
1.1 Introducere		13
1.2 Necesitatea utilizării biopolimerilor		14
1.3 Bioambalajele sau ambalajele inteligente: caracterizare, necesitate și beneficii în utilizare		16
1.4 Filme și învelișuri alimentare comestibile		18
1.4.1. Filme și învelișuri pe bază de polizaharide		23
1.4.1.1. Amidon		23
1.4.1.2. Agar		25
1.4.1.3. Algi nați		27
1.4.1.4. Chitosan		28
1.4.1.5. Caragenani		29
1.4.2. Filme și învelișuri pe bază de proteine		33
1.4.2.1. Zeina din porumb		33
1.4.2.2. Izolat proteic din soia		33
1.4.2.3. Proteine din lapte		33
1.4.2.4. Gluten din grâu		34
1.4.2.5. Colagen /Gelatina		34
1.4.2. Filme și învelișuri pe bază de lipide		34
1.4.2.1. Ceruri		34
1.4.2.2. Gliceride		35
1.4. 4. Filme compuse/multistrat		35
1.4.5. Plastifianți		36
1.5 Substanțe cu caracter antioxidant din filmele și învelișurile comestibile		36
1.6 Evaluarea performanțelor filmelor și învelișurilor. Metode utilizate pentru caracterizarea biofilmelor		38
1.6.1. Încercări mecanice		38
1.6.2. Capacitatea de hidratare și absorbție a materialelor		41
1.6.3. Microstructura și rugozitatea		41
1.6. 4. Proprietăți optice		42
1.6. 5. Evaluarea aspectului general		42
1.6.6. Analiza profilului de textură		44
1.6.7. Determinarea caracteristicilor microbiologice		44
1.7. Concluzii		44
CAPITOL 2. MATERIALE ȘI METODE	10	46
2.1. Materiale		46

2.2. Metode		46
2.2.1. Obținerea biofilmelor		46
2.2.2. Evaluarea caracteristicilor mecanice		46
2.2.3. Determinarea solubilității filmelor		48
2.2.4. Microstructura și rugozitatea		51
2.2.5. Evaluarea proprietăților optice		52
2.2.6. Observarea aspectului peliculelor		53
2.2.7. Caracterizarea profilului de textură		53
2.2.8. Siguranța consumului materialelor		54
2.3. Interpretarea statistică a rezultatelor obținute		55
2.4. Concluzii		56
CAPITOL 3. STUDIU PRELIMINAR ÎN VEDEREA STABILIRII PROPORȚIEI OPTIME DE PLASTIFIANT NECESARĂ OBȚINERII UNUI MATERIAL DE UNICĂ UTILIZARE	11	57
3.1. Obținerea biofilmelor		57
3.2. Caracterizarea peliculelor obținute		57
3.3. Concluzii		61
CAPITOL 4. STUDIU PRELIMINAR ÎN VEDEREA ALEGERII BIOPOLIMERILOR CE VOR FI UTILIZAȚI PENTRU OBȚINEREA MATERIALULUI DE UNICĂ UTILIZARE	12	62
4.1. Prepararea biofilmelor		62
4.2. Caracterizarea membranelor		62
4.3. Concluzii		66
CAPITOL 5. CERCETĂRI EXPERIMENTALE ÎN VEDEREA DEZVOLTĂRII UNUI MATERIAL COMESTIBIL OBȚINUT DIN AGAR-ALGINAT DE SODIU- AMIDON DESTINAT PRODUSELOR ALIMENTARE	13	67
5.1. Prepararea soluțiilor formatoare de film		67
5.2. Caracterizarea filmelor obținute		66
5.3. Siguranța consumului uman		78
5.4. Modelarea statistică a durității filmelor obținute dintr-un amestec de hidrocoloizi funcție de compoziție		79
5.5. Influențele elementelor din compoziția filmelor asupra durității lor folosind modelul matematic propus		84
5.5.1. Variația durității funcție de concentrațiile de agar și amidon		84
5.5.2. Variația durității funcție de concentrațiile de agar și alginat		85
5.5.3. Variația durității funcție de concentrațiile de agar și glicerol		85
5.5.4. Variația durității funcție de concentrațiile de amidon și alginat		86
5.5.5. Variația durității funcție de concentrațiile de alginat și glicerol		87
5.6. Concluzii		88
CAPITOL 6. CERCETĂRI EXPERIMENTALE ÎN VEDEREA DEZVOLTĂRII UNUI MATERIAL DE UNICĂ UTILIZARE PE BAZĂ DE BIOPOLIMERI, ÎMBOGĂȚIT PRIN ADAOS DE INULINĂ	19	90
6.1. Inulina și beneficiile consumului		90
6.2. Obținerea peliculelor pe bază de agar- alginat de sodiu și adaos de		90

inulină		
6.3. Caracterizarea filmelor cu adaos de inulină		91
6.4. Concluzii		110
CAPITOL 7. STUDIU EXPERIMENTAL PRIVIND UTILIZAREA BIOPOLIMERILOR ȘI A FĂINII DE ROȘCOVE (<i>CERATONIA SILIQUA L.</i>) PENTRU DEZVOLTAREA UNUI AMBALAJ COMESTIBIL DESTINAT PRODUSELOR PULVERULENTE	25	111
7.1. Introducere		111
7.2. Obținerea și caracterizarea biofilmelor		112
7.3. Concluzii		121
CAPITOL 8. CERCETĂRI EXPERIMENTALE ÎN VEDEREA DEZVOLTĂRII UNUI MATERIAL COMPLET COMESTIBIL, OBȚINUT DIN BIOPOLIMERI, ÎMBOGĂȚIT PRIN ADAOS DE STEVIE (<i>STEVIA REBAUDIANA</i>)	30	122
8.1. Caracteristici generale		122
8.2. Caracterizarea materialului obținut		123
8.3. Concluzii		146
CAPITOL 9. CONCLUZII GENERALE ȘI CONTRIBUȚII ORIGINALE	36	147
REFERINȚE BIBLIOGRAFICE	39	147
DISEMINAREA REZULTATELOR CERCETĂRILOR		163

CONTEXTUL ACTUAL ȘI MOTIVAȚIA ALEGERII TEMEI



OBIECTIVE ȘTIINȚIFICE CHEIE

Activitatea de cercetare realizată pe parcursul studiilor doctorale a urmărit parcurgerea și îndeplinirea următoarelor **obiective științifice**:

- Realizarea și prezentarea situației actuale privind cercetările și realizările referitoare la materialele biodegradabile folosite pentru ambalaje de unică utilizare, subliniind necesitatea existenței alternativelor.
- Identificarea tipului de plastifiant și a proporției necesare în vederea dezvoltării unui material cu caracteristici fizice, mecanice și optice îmbunătățite.
- Stabilirea biopolimerilor ce vor fi utilizați pentru obținerea noilor filme inteligente de unică utilizare.
- Dezvoltarea unui material comestibil pentru ambalaje de unică utilizare: obținere, testare, caracterizare, beneficii în utilizare, aplicabilitate.
- Crearea de biofilme inteligente cu diferite adaosuri – inulină, roșcove, stevie- în vederea prezentării de alternative la materialele destinate ambalării produselor deshidratate, existente la ora actuală pe piața de profil.
- Stabilirea produselor ce pot fi ambalate în materialele nou dezvoltate, cu posibilitatea obținerii și aplicării imediate în industria de specialitate.

Cuvinte cheie: biofilme, hidrocoloizi, regenerabilitate, agar, amidon, alginat de sodiu

Prezenta teză de doctorat, CERCETĂRI PRIVIND OBȚINEREA UNOR MATERIALE BIOPOLIMERICE PENTRU AMBALAJE INTELIGENTE, cuprinde 8 capitole cu concluzii proprii, un capitol de concluzii generale și perspective viitoare de cercetare, referințe bibliografice, lista de lucrări publicate sau prezentate la manifestări științifice naționale și internaționale, două lucrări publicate și o propunere de invenție, reprezentative pentru tema studiată, 51 de figuri, 32 de tabele și 25 de ecuații.

Primul capitol, *Stadiul actual privind cercetările și realizările referitoare la materialele biodegradabile folosite pentru ambalaje de unică utilizare*, aduce la cunoștința cititorului necesitatea ambalării produselor alimentare și identificarea unor materiale alternative celor sintetice, pe bază de petrol, care să fie complet biodegradabile și compostabile, pentru a evita, pe cât posibil, extinderea poluării mediului înconjurător din cauza ambalajelor de unică utilizare. Sunt prezentate filmele și învelișurile alimentare comestibile, metodele de obținere și domeniile de aplicabilitate, dar și hidrocoloizii ce pot fi utilizați pentru obținerea membranelor.

Cel de **al doilea capitol**, *Materiale și metode*, cuprinde metodele de caracterizare a materialelor nou obținute, precum și echipamentele folosite în acest scop. Se prezintă, de asemenea, modalitatea de obținere a biofilmelor care vor fi testate ulterior pentru evaluarea proprietăților. Astfel, pentru determinarea rezistenței la rupere și a elasticității s-au utilizat microdurimetrul DUH 211S (Shimadzu) și texturometrul Mark 10 ESM 301, dotat cu sisteme de fixare special destinate filmelor și foliilor subțiri, conform STAS ASTM D 882 (6*). Pentru a putea fi folosite la nivel industrial, filmele obținute trebuie să posede o serie de caracteristici. Pe lângă testările mecanice, importantă este și determinarea solubilității filmelor, mai ales că se

dorește utilizarea acestora pentru ambalarea produselor pulverulente ce au nevoie de solubilizare înainte de consum (cafea solubilă, cappuccino, lapte praf, legume și fructe deshidratate etc.). Umiditatea produselor ambalate în materialele supuse testării s-a determinat cu ajutorul metodei de referință STAS 90-88 (7*), iar solubilitatea conform celei descrise de *Puscaselu, R., Amariei, S., (2018)*. S-au evaluat și alți parametri, precum indicii de umflare, conținutul de umiditate al materialului, dar și determinarea indicelui de activitate a apei (a_w), folosindu-se echipamentul AquaLab, testare realizată la temperatura de 22,8°C. Indicii de activitate a apei oferă informații referitoare la stabilitatea produselor atunci când este influențată de conținutul de apă al acestora. Modul în care anumite microorganisme se dezvoltă în produsul alimentar poate fi influențat de reducerea conținutului de apă (deshidratare) sau legarea acesteia în aliment. În general, microorganismele își încetează activitatea la valori ale indicelui de activitate a apei mai mici de 0,7. De-al lungul istoriei, apa a fost deseori înlăturată sau adăugată pentru a modifica valoarea a_w în scopul conservării și păstrării calității produselor alimentare (*Badola, R., et al., 2017*).

Pentru evaluarea rehidratării alimentelor uscate, în special fructe și legume deshidratate, se poate utiliza modelul Peleg. Această metodă oferă informații precise despre conținutul de umiditate și absorbția apei în diferite momente, aspect important pentru caracterizarea hidrofobicității filmelor, precum și a interacțiunii dintre acestea și apă. Există numeroase modele matematice care descriu izoterme de absorbție a apei, dar niciunul nu oferă acuratețe și nu poate fi aplicat pentru întreaga gamă de ambalaje pentru produse alimentare (*Turhan, M., et al., 2002*). Modelarea matematică a procesului de hidratare este importantă pentru proiectarea și optimizarea operațiilor tehnologice de fabricare a produselor alimentare. Modelul Peleg este un model non-exponențial, empiric, cu parametri ce prezintă semnificație practică importantă pentru interpretarea cineticii de hidratare (*Gutium, O., 2014*).

Pentru observarea microstructurii și rugozității filmelor s-au utilizat microscopul cu scanare de electroni VEGA II LMU (Tescan) însoțit de software-ul Alicona, microscopul optic Motic Microscopes (X40) și echipamentul MarSurf CWM 100 (Mahr Company). Pentru stabilirea proprietăților optice, s-au testat culoarea, cu ajutorul colorimetrului CR-400 Konika Minolta, prin sistemul CIEL*a*b* și transmitanța cu spectrofotometrul Ocean-Optics HR 4000, prin 10 citiri la lungime de undă de 660 nm. S-a urmărit și aspectul exterior al membranelor – aderența față de suportul din silicon folosit pentru uscare, finețea, luciul, prezența porilor și a fisurilor ce pot fi observate cu ochiul liber, regularitatea marginilor și uniformitatea peliculelor, gustul și mirosul. Caracterizarea profilului de textură s-a realizat cu ajutorul texturometrului Perten TVT 6700 și soft-ul aferent, TexCalc 5.

Membranele obținute au fost caracterizate și din punct de vedere microbiologic, aspect important atât timp cât acestea sunt destinate consumului uman. În acest scop, atât filmele obținute, cât și ingredientele folosite, au fost testate în vederea stabilirii incidenței bacteriilor coliforme, enterobacteriilor, *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli*, dar și drojdii și mucegaiuri. Pentru determinare, s-au folosit plăci Compact Dry cu medii de cultură specifice. Prezența eventualelor metale grele s-a testat cu spectrometrul de masă cu plasmă cuplată inductiv Agilent Technology 7500.

Capitolul trei, Studiu preliminar în vederea stabilirii proporției optime de plastifiant necesară obținerii unui material de unică utilizare, stabilește, după o serie de testări realizate, cantitatea ideală de plastifiant utilizată pentru dezvoltarea unui material cu calități superioare. În vederea testării, s-au obținut filme din agar și glicerol (după metoda descrisă de *Rhim, J.W., (2015)*) și, conform rezultatelor obținute, cantitatea optimă de plastifiant este de maxim 40% din

totalul ingredientelor utilizate. Acesta determină obținerea unui film subțire, fin, uniform, fără pori sau fisuri (fig. 3.1.)

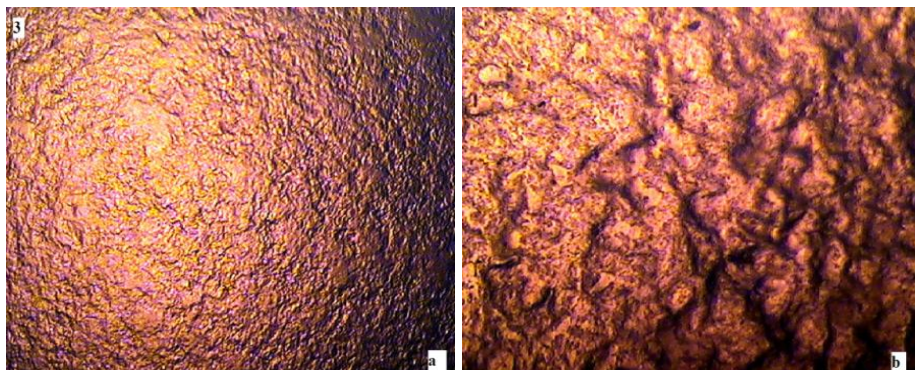


Fig. 3.1. Microstructura filmului obținut din 60% agar și 40% plastifiant (a- varianta uscată, b- varianta umedă)

Plastifiantul adăugat în această proporție în soluția formatoare de film a ajutat la obținerea de filme omogene, transparente, flexibile, incolore, inodore, fără pori sau fisuri. Deși au prezentat solubilitate mai redusă decât cele obținute exclusiv din agar, membranele nu se pot utiliza pentru produse lichide sau cu umiditate ridicată (aspect ce poate fi îmbunătățit prin adaosul de lipide sau alți hidrocoloizi în compoziție). Sunt ideale pentru ambalarea produselor pulverulente, care necesită solubilizare înainte de consum.

În **capitolul patru**, *Studiu preliminar în vederea alegerii biopolimerilor ce vor fi utilizați pentru obținerea materialului de unică utilizare*, o serie de hidrocoloizi – agar, amidon, alginat de sodiu, caragenan și chitosan – sunt utilizați pentru obținerea unor membrane, caracterizate ulterior în vederea stabilirii biopolimerilor ce vor fi utilizați în cercetările viitoare. Proba cu adaos de chitosan în compoziție a necesitat mediu acid, astfel încât pentru obținerea peliculei s-a utilizat acid acetic glacial. Aceasta a fost și proba care a prezentat aderență ridicată față de suportul folosit pentru uscare și autoadezivitate (rezultatele obținute indică posibilitatea utilizării drept folie alimentară autoadezivă). Evaluarea microstructurii indică prezența porilor. Un material ideal, destinat ambalării alimentelor trebuie să fie lipsit de pori sau fisuri. Adaosul de chitosan sau caragenan duce la obținerea unui film neuniform, aspect întâlnit și în cazul amestecului agar-amidon. Se urmărește adăugarea unui alt biopolimer ce ar putea îmbunătăți aceste proprietăți. Astfel, datorită informațiilor descrise în literatura de specialitate, alginatul de sodiu reprezintă un posibil component, mai ales dacă se ține cont și de caracteristicile probei obținută din agar și alginat.

Transmitanța caracterizează capacitatea filmelor de a prezenta proprietăți de barieră împotriva radiației luminoase. Este un parametru important, mai ales atunci când acestea sunt destinate ambalării produselor alimentare, întrucât previne oxidarea lipidică datorată razelor UV. Cea mai ridicată valoare se regăsește la proba obținută integral din agar, iar cea mai redusă - proba cu agar și chitosan în compoziție. Acest comportament al chitosanului se regăsește și în literatura de specialitate (Singh, T.P., et al., 2015; Lopez-Mata, M.A., 2013; Yan, Q., et al., 2012).

Solubilitatea este o caracteristică importantă a unui material folosit pentru ambalare, putând fi apreciată drept capacitatea filmului de a-și păstra integritatea după imersia în lichide (Basiak, E. et al., 2018). Ambalajele comestibile solubile sunt avantajoase pentru acele produse ready-to-eat, întrucât acestea se dizolvă în apă fierbinte sau în cavitatea bucală. Acest aspect

devine unul extrem de important în protejarea ecosistemului, întrucât la final va exista zero-deșeu. Toate filmele supuse determinărilor s-au solubilizat; probele cu agar în compoziție au prezentat valorile cele mai reduse; se pot folosi pentru ambalarea produselor cu umiditate mai ridicată, spre deosebire de probele cu adaos de caragenan și alginat de sodiu, care s-au solubilizat extrem de repede, hidratându-se, de asemenea, foarte mult. Acesta este motivul pentru care caragenanul este un compus intens folosit în industria farmaceutică pentru obținerea drajeurilor și a medicamentelor (Li, L., et al., 2014; Liu, J., et al., 2015; Yegappan, R., et al., 2018).

Rezultatele obținute în urma determinărilor au stat la baza selecției de biopolimeri ce vor fi utilizați ulterior pentru dezvoltarea materialului cu caracteristicile dorite. Din motive de siguranță, s-a renunțat la imersia caragenanului (datorită efectelor negative ce pot apărea în urma consumului ridicat) și a chitosanului (ce are nevoie de mediu acid pentru solubilizare), biopolimerii utilizați fiind agarul, amidonul și alginatul de sodiu. Aceștia nu ridică astfel de probleme și rezultatele obținute au indicat caracterul sinergic al acestora.

Capitolul cinci, Cercetări experimentale în vederea dezvoltării unui material de unică utilizare, obținut din agar-alginat de sodiu-amidon destinat produselor alimentare, prezintă compoziția de obținere a materialului care este testat, caracterizat și îmbunătățit pe parcurs. Din studiile realizate, o combinație de hidrocoloizi de tipul agar-amidon-alginat de sodiu și maxim 40% glicerol cu rol în plastifiere, reprezintă compoziția ideală pentru realizarea unui astfel de ambalaj (Puscaselu, R., Amariei, S., 2016). Pentru studiu s-au realizat 10 tipuri de filme cu conținut diferit, variindu-se cantitatea de biopolimeri și glicerol (volumul de apă distilată a rămas același, respectiv 150 ml).

Toate filmele au prezentat aderență scăzută la suprafața de uscare, au fost îndepărtate cu ușurință de pe suportul de silicon, au fost flexibile și nu s-au rupt, au permis îndoire și au avut aspect plăcut, uniform; nu au prezentat gust sau miros. Culoarea a variat în funcție de ingredientele folosite, astfel că probele cu conținut ridicat de agar în compoziție au fost galbene, de intensitate mai ridicată.

Utilizarea modelului Peleg pentru evaluarea solubilității s-a realizat doar pentru temperaturile de 20, respectiv 40°C; la valori mai ridicate, probele s-au solubilizat complet, recântărirea fiind imposibilă. Valorile constantei k_1 au scăzut odată cu creșterea temperaturii (tabel 5.1), evidențiind faptul că transferul de apă se intensifică la creșterea temperaturii. Aceeași tendință a fost relatată în studii ce au vizat rehidratarea altor produse alimentare (Salimi Hizaji, A., 2010; Pavelkic, V. et al., 2015; Kashiri, et al., 2010; Sadik, J., A., et al., 2013).

Tabel 5.1. Valorile constantelor aferente modelului Peleg

PROBĂ	20°C			40°C		
	$k_1 \times 10^{-3} / \text{min } \%^{-1}$	$k_2 / \%^{-1}$	R^2	$k_1 \times 10^{-3} / \text{min } \%^{-1}$	$k_2 / \%^{-1}$	R^2
P1 -conținut egal de biopolimeri	2,70	78,94	0,997	1,30	77,52	0,998
P2 - conținut ridicat de agar, fără alginat	0,20	80,86	0,999	0,00	83,33	1,000
P3 – conținut ridicat de agar, fără amidon	1,10	44,11	0,973	5,60	48,54	0,998
P4 – conținut ridicat de amidon, fără agar	0,20	80,00	0,999	0,00	81,39	1,000
P5 - conținut ridicat de amidon, fără alginat	1,80	53,43	0,987	0,80	53,76	0,991
P6 – conținut ridicat de alginat, fără amidon	0,20	83,33	0,999	1,50	82,19	0,998
P7 – conținut ridicat de alginat,	solubilizare completa			solubilizare completa		

fără agar						
P8 – conținut ridicat de agar, egal de amidon și alginat	0,20	89,74	0,999	0,00	89,28	1,000
P9 – conținut ridicat de amidon, egal de agar și alginat	0,40	87,72	0,999	0,36	87,21	0,999
P10 – conținut ridicat de alginat, egal de amidon și agar	0,32	88,23	0,999	0,17	89,28	0,999

Notă * Pentru plastifierea probelor 1-7 s-a folosit o cantitate de 1,00 g glicerol, în timp ce pentru probele 8-10 aceasta a fost redusă la jumătate, respectiv 0,50 g.

Situarea valorilor lui R^2 peste 0,99, cu mici excepții (tabel 5.1), confirmă posibilitatea utilizării acestui model pentru a descrie cinetica absorbției apei într-un anumit interval de temperatură.

Pentru evaluarea indicelui de umflare, valorile obținute sunt de interes întrucât evidențiază capacitatea de hidratare a biofilmelor, dar și solubilitatea completă a acestora (fig 5.1).

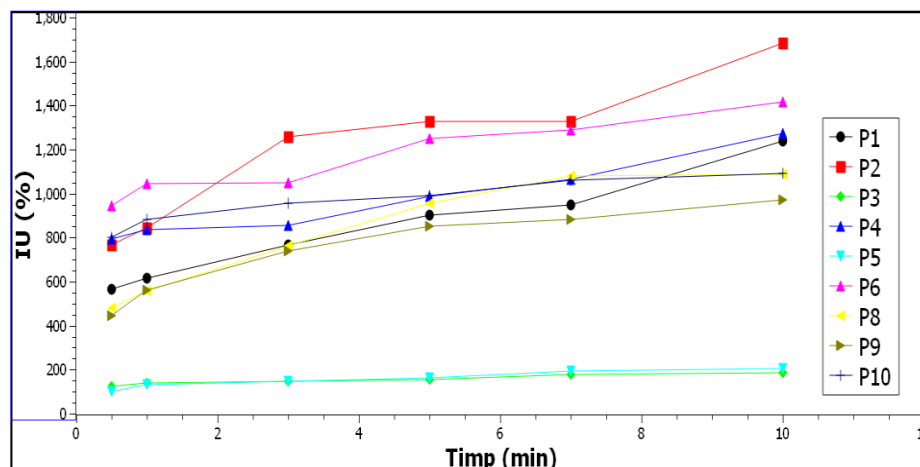


Fig. 5.1. Indicele de umflare al probelor testate

Determinarea indicelui de umflare a filmelor este un parametru important atunci când se dorește utilizarea acestora ca material pentru ambalarea alimentelor, în special a celor cu conținut crescut de umiditate sau care sunt depozitate în medii relativ umede. Proba **P7** (2 g alginat de sodiu și 1 g amidon) nu a putut fi supusă testării întrucât nu a rezistat decât 3 minute în apă distilată cu temperatura de 20°C. Cea mai redusă capacitate de absorbție și umflare se identifică la probele **P3** (2 g agar și 1 g amidon) și **P5** (1 g agar și 2 g amidon), cele cu conținut redus de alginat de sodiu. Se confirmă astfel caracterul puternic hidrofilic al alginatului de sodiu și mai redus al agarului și amidonului.

La evaluarea solubilității în apă, cu excepția probei **P7**, toate filmele și-au păstrat integritatea, deși consistența acestora s-a modificat. Cea mai ridicată solubilitate în apă are filmul **P6** (conținut crescut de alginat de sodiu – 2 g), iar cea mai redusă la proba **P3** (fără adaos de alginat de sodiu). Se poate concluziona că adaosul și creșterea cantității de alginat de sodiu crește solubilitatea în apă, aspect întărit și de comportamentul probei **P7**.

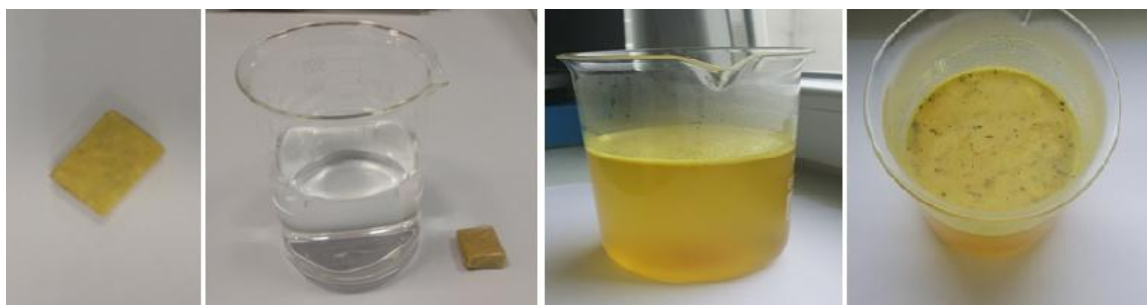


Fig. 5.2. Solubilizarea completă a filmului folosit ca material de ambalare a cubului de legume deshidratate, după 20" menținere la temperatură $> 80^{\circ}\text{C}$

Așa cum se poate observa din datele obținute, filmele cu cantitate ridicată de agar în compoziție au prezentat solubilitate mai redusă.

Tabel 5.2. Evaluarea, în timp, a filmelor destinate alimentelor uscate

PERIOADA	m_{F1}
28.11.2016	10,50
12.06.2017	10,49
Medie	10,48
SD ($\pm$)	0,02

Notă* m_{F1} - film destinat învelirii cuburilor de legume deshidratate

Filmele obținute și-au menținut stabilitatea în timp, așa cum reiese și din datele notate în tabelul 5.3 (variații reduse în masa probelor). Determinarea proprietăților mecanice evidențiază rezistența la rupere a filmului **P7** (12,32 MPa), dar elasticitate medie (11,57 %). Pentru determinarea rezistenței la tracțiune și a elongației s-a folosit echipamentul pentru analizarea texturii (Texture Analyzer ESM 301, Mark-10), iar pentru efectuarea determinărilor experimentale de duritate, microdurimetrul *DUH-211S* Shimadzu. Rezultatele obținute sunt consemnate în tabelul 5.3.

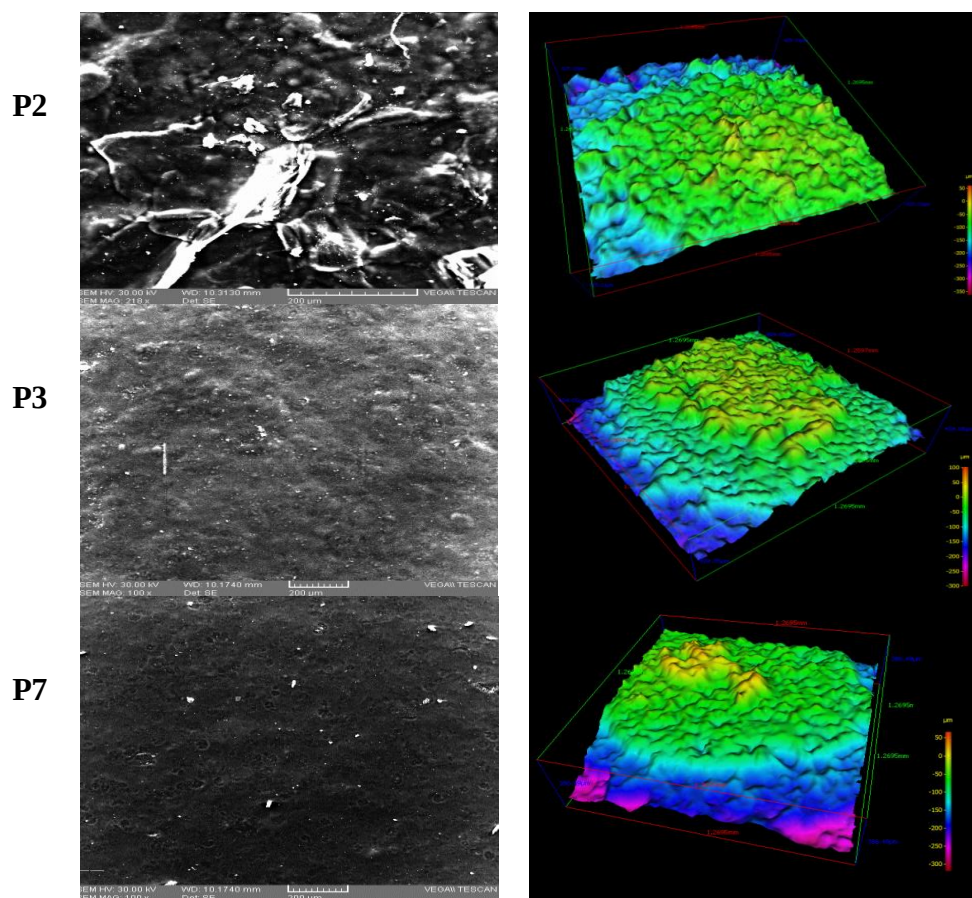
Tabel 5.3. Proprietăți mecanice ale probelor supuse testării

PROBĂ	σ_r [MPa]	ϵ [%]	h_{max} [mm]	HM, [MPa]	E_{IT} , [MPa]	R_z , [μm]
P1	$1,14 \pm 0,008$	$18,26 \pm 0,11$	$3,35 \pm 0,05$	$1,65 \pm 0,03$	$2,22e + 001^*$	$36,46 \pm 0,85$
P2	$0,40 \pm 0,010$	$22,13 \pm 0,40$	$5,34 \pm 0,03$	$0,64 \pm 0,01$	$9,16e + 000^*$	$55,17 \pm 0,94$
P3	$1,81 \pm 0,012$	$38,12 \pm 0,02$	$2,25 \pm 0,01$	$3,77 \pm 0,07$	$1,19e + 002^*$	$40,01 \pm 0,32$
P4	$1,04 \pm 0,010$	$10,26 \pm 0,01$	$4,97 \pm 0,01$	$0,75 \pm 0,01$	$1,07e + 001^*$	$47,09 \pm 0,42$
P5	$1,21 \pm 0,001$	$10,61 \pm 0,01$	$3,44 \pm 0,01$	$1,55 \pm 0,03$	$2,81e + 001^*$	$40,47 \pm 0,17$
P6	$0,60 \pm 0,001$	$13,21 \pm 0,05$	$6,81 \pm 0,07$	$0,38 \pm 0,05$	$5,01e + 000^*$	$46,89 \pm 0,35$
P7	$12,32 \pm 0,010$	$11,57 \pm 0,01$	$1,21 \pm 0,32$	$12,61 \pm 0,01$	$1,74e + 002^*$	$39,19 \pm 0,35$
P8	$13,35 \pm 0,050$	$15,40 \pm 0,30$	$1,07 \pm 0,07$	$16,01 \pm 0,68$	$2,33e + 002^*$	$33,37 \pm 0,74$
P9	$9,10 \pm 0,010$	$6,87 \pm 0,02$	$1,39 \pm 0,02$	$8,94 \pm 0,05$	$1,20e + 002^*$	$44,87 \pm 0,13$
P10	$7,04 \pm 0,010$	$25,81 \pm 0,07$	$1,47 \pm 0,03$	$8,63 \pm 0,01$	$1,22e + 002^*$	$44,90 \pm 0,32$

σ_r – rezistență la rupere, ϵ -elongație, h_{max} – adâncime maximă de pătrundere, **HM**- duritate Martens, E_{IT} - modul de elasticitate de pătrundere, R_z – rugozitate

Ambele metode utilizate demonstrează rezistența net superioară a filmelor **P7** și **P8**, obținute cu cantitate ridicată de alginat de sodiu (60% din cantitatea totală de hidrocoloizi) – 12,32 MPa și 12,61MPa, respectiv 13,35 MPa și 16,01MPa, aspect întâlnit și în literatura de specialitate (Wang & Rhim, 2015; Kafrani-Tavassoli et al., 2016). Aceste probe prezintă valori medii ale grosimii, aproximativ 35,00 μm . Se poate aprecia faptul că un film cu grosime redusă este mai puțin rezistent (**P2**, **P3**). Diferențe apar însă pentru determinarea elasticității unde, testarea realizată cu ajutorul texturometrului indică o valoare mai ridicată a acesteia, spre deosebire de cea realizată cu microdurimetrul. Ambele determinări indică **P7** ca fiind proba cea mai elastică, filmul obținut din 2 g alginat de sodiu și 1 g agar. Dacă luăm în considerare compoziția **P8** (2 g alginat de sodiu și 1 g amidon), putem concluziona că amestecul alginat de sodiu – agar duce la obținerea de filme cu elasticitate mai ridicată, dar și rezistență bună.

Cea mai ridicată valoare a rugozității s-a înregistrat pentru proba cu cantitate ridicată de agar și fără amidon în compoziție (**P2** – 55,17 μm , tabel 5.3). Pentru solubilizarea uniformă a tuturor ingredientelor, se consideră necesară utilizarea unui tip de amidon cu hidrosolubilitate ridicată, precum cel obținut din cartofi (Tomaszewska-Ciosk et al., 2012). Din imaginile obținute (fig. 5.3), probele cu cantitate mai redusă de glicerol au prezentat matrice mai puțin regulată (**P8**, **P9**, **P10**), aspect normal dacă ținem cont de capacitatea plastifiantului de a facilita obținerea unor filme uniforme.



P8

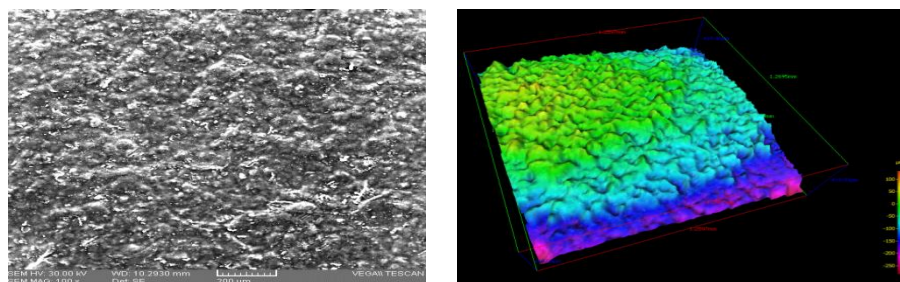


Fig. 5.3. Microstructura filmelor observată cu ajutorul imaginilor SEM

Testate pentru siguranța consumului uman, ambalajele comestibile obținute doar din ingrediente naturale sunt sigure din punct de vedere a compoziției. Determinarea conținutului de metale din compoziție s-a realizat cu ajutorul spectrometriei de masă cu plasmă cuplată inductiv. Rezultatele indicate (sub limita de detecție în cazul metalelor grele)- Hg, Cd, Al, Ca, Co, Ga, Ge, As, Te, Au, Pb, U- indică posibilitatea utilizării acestor materiale fără restricție.

Modelarea statistică a durității filmelor obținute dintr-un amestec de hidrocoloizi funcție de compoziție a generat următorul model matematic:

$$P = 1.65 + 20.12x_1 + 13.82x_2 + 13.96x_3 + 0.95x_1x_2 - 6.04x_1x_3 - 8.60x_1x_4 + 0.68x_2x_3 - 0.76x_2x_4 \quad (1)$$

unde x_1 – masa de agar, x_2 – masa de amidon, x_3 – masa de alginat, x_4 – masa de glicerol, [g].

Testarea adecvanței modelului se realizează aplicând testul Fischer, ce constă în raportarea dispersiei datelor față de modelul de regresie (dispersia adecvanțelor, s_{conc}^2) la dispersia datelor experimentale față de medie (dispersia reproductibilității datelor, s_0^2) (Rangaiah, G.P., et al., 2017).

Rezultatele testării adecvanței modelului sunt prezentate în tabelul 5.4:

Tabel 5.4. Rezultatele testării adecvanței modelului

s_0^2	s_{conc}^2	Nivel de încredere (α)	Gradele de libertate		Valoarea testului Fischer	
			ν_1	ν_2	F_C	F_T
62,01	0,21	0,05	10,00	4,00	0,0034	5,91

Testul Fischer a fost efectuat pentru un nivel de încredere de $\alpha=0,05$ (5%) și gradele de libertate $\nu_1 = 10,00$ și $\nu_2 = 4,00$. Valoarea testului Fischer calculată ($F_c = 0,0034$) a fost comparată cu valoarea testului Fischer tabelată ($F_{T(\nu_1, \nu_2)} = 5,91$). Deoarece $F_c < F_T$, modelul matematic obținut este adecvat și poate fi folosit în procese de optimizare.

Din cercetările teoretice și experimentale întreprinse reiese că duritatea filmelor, caracteristică mecanică importantă în procesarea mecanică ulterioară a formei și dimensiunilor acestora, se poate prezice cu o probabilitate de 95% cu ajutorul modelului matematic stabilit, plecându-se de la concentrațiile componentelor din amestec.

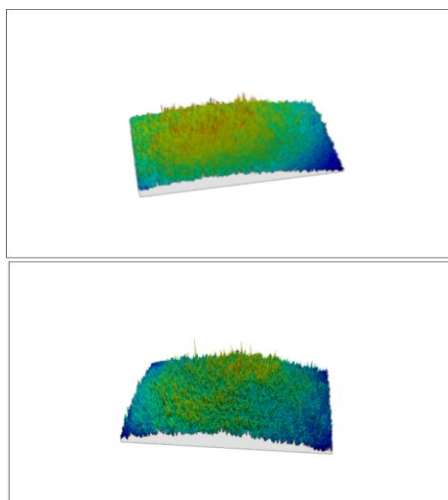
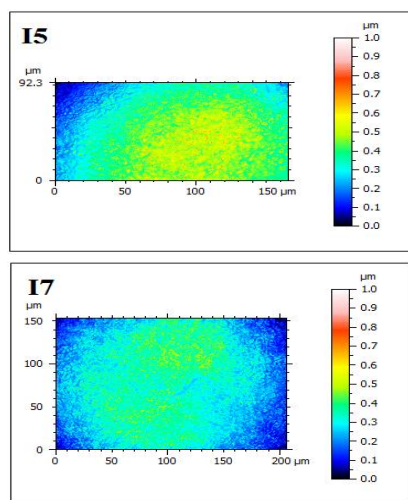
Începând cu **capitolul șase, Cercetări experimentale în vederea dezvoltării unui material comestibil pe bază de biopolimeri, îmbogățit prin adaos de inulină**, s-a urmărit îmbunătățirea caracteristicilor materialelor obținute, prin diverse adaosuri vegetale. Inulina este o fibră naturală care a făcut mereu parte din dieta umană. Poate înlocui carbohidrații și grăsimile, mai ales pentru obținerea de produse mai sănătoase, cu efecte benefice asupra conusmatorilor. Inulina prezintă valoare energetică redusă, efect benefic asupra metabolismului lipidic, constipației, reduce riscul

aparitiei bolilor digestive, facilitează absorbția ionilor de calciu, magneziu și fier, reglează apetitul și stimulează sistemul imunitar (Hala & Soha, 2017). Datorită avantajelor în utilizare, inulina a fost folosită și ca ingredient în obținerea de materiale pentru ambalarea băuturilor instant, alături de hidrocoloizii deja utilizați anterior.

Membranele au fost obținute prin metoda turnării, folosindu-se proporții diferite de biopolimeri, plastifiant și inulină. Soluția astfel obținută a fost menținută sub agitare continuă timp de 30 minute la temperatura de 90°C; apoi a fost turnată, nivelată și menținută la uscat pe o suprafață din silicon, la o temperatură de 23°C pentru aproximativ 48 de ore. Pentru o determinare corectă a comportamentului acestora în timp, probele au fost evaluate timp de trei luni.

Datele obținute după testarea filmelor pentru determinarea transmitanței indică valori mari ale acesteia. Astfel, utilizate pentru ambalarea de produse destinate consumului uman, nu sunt recomandate alimentelor cu un conținut ridicat de grăsimi, de exemplu, pentru că facilitează degradarea acestora. Pentru produsele pulverulente însă, care, pe lângă ambalarea în acest material de unică utilizare, sunt păstrate în cutii din carton, valorile ridicate nu reprezintă un impediment. Pentru produsele bogate în grăsimi, care sunt comercializate individual, foliile necesită îmbunătățiri în vederea creșterii opacității materialului. Acest lucru se poate realiza prin adăugarea de diverse substanțe (pudră de roscove, șofran, caramel, antociani, carotenoide) ce reduc transparența și care se înglobează cu succes în matricea membranelor (Guttierez, T.J., 2018).

Proba **I17** (alginat de sodiu în compoziție, fără agar), considerată optimă pentru utilizarea drept material de ambalare (conform determinărilor realizate) a prezentat rugozitate medie spre deosebire de celelalte pelicule testate (cu excepția **I5** (fără agar) - rugozitate redusă). De remarcat că, rugozitatea probelor cu adaos de alginat de sodiu depășește 200,00 nm, spre deosebire de rugozitatea celor cu adaos de agar, cu valori sub 200,00 nm. Creșterea conținutului de inulină și glicerol duce la creșterea valorilor rugozității (**I18-I20**, probe cu conținut crescut de agar în matrice).



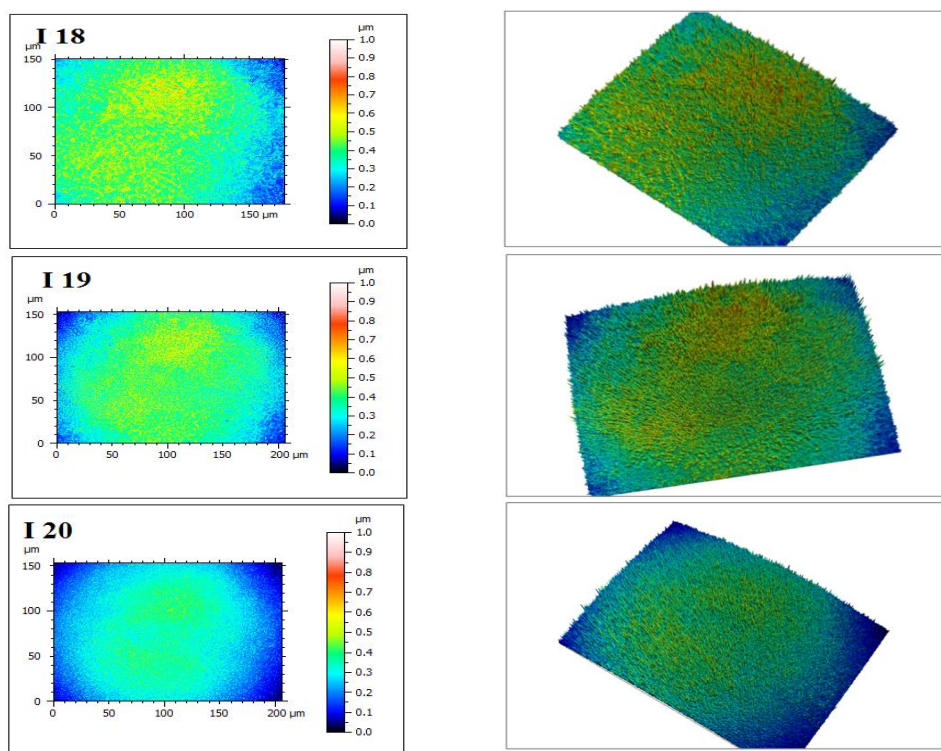
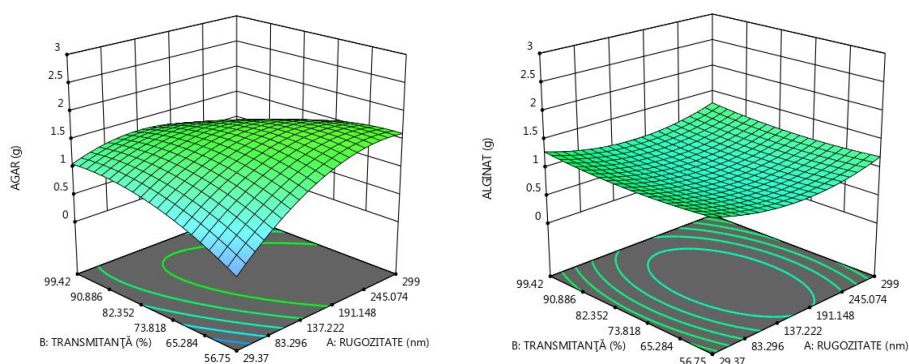


Fig. 6.1. Microstructura biofilmelor observată cu ajutorul microscopului MarSurf CWM 100 (microtopografia materialului testat și topografia 3D a acestuia)

Microstructura membranelor indică pelicule fine, omogene, fără pori sau fisuri evidente, cu suprafață netedă și regulată (fig. 6.1). Lipsa porilor și a fisurilor evidențiază calitatea peliculei, dar și stabilitatea acesteia la transferul de umiditate sau lumină cu mediul.



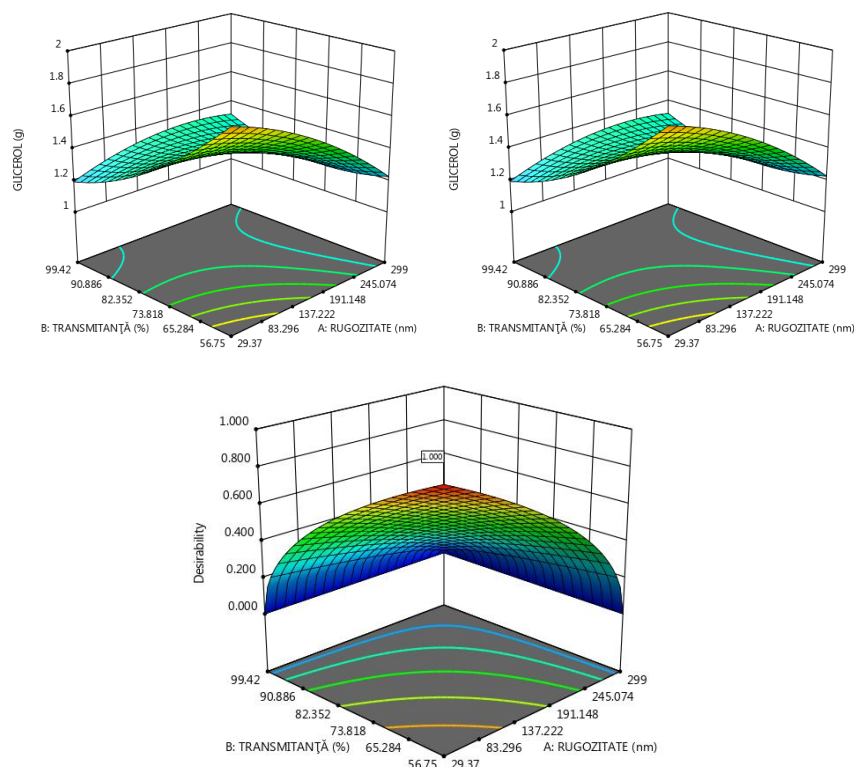


Fig 6.2. Optimizare realizată în vederea obținerii unui film cu calități fizice bune

Pentru optimizare, în vederea dezvoltării unui biofilm ideal, cu rezistență la rupere și elasticitate maxime, iar grosime de 60,00 μm , programul Design Expert 11 utilizat pentru interpretarea statistică a generat soluția 1 din 7, încercându-se stabilirea cantităților de biopolimeri, inulină și glicerol (fig 6.3, 6.4).

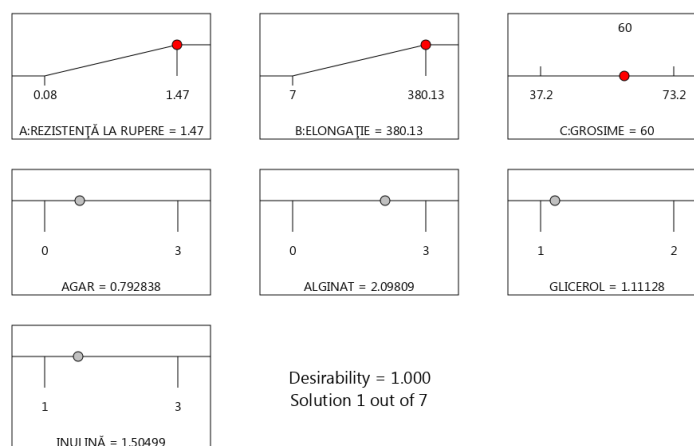


Fig. 6.4. Optimizarea compoziției amestecului în vederea dezvoltării unui material cu proprietăți mecanice superioare și grosime de 60,00 μm

Astfel, conform optimizării, cantitățile necesare pentru realizarea unui material rezistent, elastic și cu grosime medie sunt: agar = 0,792 g, alginat = 2,098 g, glicerol = 1,111 g și inulină = 1,504 g.

În figura 6.5. se observă valorile ridicate ale rezistenței la rupere și alungirii, cu rugozitate minimă, în vederea obținerii unui material cu proprietăți mecanice superioare.

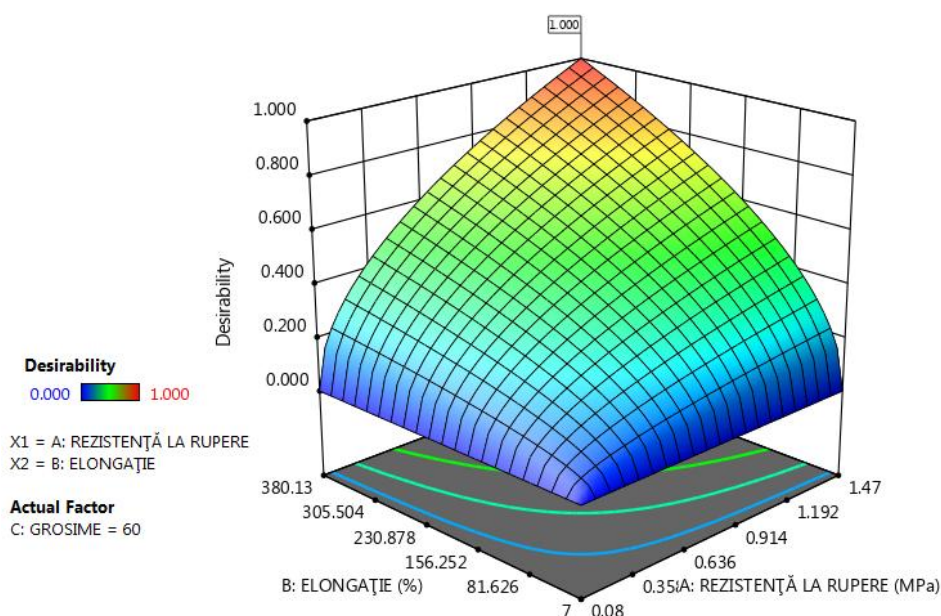


Figura 6.5. Valori ale proprietăților mecanice în vederea obținerii unui material rezistent

Păstrarea în timp a caracteristicilor fizice face ca materialul obținut să se califice cu succes pentru utilizarea în industrie: pe parcursul celor trei luni au existat variații reduse ale grosimii și, implicit, ale raportului de retragere.

Tabel 6.8. Corelație Pearson a parametrilor biofilmelor cu adaos de inulină

Table 10: Correlation matrix of parameters estimated in the studies of Luna										
LUNA 1		G	Rr	σ_r	ε	M	S	L*	a*	b*
	G	1	0.999	0.890	0.675	0.353	0.644	-0.224	-0.145	0.003
	Rr		1	0.780	0.597	0.351	0.646	-0.221	-0.147	0.002
	σ_r			1	0.696	0.434	0.410	-0.547	0.347	0.596
	ε				1	0.192	0.120	0.159	-0.192	-0.267
	M					1	0.567	0.839	-0.611	-0.748
	S						1	0.630	-0.308	-0.464
	L*							1	-0.839	-0.949
	a*								1	0.844
	b*									1
LUNA 2		G	Rr	σ_r	ε	M	S	L*	a*	b*
	G	1	0.999	0.524	0.672	0.590	0.609	-0.381	0,366	0,138
	Rr		1	0.520	0.773	0.570	0.615	-0.388	0,362	0,140
	σ_r			1	0.663	0.070	0.254	-0.172	0,166	0,306
	ε				1	0.475	0.355	0.477	-0,389	-0,501
	M					1	0.106	0.278	0.243	-0.174
	S						1	0,681	-0,598	-0,352
	L*							1	-0,523	-0,794
	a*								1	0,474
	b*									1

	G	Rr	σ_r	ε	M	S	L*	a*	b*
LUNA 3	G	1	0,999	0.808	0.610	0,655	-0,224	0,197	0,090
	Rr		1	0.812	0,020	0,655	0,207	0,207	0,096
	σ_r			1	0,143	0,124	-0,114	0,207	0,097
	ε				1	0,491	0,585	-0,457	-0,571
	M					1	0,221	-0,052	-0,310
	S						1	0,544	-0,433
	L*							1	-0,762
	a*								1
	b*								

G- grosimea materialului testat, [μm], Rr – raport de retragere al materialului testat, σ_r – rezistența la rupere, [MPa], ε – elasticitatea materialului, [%], M – umiditate, [%], S- solubilitate, [%], L* - luminozitatea, a* - scala roșu-verde, b* - scala galben-albastru

Corelația Pearson (tabel 6.8) a parametrilor membranelor cu adaos de inulină nu indică mari modificări pe parcursul întregii perioadei de testare – cele trei luni. Se observă corelații puternic pozitive între grosime și raportul de retragere; corelații pozitive apar și între grosime și rezistența la rupere sau elasticitate. Corelații negative apar între grosime și luminozitate, aspect normal dacă ținem cont că pelicula mai groasă are valori mai reduse ale luminozității și mai ridicate ale parametrului a*. Corelație pozitivă se identifică între umiditate/ solubilitate și grosime.

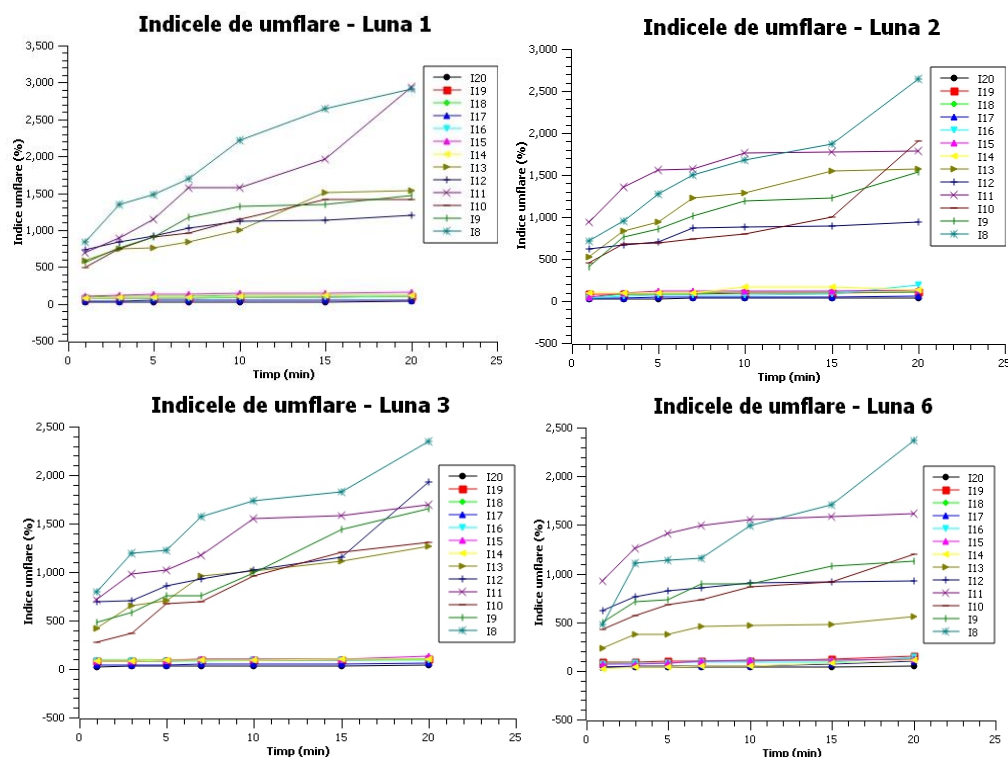


Fig 6.8 Reprezentarea grafică a raportului de umflare pe parcursul celor șase luni de testare

Filmele au prezentat comportament similar pe parcursul perioadei de testare. Chiar și după trecerea celor 24 de săptămâni, proba **I6** a absorbit foarte puțin, chiar și după 20 de minute

de menținere (IU- 48,96 %). Membranele **I14-I120** au manifestat comportament similar, cu valori reduse ale indicelui de umflare. **I8** și **I11** au prezentat cele mai ridicate valori, respectiv 2372,05 % și 1617,64 % (menținere 20 de minute).

Din punct de vedere a incidenței microorganismelor, probele s-au dovedit a fi sigure pentru consum. Nici un microorganism din cele testate (bacterii coliforme, *Escherichia Coli*, *Staphylococcus Aureus*, drojdii și mucegaiuri) nu s-a dezvoltat pe mediile de cultură, analizele fiind realizate pe întreaga perioadă de testare.

Biofilmele obținute pot fi utilizate în industria alimentară și în alte domenii adiacente acesteia, pentru ambalarea produselor care necesită solubilizare/ rehidratare înainte de utilizare. Păstrarea calităților pe parcursul perioadei de testare indică siguranța ambalării produselor în acest tip de material. Adaosul de inulină a îmbunătățit aspectul, proprietățile mecanice (elasticitatea) și a facilitat solubilizarea (în cazul probei **I7** rezistența la rupere nu a putut fi determinată întrucât s-a dovedit a fi mai puternică decât parametrii stabiliți pentru determinare, iar alungirea a prezentat valori extrem de ridicate: inițial peste posibilitatea de evaluare, ca după o lună să atingă o valoare de peste 380,00 %). Datorită solubilității crescute, dar și a rezistenței mecanice a filmului obținut, inulina reprezintă un ingredient valoros pentru obținerea materialelor comestibile, pe bază de biopolimeri, destinate ambalării produselor alimentare.

În funcție de necesitate și utilizare, în industrie se poate controla cantitatea de inulină adăugată astfel încât să rezulte produsul dezirabil.

În **capitolul 7**, *Studiu experimental privind utilizarea biopolimerilor și a făinii de roșcove (Ceratonia Siliqua L.) pentru dezvoltarea unui ambalaj comestibil destinat produselor pulverulente* se face referire la alt compus vegetal integrat în soluția formatoare de film, respectiv făina din pudră de roșcove. Carobul este un îndulcitor natural cu aromă și aspect asemănătoare ciocolatei. Acest lucru este unul foarte important dacă ținem cont că, spre deosebire de ciocolată, carobul este lipsit de cafeină și teobromină (stimulanți), dar și de acid oxalic (sursă potențială de formare a pietrelor la rinichi) (Benkovic, M., et al., 2019).

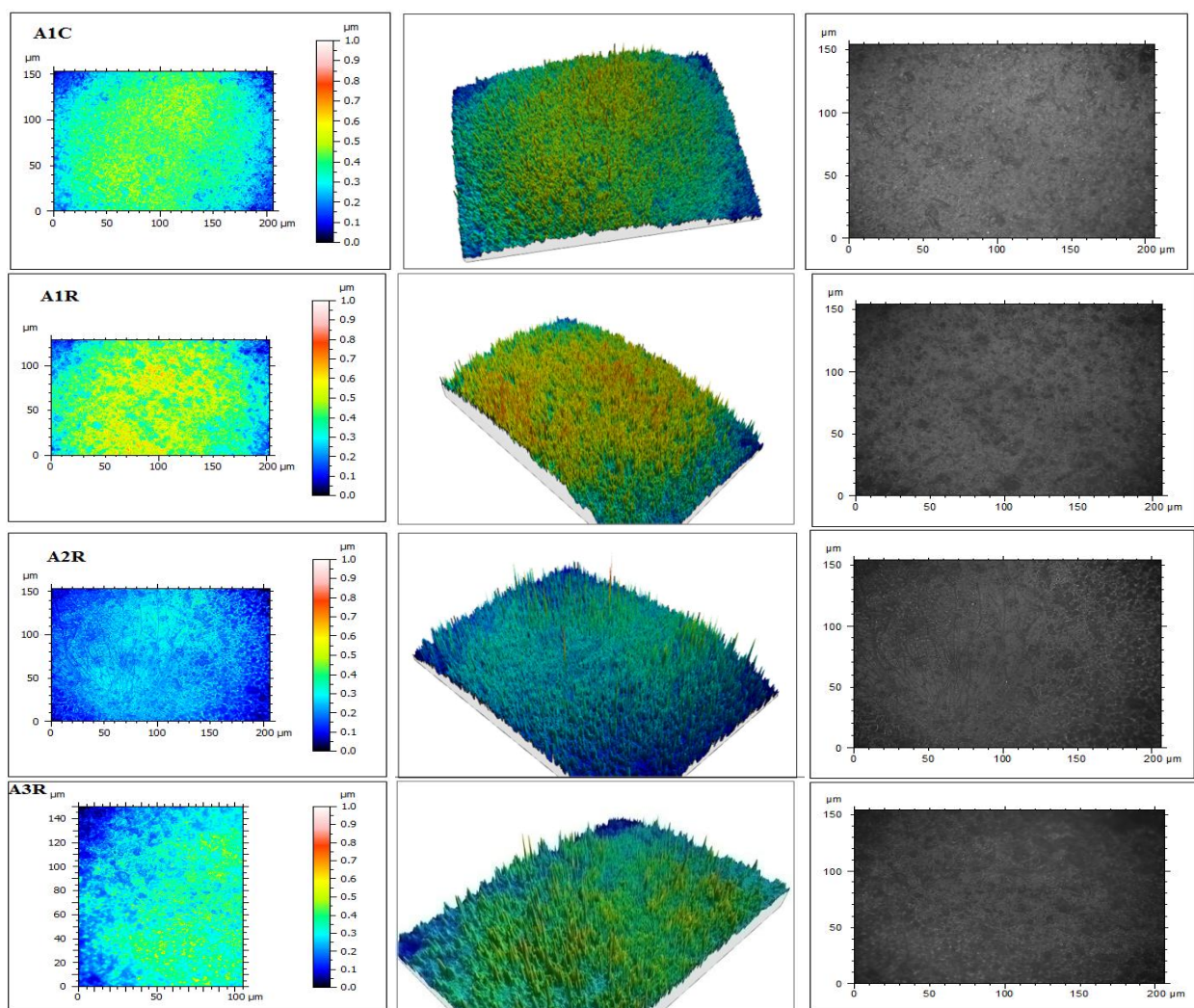
Acest pas al cercetării întreprinse a urmărit conceperea unui ambalaj comestibil obținut integral din biopolimeri, îmbogățit prin adaos de pudră de roșcove, utilizat pentru ambalarea băuturilor instant, atât pentru adulți, cât și pentru copii. Produsele alimentare ce conțin carob mențin sațietatea (importantă pentru reducerea obezității), reduc nivelul de colesterol și incidența bolilor cardiovasculare sau diabetul (Nassar-Abba, S.M., et al., 2015; Milek dos Santos, L., et al., 2015), fiind destinate și persoanelor alergice la cacao (Racolta, F., et al., 2017). Mai mult decât atât, cercetările au evidențiat că adaosul de roșcove duce la extinderea termenului de valabilitate, prezentând activitate antimicrobiană față de *Listeria monocytogenes*; capacitatea sa de a reține apa determină creșterea termenului de valabilitate (poate reține de până la de 3 ori volumul de apă, aspect ce reduce dezvoltarea microorganismelor (Nassar-Abbas, S.M., et al., 2015)). Pe lângă celelalte aspecte, acest tip de ambalaj comestibil încurajează reducerea deșeurilor menajere. Cantitatea de deșeuri trebuie redusă pentru a proteja resursele limitate și pentru a asigura, pe cât posibil, hrana pentru întreaga umanitate (Hanssen, O.J., et al., 2015; Lahimer, M.C., et al., 2017).

Nu în ultimul rând, acesta este un ambalaj atractiv pentru toate categoriile de consumatori, aspect important atât pentru producător/comerciant, cât și pentru consumator (Magnier, L., et al., 2016; van Ooijen, I., et al., 2017).

Toate probele realizate au prezentat aderență scăzută la suprafața de uscare, respectiv folia de silicon. Filmele s-au îndepărtat cu ușurință de pe suport și s-au uscat integral după 48 ore menținere la temperatura camerei (~ 22°C). Filmele cu conținut de 10% pudră de roșcove (**A1R**,

A2R, A3R) în compoziție au prezentat culoare brun deschis, distribuție neuniformă a particulelor de carob, fără pori sau fisuri evidente, miros fin de roșcove și gust specific, ușor amăru. Au fost fine, plăcute la atingere și flexibile. Cu excepția gustului specific, care a dispărut încă din săptămâna a doua, celelalte atribute au rămas neschimbate.

Proba control (**A1C**) nu a prezentat gust sau miros deosebit. Spre deosebire de acestea, filmele **A4R, A5R și A6R**, cu conținut de 20% pudră de roșcove în compoziție, au prezentat culoare brun închis și gust puternic amăru. La fel precum precedentele, se observă distribuția granulelor de roșcove; filmele au fost fine și plăcute la atingere, dar nu atât de flexibile. Proba control (**A2C**) a fost mai rugoasă și mai puțin flexibilă (acest aspect se poate datora adaosului de agar în compoziție, dar și conținutului mai ridicat de amidon și mai scăzut de alginat, spre deosebire de **A1C**). Atât în săptămâna a doua, cât și în cea de a treia, caracteristicile au rămas neschimbate, inclusiv gustul specific amăru. Astfel, putem aprecia că 20% adaos de pudră de roșcove permite păstrarea în timp a proprietăților de gust și miros.



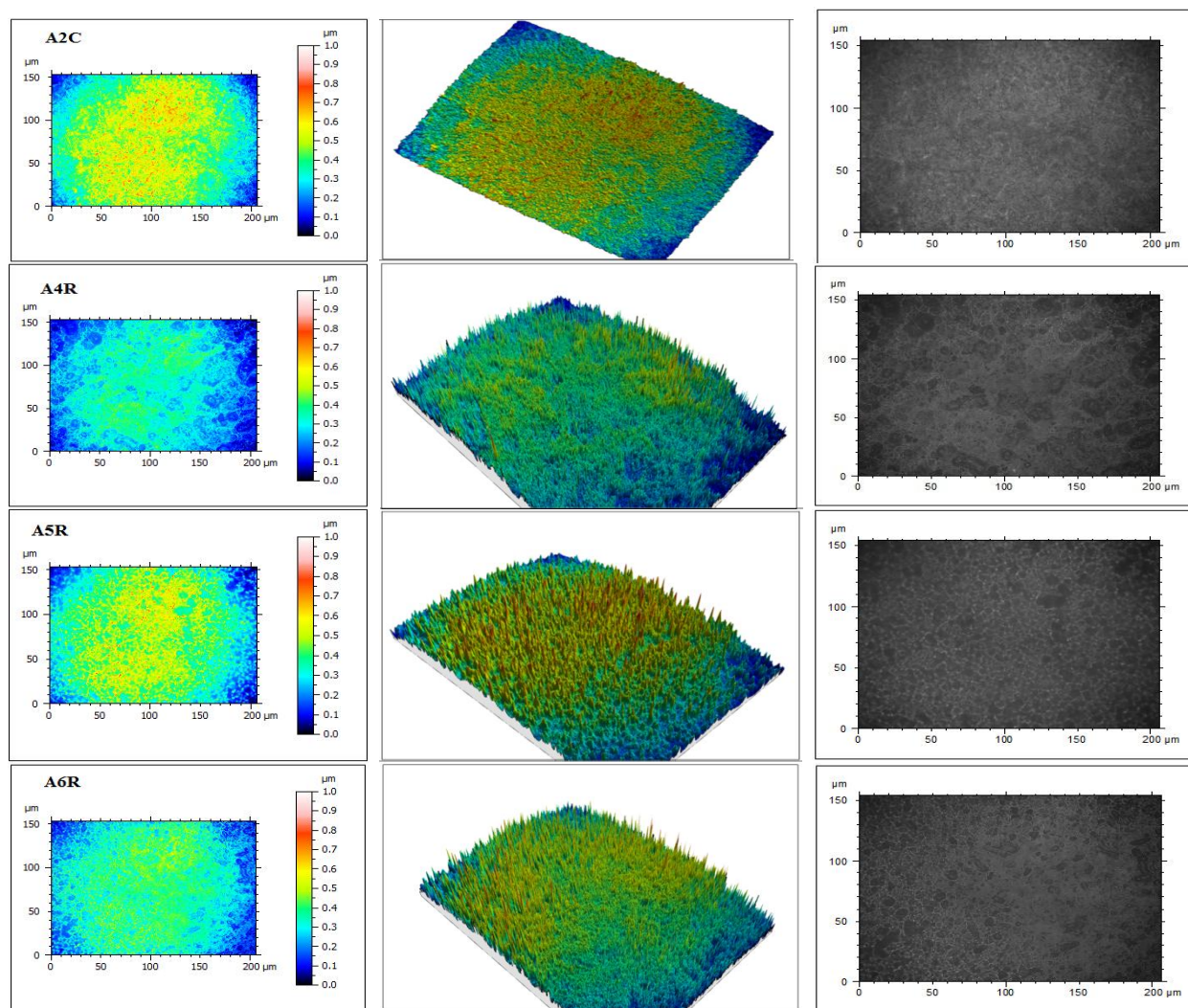


Fig. 7.1. Structura microscopică a materialelor testate
(microtopografia suprafețelor, topografia 3D și reflectivitatea acestora)

Probele **A1R**, **A2R**, **A3R** au prezentat matrice mai uniformă spre deosebire de celelalte filme cu adaos de pudră de roșcove. Cele din urmă, **A4R**, **A5R**, **A6R** au prezentat pori în structură. Proba **A4R** a prezentat cei mai mulți pori, al căror diametru s-a situat între 9,25 nm (adâncime 195,00 nm) și 24,60 nm (adâncime 230,00 nm), cu rugozitate 288,60 nm, **A5R** – pori cu dimensiuni între 8,66 nm (adâncime 84,00 nm) și 20,80 nm (adâncime 104,00 nm) și rugozitate 317,60 nm, iar pe suprafața **A6R** nu s-au observat pori, ci granule de pudră de roșcove nesolubilizate (fig. 7.2); rugozitate 260,20 nm. Proba control **A2C** a prezentat mai mulți pori, dar mai mici și cu adâncime mai redusă (diametrul acestora a fost între 10,20 nm și 11,70 nm, cu adâncimi situate în intervalul 142,00-255,00 nm), rugozitate 337,66 nm. Putem concluziona că adaosul de pudră de roșcove a îmbunătățit structura, dar și faptul că adaosul de agar în compoziția filmului a facilitat apariția porilor. Primele filme (**A1R**, **A2R**, **A3R**), obținute doar din alginat, amidon, glicerol și pudră de roșcove au fost mai uniforme (fig. 7.1); rugozitatea a prezentat valori mai reduse: **A1C** – 279,16 nm, **A1R** – 285,80 nm, **A2R** – 260,33 nm și **A3R** – 212,00 nm. Nici unul din filmele testate nu a prezentat fisuri în structură.

Probele **A2C**, dar și cele cu adaos de 20% făină de roșcove în compoziție și-au menținut și grosimea relativ constantă, spre deosebire de probele cu adaos redus de făină de roșcove și conținut ridicat de alginat de sodiu (fig. 7.2).

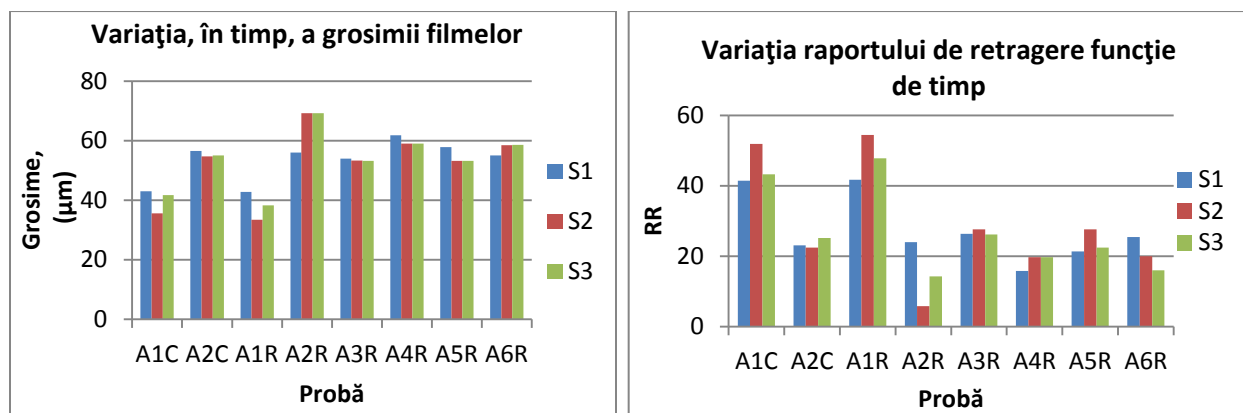


Fig. 7.2. Grosimea și raportul de retragere ale filmelor pe parcursul celor trei săptămâni de testare

Implicit, și raportul de retragere a prezentat același comportament (fig 7.2). Putem deduce că, deși cu aspect mai puțin uniform, filmele cu adaos de agar în compoziție și-au păstrat proprietățile fizice de-a lungul perioadei de testare.

Atunci când se ia în calcul obținerea unei pelicule destinate ambalării produselor pulverulente (cappuccino, cafea solubilă instant, cacao pentru copii) și consumată odată cu acestea, un atribut important îl reprezintă solubilitatea. În apă fierbinte (80°C), toate filmele cu adaos de roșcove s-au solubilizat după menținere timp de 30 secunde (fig. 7.3).

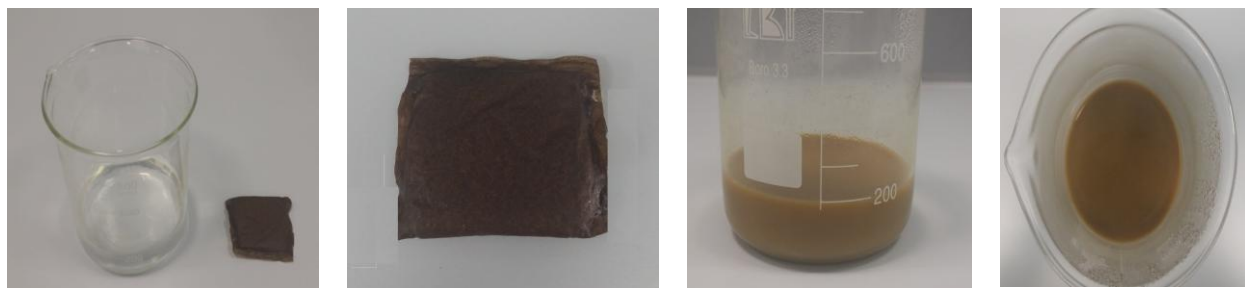


Fig 7.3. Solubilizarea completă a filmului cu adaos de roșcove (**A4R**) după menținere 30" în apă fierbinte (80°C)

Astfel, peliculele pot fi folosite pentru ambalarea băuturilor instant deoarece prepararea acestora necesită apă fierbinte și în acest mod ambalajul devine complet solubil și comestibil odată cu băutura. Spre deosebire de filmele cu alte adaosuri, solubilizarea are loc destul de repede (față de cele cu adădire de sfeclă, solubilizate în apă fierbinte după 40-100 secunde menținere) (Otoni, C.G., et al., 2018).

Adaosul de agar și reducerea cantității de alginat (corelată cu creșterea cantității de amidon din grâu) au influențat elasticitatea și rezistența filmelor pe parcursul celor trei săptămâni.

Determinările microbiologice realizate au evidențiat siguranța utilizării acestor filme drept material de ambalare comestibil. Pe mediile de cultură nu s-au dezvoltat microorganismele supuse testării: bacterii coliforme, enterobacterii, *Escherichia Coli*, *Staphylococcus Aureus*, drojdii și mucegaiuri, astfel că aceste pelicule sunt sigure pentru consum.

Rezultatele obținute indică posibilitatea utilizării pudrei de roșcove și a biopolimerilor pentru dezvoltarea materialelor de ambalare comestibile, complet hidrosolubile. Obținute relativ ușor, cu costuri reduse, aceste materiale reprezintă viitorul ambalajelor destinate produselor alimentare și nu numai. Datorită adaosului de carob, filmele obținute prezintă calități nutriționale net superioare, rezultând, în final, nu doar un material de ambalare complet comestibil, 100% biodegradabil, prietenos cu mediul și ecosistemul, ci mai ales, un produs cu reale beneficii asupra sănătății consumatorului, indiferent dacă acesta este adult sau copil ori dacă reprezintă persoane cu risc (alergice sau suferinde de diverse afecțiuni ce implică dietă personalizată). Filmele obținute își găsesc aplicabilitate atât în industria alimentară, cât și în cea farmaceutică, cosmetică etc.

Studiul efectuat a evidențiat că adaosul de carob în componența filmelor a avut efect pozitiv în matricea acestora, membranele obținute păstrându-și proprietățile fizice și cele mecanice în perioada stabilită pentru testare.

Ultimul capitol ce descrie filme cu adaos este **capitolul opt**, *Cercetări experimentale în vederea dezvoltării unui material complet comestibil, obținut din biopolimeri, îmbogățit prin adaos de stevie (Stevia Rebaudiana)*.

Stevia este un îndulcitor natural folosit în industria alimentară și a băuturilor. Cei mai importanți compuși bioactivi sunt alcaloizii, flavonoidele, taninurile și compușii fenolici, care îmbunătățesc și previn multe afecțiuni (Amchra et al., 2018). Datorită beneficiilor, aceasta reprezintă un înlocuitor al zahărului, cercetarea realizată având ca scop obținerea unor pelicule destinate ambalării băuturilor instant, unde zahărul din conținutul ambalajului poate fi substituit cu stevia din componența acestuia. Astfel că, atunci când consumatorul nu dorește ingerarea, se poate obține un produs fără îndulcitor în componență. De asemenea, pot fi consumate atât de adulți, cât și de copii, vârstnici sau persoane cu destinație specială.

Pentru obținerea de 30 de biofilme din agar, alginat de sodiu și glicerol, adaosul de stevie a fost de maximum 1,25 %.

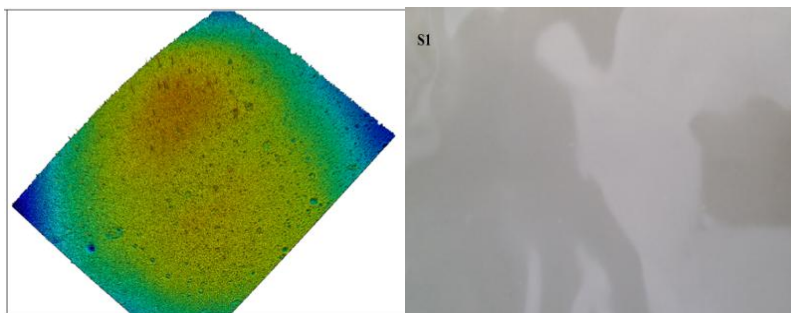
Tabel 8.1. Compoziția peliculelor

PROBĂ	m _{AGAR} , [g]	m _{ALGINAT} , [g]	m _{STEVIE} , [g]	m _{GLICEROL} , [g]	V _{APĂ} , [ml]
S1	2,95	0,00	0,05	1,00	150,00
S2	0,00	2,95	0,05	1,00	
S3	1,00	1,95	0,05	1,00	
S4	1,95	1,00	0,05	1,00	
S5	2,00	0,95	0,05	1,00	
S6	0,95	2,00	0,05	1,00	
S7	0,50	2,45	0,05	1,00	
S8	2,45	0,50	0,05	1,00	
S9	1,25	1,70	0,05	1,00	
S10	1,70	1,25	0,05	1,00	
S11	3,45	0,00	0,05	0,50	
S12	0,00	3,45	0,05	0,50	
S13	1,00	2,45	0,05	0,50	
S14	2,45	1,00	0,05	0,50	
S15	2,00	1,45	0,05	0,50	
S16	1,45	2,00	0,05	0,50	

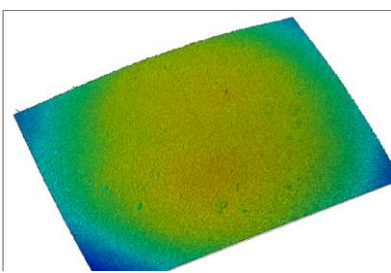
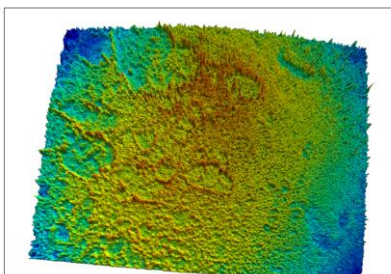
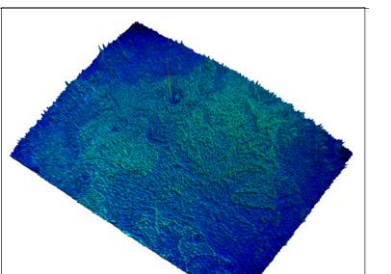
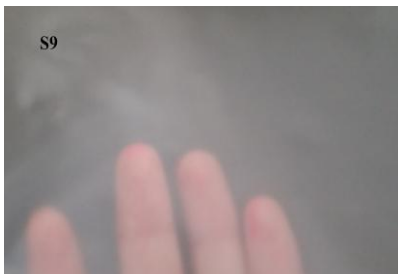
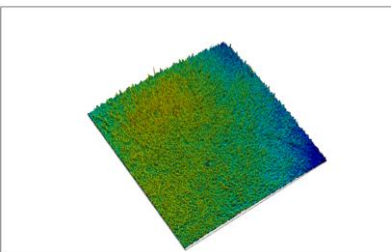
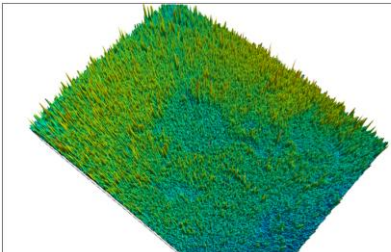
PROBĂ	m _{AGAR} , [g]	m _{ALGINAT} , [g]	m _{STEVIE} , [g]	m _{GLICEROL} , [g]	V _{APĂ} , [m]
S17	1,50	1,95	0,05	0,50	150,00
S18	1,95	1,50	0,05	0,50	
S19	1,25	2,20	0,05	0,50	
S20	2,20	1,25	0,05	0,50	
S21	1,00	2,20	0,05	0,75	
S22	2,20	1,00	0,05	0,75	
S23	1,50	1,70	0,05	0,75	
S24	1,70	1,50	0,05	0,75	
S25	2,00	1,20	0,05	0,75	
S26	1,20	2,00	0,05	0,75	
S27	1,25	1,95	0,05	0,75	
S28	1,95	1,25	0,05	0,75	
S29	1,60	1,60	0,05	0,75	
S30	1,225	1,225	0,05	1,50	

Filmele obținute au fost moi, fine, subțiri, flexibile, fără pori sau fisuri în structură, luciu intens, fără miros deosebit, dar gust dulce, au prezentat aderență scăzută față de suportul din silicon folosit pentru uscare, cu margini regulate și plăcute la atingere (fig. 8.1). Din punct de vedere al caracteristicilor fizice, acestea pot concura cu succes cu un ambalaj convențional. Grosimea a fost redusă, proba **S30**, cu conținut ridicat de glicerol în compoziție (1,50 g) a prezentat o valoare de 37,80 μm . Filmul cel mai gros a fost **S24** (0,75 g glicerol), cu grosimea de 52,00 μm . Raportul de retragere este o determinare importantă atunci când compoziția este folosită la nivel industrial, astfel că rezultatele indică posibilitatea de a controla grosimea finală a membranei (de exemplu, dacă se dorește un film cu componentele și grosimea probei **S1**, iar valoarea raportului de retragere este cunoscută- 35,78 μm în acest caz- atunci producătorul trebuie să toarne soluția formatoare de film și să o niveleze astfel încât aceasta să aibă o grosime inițială de aproximativ 73,15 μm). Luminozitatea și parametrii de culoare au variat extrem de puțin; valoarea minimă a luminozității a fost $L^*-93,02$ pentru **S11**, iar cea maximă 95,84 pentru **S2**; în mod asemănător, valoarea minimă a parametrului a^* a fost -7,34 (**S2**) și cea maximă -6,24 (**S19**), iar pentru b^* , minimul s-a poziționat la valoarea de 18,58 (**S2**), iar maximul la 20,95 (**S16** și **S19**). Variațiile mici se datorează faptului că biopolimerii utilizați, respectiv agar și alginat de sodiu, prezintă culori asemănătoare.

S1



Perfect pentru ambalarea produselor pulverulente, pentru învelirea fructelor și legumelor proaspete, bomboanelor, produselor de patiserie, foliilor destinate industriei farmaceutice.

S2			Poate fi folosit cu succes pentru ambalare produselor din carne, întregi sau porționate, a brânzeturilor, a fructelor și legumelor tăiate sau alte produse cu umiditate ridicată.
S8			Capacitatea redusă de absorbție îl promovează drept un material cu calitate superioară, potrivit ambalării produselor porționate (mezeluri, brânzeturi, fructe sau legume) sau pentru învelirea vegetalelor perisabile (stare proaspătă).
S9			Pentru ambalarea produselor cu un conținut mediu (spre redus) de umiditate sau produse tip pulbere.
S11			Potrivit pentru ambalarea produselor cu conținut mai ridicat de umiditate sau de grăsimi.
S12			Din punct de vedere al solubilității, este cel mai potrivit pentru ambalarea produselor pulverulente.

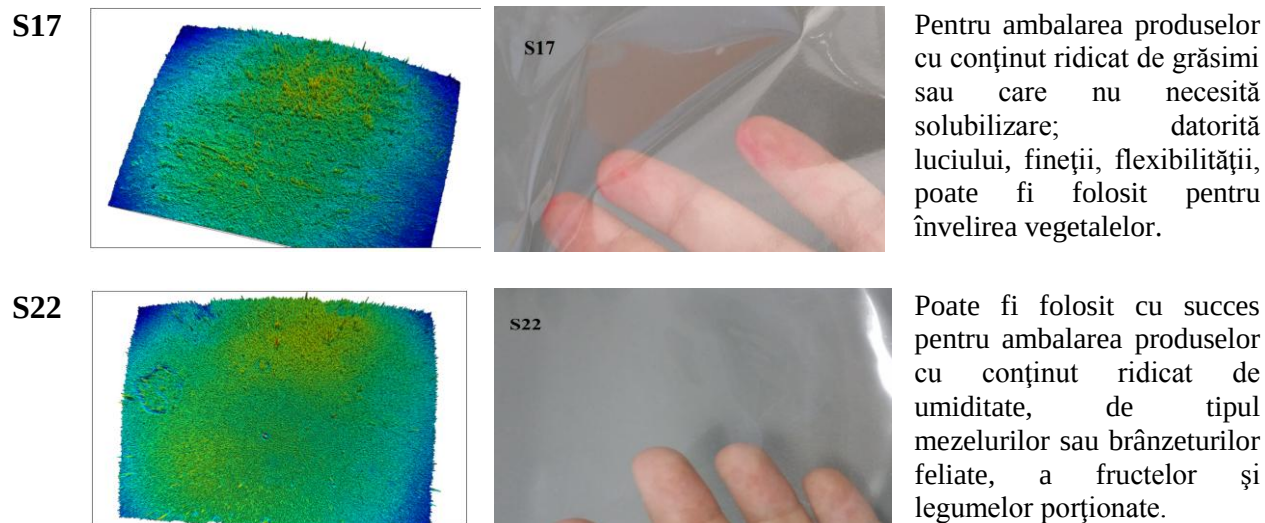
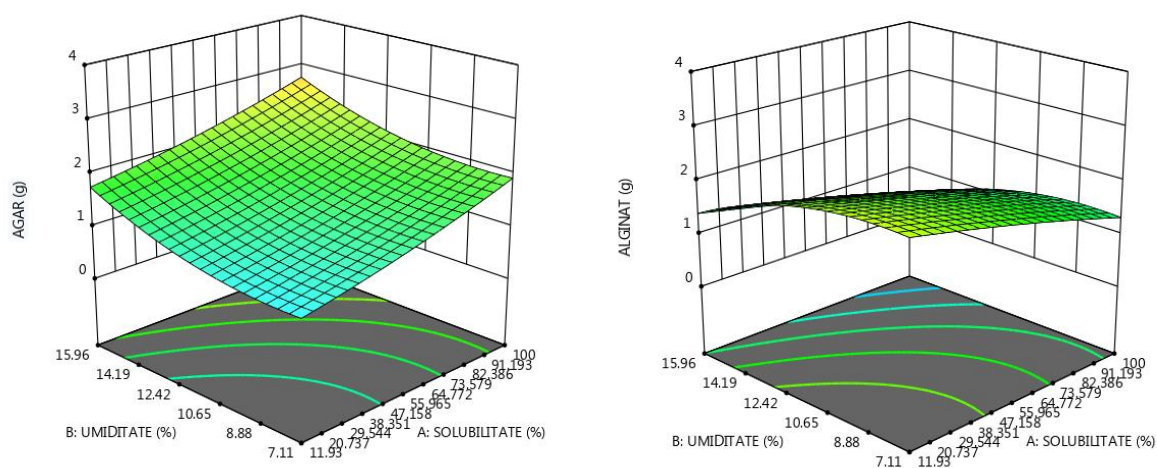


Fig. 8.1.Topografia 3D și imagini ale materialelor testate. Aplicații în industrie

De notat că, deși se observă prezența porilor, aceștia se regăsesc la suprafața membranelor, materialul nefiind perforat în nici unul dintre cazuri (adâncimea maximă este 421,00 nm).



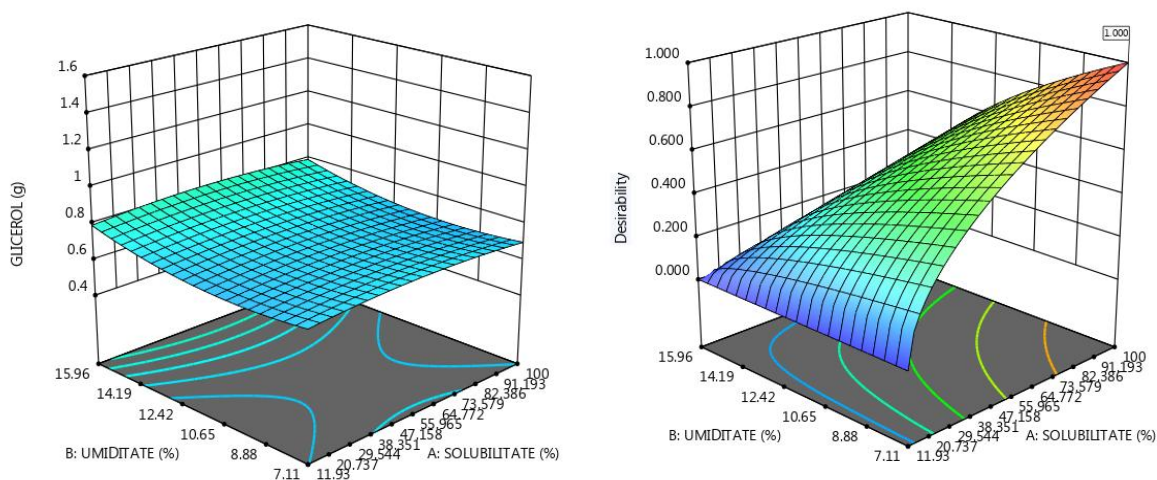


Fig. 8.2. Optimizarea cantităților utilizate pentru crearea unui material complet solubil

Fig 8.3. indică rezultatele obținute în urma optimizării cu ajutorul programului de investigare statistică; de menționat că masa steviei, constantă, este 0,05 g, iar grosimea și raportul de retragere s-au considerat a fi 50,00 μm , respectiv 30,00%.

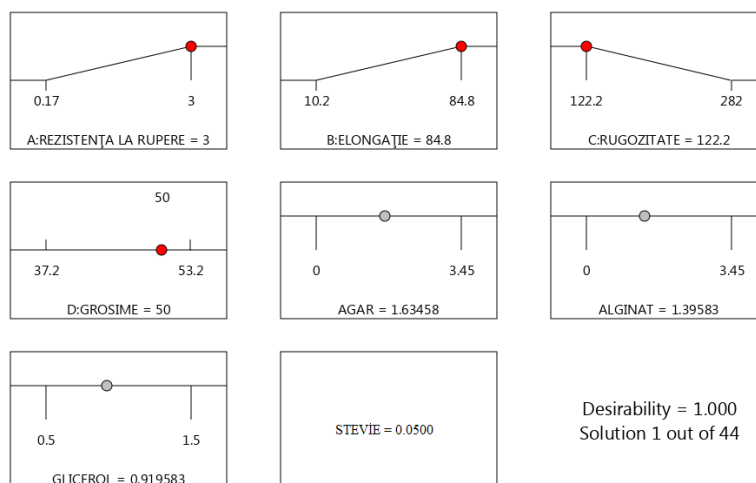


Fig. 8.3. Optimizarea compoziției pentru dezvoltarea unor pelicule cu bune proprietăți mecanice

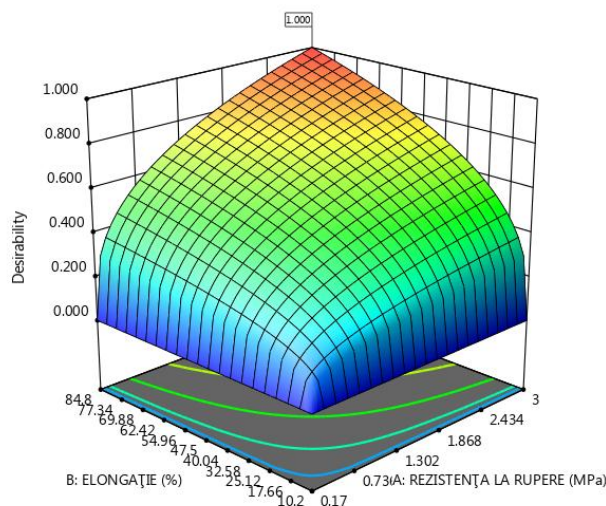


Fig. 8.4. Optimizarea amestecului de biopolimeri în vederea obținerii unui material cu proprietăți mecanice superioare

Optimizarea realizată pentru dezvoltarea unui material cu proprietăți mecanice și fizice superioare – rezistență la rupere: 3,00 MPa, elongație: 84,80 %, rugozitate: 122,20 nm, a indicat utilizarea compoziției prevăzută în fig 8.4, respectiv 1,634 g agar, 1,305 g alginat și 0,919 g glicerol. Se va ține cont că masa steviei nu se modifică (0,05 g).

Tabelul 8.2. indică corelațiile ce se pot stabili între grosime, proprietățile mecanice și profilul de textură a membranelor cu adaos de stevie. Se observă corelații puternic pozitive între grosime, rezistența la rupere și punctul de rupere. Elasticitatea se corelează negativ cu rugozitatea și adezivitatea. Din datele obținute, nu se pot stabili clar conexiuni între grosime și elasticitate. Rugozitatea se corelează negativ cu punctul de rupere - aspect normal.

Tabel 8.2. Corelație Pearson a parametrilor filmelor cu adaos de stevie

	G	σ_r	ε	R_z	PR_{TPA}	A_{TPA}	E_{TPA}
G	1	0.905	0.108	0.351	0.704	-0.041	0.094
σ_r		1	0.343	0.245	0.200	0.121	-0.111
ε			1	-0.764	0.047	-0.191	0.139
R_z				1	-0.155	0.144	0.202
PR_{TPA}					1	0.131	-0.179
A_{TPA}						1	-0.244
E_{TPA}							1

G- grosimea materialului testat, [μm]; σ_r – rezistența la rupere, [MPa]; ε – elasticitatea materialului, [%]; R_z – rugozitatea materialului, [nm]; PR_{TPA} – punct de rupere, conform determinărilor TPA, [g]; A_{TPA} – adezivitate, conform determinărilor TPA, [g*s]; E_{TPA} – elasticitate, conform TPA, [%]

Determinările microbiologice indică siguranța utilizării acestor membrane, rezultatele indicând absența microorganismelor testate - bacterii coliforme, enterobacterii, *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus*, drojdii și mucegaiuri. Atât biofilmele obținute, cât și materia primă sunt sigure pentru consum. Dezvoltarea ulterioară a microorganismelor este puțin probabilă, mai ales datorită faptului că peliculele prezintă valori reduse ale indicelui de activitatea al apei (sub 4), prin urmare, condiții improprie pentru incidența sau dezvoltarea acestora.

Rezultatele obținute indică posibilitatea utilizării steviei ca ingredient în obținerea biofilmelor. Adaosul de stevie a facilitat obținerea unor membrane mai subțiri și mai flexibile, dar și mai lucioase. Totodată, solubilitatea a crescut, aspect dorit în acest caz. Deși adăugată în cantitate redusă, stevia a trecut de la pragul de îndulcitor relativ comun la cel de ingredient important al unor materiale ce pot fi folosite cu succes în industria alimentară și în alte industrii adiacente.

Capitolul nouă, Concluzii generale și contribuții originale, încheie cercetarea doctorală. În cadrul cercetărilor întreprinse pe durata studiilor doctorale am urmărit dezvoltarea unui ambalaj inteligent de unică utilizare, complet comestibil și biodegradabil, obținut integral din biopolimeri și diverse adaosuri. Datorită problemelor de mediu actuale, a imposibilității degradării integrale a ambalajelor plastice, convenționale, sintetice, este imperios necesară identificarea unei alternative pentru ambalarea produselor alimentare. Deși rezistența materialului plastic primează în alegerea lui ca material de ambalare, tocmai această caracteristică îl face extrem de periculos.

În urma elaborării stadiului actual, a parcurgerii documentației și cercetărilor realizate la zi, pe plan mondial, s-au identificat o serie de biopolimeri ce au fost utilizați pentru obținerea de filme și învelișuri comestibile.

Luând în calcul faptul că acestea au fost preponderent folosite pentru învelirea fructelor și legumelor proaspete sau porționate, în scopul menținerii caracteristicilor de calitate și a păstrării sau chiar prelungirii perioadei de valabilitate, s-a urmărit utilizarea acestor biopolimeri, dar și identificarea unora noi ce pot funcționa sinergic, pentru obținerea unui biomaterial și prezintă capacitatea de a îmbunătăți considerabil caracteristicile produsului pe care îl protejează. Mai mult decât atât, odată stabiliți compușii ce vor fi ulterior folosiți, precum și cantitatea optimă de plastifiant, s-au înglobat în matrice și o serie de materiale vegetale – pudră de roșcove, inulină, stevie- cunoscute pentru proprietățile valoroase și care au conferit caracteristici superioare materialului. În mod asemănător se pot utiliza și alți compuși.

În urma obținerii peliculelor și a testării acestora, s-a stabilit dezvoltarea unui material obținut din polizaharide, destinat ambalării produselor pulverulente, de tipul băuturilor instant (capuccino, cafea solubilă, lapte praf, dar și alte tipuri de produse tip pulbere) sau cuburilor concentrate de legume deshidratate, ce necesită solubilizare înainte de consum.

S-au realizat diverse tipuri de pelicule care, conform rezultatelor obținute, pot înlocui cu succes ambalajele convenționale, sintetice. Pentru a identifica stabilitatea acestora în timp, determinările s-au reluat după 24 de săptămâni de la obținere. În tot acest timp s-a urmărit crearea unui mediu asemănător condițiilor de păstrare precum cele de la raft. Pe lângă beneficiile reale pe care le prezintă utilizarea unui astfel de material, acesta poate fi îmbogățit prin diverse adaosuri de substanțe, în funcție de rezultatul final scontat.

Toate materialele obținute s-au solubilizat rapid în apă cu temperatura de peste 80°C și după aproximativ 1 minut de la imersia în apă cu temperatura de 20-23°C.

Adaosul de inulină, pudră de roșcove sau stevie a îmbunătățit în totalitate filmele obținute: acestea au fost mai fine, moi, lucioase, flexibile, rezistente și elastice. Pe lângă aceste proprietăți, în industrie, se poate controla cu ușurință grosimea și dimensiunile finale ale materialului prin stabilirea raportului de retragere.

Siguranța utilizării și a consumului acestui material a fost demonstrată și prin testele microbiologice realizate pe parcursul perioadei de testare (din momentul 0 → 24 de săptămâni), când nu au fost identificate microorganisme pe suprafața peliculelor sau pe materia primă utilizată pentru obținerea acestora. Probele au fost testate în vederea stabilirii numărului total de

germeni, *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli*, bacteriilor coliforme, dar și drojdiilor sau mucegaiurilor. Valorile reduse ale activității apei (0,32-0,39), constante în timp, așa cum se poate observa din determinările realizate, contribuie la împiedicarea dezvoltării microorganismelor.

Testate cu ajutorul spectrometrului de masă cu plasmă cuplată inductiv pentru identificarea potențialelor metale grele, materialul și biopolimerii folosiți prezintă siguranță pentru consum, conținutul acestora regăsindu-se sub limita de detecție.

Costurile reduse și rapiditatea obținerii, ușurința dezvoltării, posibilitatea aplicării în viața de zi cu zi promovează utilizarea acestor pelicule și transpunerea lor la scară industrială.

În urma optimizării parametrilor de performanță, s-au oferit compoziții exacte pentru obținerea de materiale de ambalare inteligente, cu diverse caracteristici: proprietăți fizice și mecanice superioare, solubilitate ridicată, stabilitate dimensională, microstructură compactă și omogenă.

Perspectivile viitoare de cercetare implică dezvoltarea de noi materiale pe bază de biopolimeri, precum și înglobarea altor adaosuri în vederea îmbunătățirii continue - coloranți sau aromatizanți naturali, plante medicinale, uleiuri esențiale, vegetale cu puternic caracter antioxidant etc. De asemenea, se pot identifica și alte substanțe cu rol în plastifierea filmelor. În mod similar, aceste materiale pot fi folosite în industria medicală, farmaceutică sau cosmetică, pentru înglobarea de medicamente sau alte tipuri de adaosuri specifice acestor zone de interes.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

Abdullah, D., et al., (2019). Fabrication and characterization of sweet potato starch based bioplastics plasticized with glycerol. *Journal of Biological Sciences*, 19(1): 57-64; doi:10.3923/jbs.2019.57.64;

Agrillo, B., et al., (2019). Functionalized polymeric materials with bio-derived antimicrobial peptides for 'active' packaging. *International Journal of Molecular Science*, 20(601):1-13; doi:10.3390/ijms20030601;

Alboofetileh, M et al., (2014). Antimicrobial activity of alginate/clay nanocomposite films enriched with essential oils against three common foodborne pathogens. *Food Control*, 36(1), 1-7;

Altare, L., Chiralt, A., (2016). Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in food Science and Technology*, 48: 51-62; <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.001>;

Alvez, V., et al., (2018). Preparation and characterization of a chitosan film with grape seed extract – carvacrol microcapsules and its effect on the shelf-life on the refrigerated Salmon (*Salmo salar*). *LWT-Food Science and Technology*, 89:525-534; <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.013>;

Amariei, S., Gutt, G., Norocel, L., (2018). Apparatus for automatic determination of permeability of membranes to aqueous liquids, RO 132943 (A2) – 2018-11-29;

Amariei, S., Gutt, G., Norocel, L., Puscaselu, R., (2018). Apparatus for automatically determining membrane permeability to heated liquids, RO132944 (A2) – 2018-11-29;

Amchra, F. et al., (2018). Effect of *Stevia rebaudiana*, sucrose and aspartame on human health: A comprehensive review. *Journal of Medical Plants Studies*, 6(1): 102-108;

Aydin, S., & Ozdemir, Y., (2017). Development and characterization of carob flour based functional spread for increasing use as nutritious snack for children. *Journal of Food Quality*, article ID 5028150, <https://doi.org/10.1155/2017/5028150>;

Badola, R., et al., (2017). Effect of selected humectants as water activity modifiers on the quality of the *khoa* system. *Indian Journal of Dairy Science*, 70(2):145-154;

Balthazar, C.F. et al., (2017). The addition of inulin and *Lactobacillus casei* 01 in sheep milk ice cream. *Food Chemistry*, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.002>;

Basiak, E., et al., (2018). How glycerol and water contents affect the structural and functional properties of starch-based edible films. *Polymers*, 10(412):1-18; doi:10.3390/polym10040412;

Basumatari, K., et al., (2018). *Lagerstoemia speciosa* fruit – mediated synthesis of silver nanoparticles and its application as filler in agar based nanocomposite films for antimicrobial food packaging. *Food Packaging and Shelf life*, 17: 99-106; <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.06.003>;

Benkovic, M., et al., (2019). Influence of carob flour and carob bean gum on rheological properties of cocoa and carob pastry fillings. *Foods*, 8(66):1-17; doi:10.3390/foods8020066;

Bickel, P., Doksum, K.,. (2016) Mathematical statistics. Basic ideas and selected topics. Volume II, Taylor and Francis Group LLC, p. 265-297;

Bilal, H., et al., (2019). Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings. A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109: 1095-1107; <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.097>;

- Blazquez, I.O., et al., (2018). Bacterial inactivation by using plastic materials activated with combinations of natural antimicrobials. *Coatings*, 8(460): 1-7; doi:10.3390/coatings8120460;
- Borges, J.A. et al., (2015). Influence of different starch sources and plasticizers on properties of biodegradable films. *Int. Food Research Journal* 22(6): 2346-2351;
- Cagri, A, Ustunol, Z, Ryser, E., (2004). Antimicrobial films and coatings. Review. *Journal of Food Protection*, 67(4)833-848;
- Carvalho, A., (2008). Starch: major sources, properties and applications as thermoplastic materials. *Monomers, polymers and renewable resources* : 321-241;
- Cha, D.S., Chinnan, M., (2004). Biopolymer – Based Antimicrobial Packaging: a Review. *Critical Reviews in food Science and nutrition* 44 (4): 223-237;
- Chen, Y., et al., (2018). Superhydrophobic coating on gelatin-based films: fabrication, characterization and cytotoxicity studies. *Royal Society of Chemistry*, 8: 23712-23719; DOI: 10.1039/C8RA04066D;
- Chiabrando, V., Giacalone, G., (2015). Effects of alginate edible coating on quality and antioxidant properties in sweet cherry during postharvest storage. *Ital. J. Food Sci.*, 27; 173-180;
- Ciesla, K., Salmieri, S., Lacroix, M., (2006) *J. Sci. Food Agric.* 86 :908-914;
- Contreras-Medellin, R., Labuza, T.P., (1981). Prediction of moisture protection requirements for foods. *Cereal Food World*, 26 (7), 335;
- Costa, M.J., et al., (2018). Use of edible films and coatings in cheese preservation: Opportunities and changes. A review. *Food Research International*, 107: 84-92; <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.013>;
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J.A., Voilely, A., (1998). Edible films and coatings; Tomorrow's packaging: a review. *Critical Reviews in Food Science*, 38 (4): 299-313;
- Dehghani, S., Hosseini, V., Regenstein, J., (2018). Edible films and coatings in seafood preservation: A review. *Food Chemistry*, 240: 505-513; <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.034> ;
- Dias, A., et al., (2010). Biodegradable films based on rice starch and rice flour. *Journal of Cereal Science* 51: 213-219;
- Eca, K., Sartori, T., (2014). Films and edible coatings containing antioxidants – a review. *Brazilian Journal of Food Technology* 17 (2): 98-112;
- El-Fawal, G., (2014). Preparation, characterization and antibacterial activity of biodegradable films prepared from carrageenan. *J. Food Sci. Technol.*, 51 (9), 2234-2239;
- Elsabee, MZ, Abdou, ES., (2013). Chitosan based edible films and coatings: A review. *Material Science Engineering*, C 33: 1819 – 1841. doi: 10.1016/j.msec.2013.01.010;
- Falco, I., et al., (2019). On the use of carrageenan matrices for the development of antiviral edible coatings of interest in berries. *Food Hydrocolloids*, 92: 74-85; <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.039>;
- Farhan, A., Fani, M., (2017). Characterization of edible packaging films based on semi-refined kappa-carrageenan plasticized with glycerol and sorbitol. *Food Hydrocolloids*, 64:48-58; <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.034>;
- Fata Moradali, M., et al., (2017). Alginate Biosynthesis and biotechnological production. *Chemistry and Material Science*, 11; https://doi.org/10.1007/978-981-10-6910-9_1;
- Flores Zamuido, P.B., et al., (2015). Effect of storage time on the physicochemical and textural properties of sausages covered with oxidized banana starch film with and without

betalains. CyTA- Journal of Food, 13(3):456-463; <https://doi.org/10.1080/19476337.2014.998713>;

Freile – Pelegrin, Y. et al., (2007). Degradation of agar films in a humid tropical climate: Thermal, mechanical, morphological and structural changes. *Polymer Degradation and Stability* 92: 244-252;

Galgano, F. et al., (2015). Biodegradable packaging and edible coating for fresh-cut fruits and vegetables. *Ital. J. Food Science*, vol . 27;

Gimenez, B. et al., (2013). Release of active compounds from agar and agar-gelatin films with green tea extract. *Food Hydrocolloids* 30: 264-271;

Gutium, O., (2014). Hidratare a boabelor de năut după modelul Peleg. *Papers of the Sibiu Alma Mater University Conference, Eight Edition*, 2:120-124;

Gutt, G., Palade, D., Gutt, S., Klein, F., Schmitt-Thomas, K., (2000). Încercarea și caracterizarea materialelor metalice. Editura Tehnică, București;

Gutierrez, T.J., (2018). Active and intelligent films made from starchy sources/blackberry pulp. *Journal of polymers and the environment*, 26(6):2374-239; <https://doi.org/10.1007/s10924-017-1134-y>;

Hala, S.S., Soha, R.K., (2017). Effect of chicory inulin extract as a fat replacer on texture and sensory properties of cookies. *Middle East Journal of Applied Science*, 07 (01): 168-177;

Hanssen, O.J., et al., (2015). Environmental profile, packaging intensity and food waste generation for three types of dinner meals. *Journal of Cleaner Production*: 1-8, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.12.012>;

Hossain, MF. et al., (2017). Cultivation and uses of Stevia: a Review. *Afr.J.Food Agr. Nutr Dev*, 17(4): 12745-12757;

Hox, J., Moerbeek, M., Van de Schoot, R. (2017) Multilevel analysis. *Techniques and Applications*. Third Edition. Routledge, ISBN 9781138121362, p 11-39;

Jimenez, A. et al., (2012). Effect of recrystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids. *Food Hydrocolloids* 26(1): 302-310;

Jingjing, L., Xiudan, Z., Jianbo, W., Yitao, W., Chunming, W., (2015). Review for carrageenan-based pharmaceutical biomaterials: Favourable physical features versus adverse biological effects. *Carbohydrate Polymers*, 121, 27-36;

Ju, J., et al., (2018). Application of edible coating with essential oils in food preservation. *Critical reviews in food science and nutrition*. DOI: 10.1080/10408398.2018.1456402;

Jumaidin, R., et al., (2018). Effect of agar on dynamic mechanical properties of thermoplastic sugar palm starch: thermal behavior. *Journal of Advanced Research in Fluid Mechanics and Thermal Sciences*, 47(1):89-96;

Kanmani, P., Rhim, J.W., (2014). Antimicrobial and physical-mechanical properties of agar-based films incorporated with grapefruit seed extract. *Carbohydrate Polymers* 102: 708-715;

Karana, E., (2012). Characterisation of ‘natural’ and ‘high-quality’ materials to improve perception of bio-plastics. *Journal of Cleaner Production* 37: 316-325;

Kashiri, M., Kashaninejad, M., Aghajani, N., (2010). Modelling water absorption of sorghum during soaking. *Latin American Applied Research* 40: 383-388,

Kester, J., Fennema, O., (1986). Edible films and coatings: a review. *Food Technological*.48, 47;

Khorshidian, N., et al., (2018). Potential application of essential oils as antimicrobial preservatives in cheese. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 45:62-72; <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2017.09.020>;

Khwaldia, K. et al., (2004). Milk Proteins for Edible Films and Coatings. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44 (4): 239-251;

Kilincceker, O., (2011). The behavior of some Vegetable – Based Materials Used as Edible Coating on chicken nuggets. *Food Technology Biotechnology* 49 (2): 237-243;

Kumar, P., et al., (2010) Preparation and characterization of bio-nanocomposite films based on soy protein isolate and montmorillonite using melt extrusion. *Journal of Food Engineering*, 100:480-489; doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.04.035;

Kumar, S., et al., (2018). Biodegradable hybrid nanocomposites of chitosan/gelatin and silver nanoparticles for active food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 16:178-184; <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.03.008>;

Lahimer, M.C., et al., (2017). Characterization of plastic packaging additives: Food contact, stability and toxicity. *Arabian Journal of Chemistry*, 10: S1938-S1954; <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.07.022>;

Li, L. et al., 2014. Carrageenan and its application in drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 103: 1-11; DOI:10.1016/j.carbpol.2013.12.008;

Liu, J. et al., 2015. Review for carrageenan- based pharmaceutical biomaterials: Favourable physical features versus adverse biological effects. *Carbohydrate Polymers*, 121: 27-36; doi: 10.1016/j.carbpol.2014.11.06;

Lopez de Lacey, A., Lopez-Caballero, M., Montero, P., (2014). Agar films containing green tea extract and probiotic bacteria for extending fish shelf-life. *LWT* 55: 559-564;

Lopez-Mata, M.A., et al., 2013. Physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with carvacrol. *Molecules*, 18: 13735-13753; <https://doi.org/10.3390/molecules181113735>;

Magnier, L., Schoormans, J., & Mugge, R., (2016). Judging a product by its cover: Packaging sustainability and perceptions of quality in food products. *Food Quality and Preference*, 53: 132-142, <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2016.06.006>;

Mahtout, R., et al., (2016). Carob (*Ceratonia siliqua* L.) supplementation affects kefir quality and antioxidant capacity during storage. *International Journal of Engineering and Techniques*, 2 (2): 168-177;

Maizura, M, Fazilah, A, Norziah, MH, Karim, AA., (2007) Antibacterial activity and mechanical properties of partially hydrolized sago starch – alginate edible film containing lemongrass oil. *Journal of Food Science*, 72 (6): C324-C330. doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00427.x;

Malhotra, B., et al., (2015). Antimicrobial food packaging: potential and pitfalls. *Frontiers in Microbiology*, 6:1-9; <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00611>;

Mali, S. et al., (2006). Effects of controlled storage on thermal, mechanical and barrier properties of plasticized films from different starch sources. *Journal of Food Engineering* 75 (4): 453-460;

Marquez, G.R., et al., (2017). Fresh-cut fruit and vegetable coating by transglutaminase-crosslink whey protein/pectin edible films. *LWT-Food Science and Technology*, 75:124-130; <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.017> 0023-6438;

Martynenko, A., Janaszek, M., (2014). Texture changes during drying of apple slices. *Drying Technology*, 32:567-577;

McKim, J., et al., (2018). Clarifying the confusion between poligeenan, degraded carrageenan, and carrageenan: A review on the chemistry, nomenclature, and in vivo toxicology by the oral route. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-20; <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1481822>;

Mei Li, J., & Ping Nie., S., (2015). The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods. *Food Hydrocolloids*, 53: 46-61; DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.01.035;

Milek dos Santos, L., et al., (2015). Glycemic response to carob (*Ceratonia siliqua* L.) in healthy subjects and with the in vitro hydrolysis index. *Nutricion Hospitalaria*, 31(1): 482-487; DOI:10.3305/nh.2015.31.1.8011;

Moore, C.J., Moore, S.L., Leecarter, M.K., Weisberg, S.B., (2001). A comparasion of Plastic and Plankton in the North Pacific Central Gyre. *Marine Pollution Bulletin* 42:12, pg. 1927-1300;

Moran, E.T., (2018). Starch: granule, amylase-amylpectin, feed preparation, and recovery by the Fowl's gastrointestinal tract. *Journal of Applied Poultry Research*, 1-21; <https://doi.org/10.3382/japr/pfy046>;

Muchorski, D., (2006). Tensile properties of paper and paperboard (using constant rate of elongation apparatus. Revision of T494 om-01.

Mujtaba, M., et al., (2019). Current advancements in chitosan-based films production for food technology; a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121:889-904; <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.109>;

Mukaka, M.M., (2012). A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Medical Journal*, 24(3):69-71;

Nasar-Abbas, S.M., et al., (2015). Carob kibble: A bioactive rich food ingredient. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15: 63-72;

Noor, M., (2018). Pottential of carrageenans in food and medical applications. *Global Health Management Journal*, 2(2): 32-36;

Obermiller, D., (2000). Multiple Response Optimization using JMP. The Dow Chemical Company, Midland, MI;

Ogur, S., Erkan, N., (2015). The physicochemical properties of edible protein films. *Italian Journal of Food Science*, 27, 1-11;

Oladzadabbasadabi, N., et al., (2017). Functional properties of dually modified sago starch/carrageenan films: An alternative to gelatin in pharmaceutical capsules. *Carbohydrate Polymers*, 160:43-51; <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.12.042>;

Olivas, G. I., Barbosa-Canovas, G. V., (2005). Edible Coatings for Fresh-Cut Fruits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45: 657-670;

Otoni, C.G. et al., (2017). Recent advances on edible films based on fruits and vegetables – A Review. *Comprehesive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16: 1151- 1169.

Ozturk, B., Serdaroglu, M., (2016). A rising star prebiotic dietary fiber: inulin and recent applications in meat products. *Journal of food and health science*, 3(1): 12-20, doi: 10.3153/JFHS17002;

Padgett, T., Han, I., Dawson, P., (2000). Effect of lauric acid addition on the antimicrobial efficacy and water vapour permeability of corn zein films containing nisin. *J. Food Proc. Preservatives* 24: 423-432;

Paula, G.A. et al., (2015). Development and characterization af edible films from mixtures of k-carageenan, ι-carrageenan, and alginate. *Food Hydrocolloids* 47, 140-145;

Pavelkic, V. et al., (2015). Application of Peleg model on mass transfer kinetics during osmotic dehydration of pear cubes in sucrose solution. *Chem. Ind. Chem. Eng. Q* 21(4):485-492, doi 10.2298/CICEQ141014004P;

Pelaes Vital, A., C., et al., (2016). Effect of edible and active coating (with rosemary and oregano essential oils) on beef characteristics and consumer acceptability. *PLoS ONE*, 11(8):1-15; DOI:10.1371/journal.pone.0160535;

Peleg, M., (1988). An empirical model for the description of moisture sorption curves. *Journal of Food Science* 53(4): 1217-1219;

Pereda, M., Aranguren, M., Marcovich, N., (2008) *J. Appl. Polym. Sci.* 107:1080-1090;

Phan The, D., Debeaufort, F., Luu, D., & Voilley, A. (2008). Moisture barrier, wetting and mechanical properties of shellac/agar or shellac/cassava starch bilayer bio-membrane for food applications. *Journal of Membrane Science*, 325: 277-283; DOI: 10.1016/j.memsci.2008.07.052;

Purcărea, I., "Marketing", (2000). Editura Expert, București;

Puscaselu, R., Amariei, S., (2016). Biodegradable and edible materials for food packaging. *Annals of the University of Craiova*, XXI (LVII):365-370;

Puscaselu, R., Amariei, S., (2016). The influence of the plasticizer on the quality of edible agar-based films. *Proceedings of International Conference Modern Technologies in the Food Industry*, ISBN 978-9975-87-138-9; pg. 76-81;

Puscaselu, R., Amariei, S., (2017). The antibacterial properties of seaweed biopolymer based films incorporated with essential oils. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 23(3):157-163;

Puscaselu, R., Amariei, S., (2018). Application Of Biopolymers in Designing Completely Soluble Materials For Food Product Packaging. *Journal of Applied Packaging Research*, 10(1):98-106;

Puscaselu, R., Amariei, S., (2019). New trends in food packaging technology: biopolymers based films enriched with *Stevia Rebaudiana*, *Food and Environment Safety*, XVIII(1):5-12;

Qui, X.A., Zhong, M., (2019). Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects on low-molecular –weight carrageenans in rats. *Open Life Sciences*, 13(1):379-384; <https://doi.org/10.1515/biol-2018-0046>;

Racolta, E., et al., (2014). Characterization of confectionary spreadable creams based on roasted sunflower kernels and cocoa and carob powder. *Food Science and Technology*, 71(1): 62-67;

Rangaiah, G.P. et al. (2017) *Advances in Process Systems Engineering*. Vol 5. Multi-objective optimization. *World Scientific*, p. 29-54;

Rhim, J.W. (2013) Mechanical and water barrier properties of multicomponent (agar/carrageenan/konjac) hydrogel films. *Dept of food Engineering*, Mokpo National University, Korea; 112-116;

Rhim, J.W., Lee, S.B., Hong, S.I., (2011). Preparation and characterization of agar/clay nanocomposite films: the effect of clay type. *Journal of Food Science*, 76(3):40-48;

Rhim, JW, Park, HM, Ha, CS (2013). Bio-nanocomposites for food packaging applications. *Progress Polymer Science*, 38:1629-1652. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2013.05.008;

Rivero, S., Garcia, M., Pinotti, A., (2009). *J. Food Eng.* 90 :531-539;

- Rocca-Smith, J., et al., (2016). Effect of lipid incorporation on functional properties of wheat gluten based edible films. *Journal of Cereal Science*, 69:275-282; <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.04.001>;
- Rojas-Grau, MA, Avena-Bustillos, RJ, Olsen, C, Friedman, M, Henika, PR, Martin-Belloso, O, Pan, Z, McHugh, TH., (2007). Effects of plant essential oils and oil compound on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. *Journal of Food Engineering*, 81: 634-641. doi: 10.1021/jf061717u;
- Ruiz-Navajas, Y, Viuda-Martos, M, Sendra, E, Perez-Alvarez, JA, Fernandez-Lopez, J., (2013). In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* and *Thymus piperella* essential oils. *Food Control*, 30:386-392;
- Rybikina, S.P., et al., (2012). Biodegradable packaging materials based on polysaccharides (starch). *Plasticheskie Massy* 2: 61-64;
- Sadik, J.A., Demelash, B., Gizaw, M., (2013). Hydration kinetics of teff grain. *Agric. Eng. Int.* 15(1): 124-130;
- Salimi Hizaji, A., Maghsoudlou, Y., Jafari, S.M., (2010). Application of Peleg model to study effect of water temperature and storage time to rehydration kinetics of air dried potato cubes. *Latin American Applied Research* 40: 131-136
- Sanjay Mdhavan, Dr. Abirami, (2015). A review on Hydrocolloids – Agar and Alginate. *Intern. Journal of Pharm. Sci. & Res.*, 7(9), 704-707;
- Sartori, T., et al., (2018). Properties of films produced from blends of pectin and gluten. *Food Packaging and Shelf Life*, 18:221-229: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.11.007>;
- Sedayu, B. et al., (2018). Characterization of semi-refined carrageenan-based film for primary food packaging purposes. *Journal of Polymers and Environment*, 26(9):3754-3761; <https://doi.org/10.1007/s10924-018-1255-y>;
- Shen, L., Haufe, J., Patel, M.K., (2009). Product overview and market projection of emerging biobased plastics (PROBIP 2009). Utrecht University, Report no. NWS-E-2009-32;
- Siah, W.M., Aminah, A., Ishak, A. (2015). Edible films from seaweed (*Kappaphycus alvarezii*). *International Food Research Journal* 22(6): 2230-2236;
- Silva, S., Goodfellow, B., Benesch, J., Rocha, J., Mano, L., Reis, R., (2007) *Carbohydrates Polymers*. 70: 25-31;
- Sing, T.P. et al., 2015. Development of chitosan based edible films: process optimization using response surface methodology. *J. Food Science Technol*, 52(5): 2530-2543; <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1318-6>;
- Smaranda, A.S., (2014). Analiza tehnologiei industriale a materialelor plastice composite din resurse regenerabile. Teză de doctorat. Editura Politehnică, Timișoara.
- Sousa, A.M.M. et al., (2015). Alternative plasticizers for the production of thermo-compressed agar films. *Int. J. of Biological Macromolecules* 76: 138-145;
- Sousa, M., Goncalves, M., (2015). Strategies to improve the mechanical strength and water resistance of agar films for food packaging applications. *Carbohydrate Polymers* 132: 196-204;
- Suciu, V., Suciu, M.V., (2008). Studiul materialelor. Editura Fair Partners, București;
- Tavassoli-Kafrani et al., (2016). Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. *Carbohydrate Polymers* 37, 360-374;
- Telow, I.J., (2018). Starch biosynthesis in crop plants. *Agronomy*, 8(81): 1-4; doi:10.3390/agronomy8060081;

Tesfaye, T., et al., (2018). Preparation, characterization and application of keratin based green biofilms from waste chicken feathers. *International Journal of Chemical Science*, 16(3):1-16; DOI: 10.21767/0972-768X.1000281;

Tobacman, J.K., (2001). Review of harmful gastrointestinal effects of carrageenan in animal experiments. *Environmental Health Perspectives*, 109, 983-994;

Tomaszewska-Ciosk, E. et al., (2012). Selected Properties of Single- and Double-Extruded Potato Starch. *Pol. J. Food Nutr. Sci*, 62(3): 171-177, doi:10.2478/v10222-011-0034-4;

Tulavi, V.Y., Londhe, G.K., Sankpal, S.,S., (2018). Effect of addition of inulin of chemical, organoleptic, microbiological and rheological properties of burfi. *International Journal of Chemical Studies*, 6(4): 2335-2339;

Turhan, M., Sayar, S., Gunasekaran, S., (2002). Application of Peleg model to study water absorption in chickpea during soaking. *Journal of Food Engineering* 53: 153-159, [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00152-2](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00152-2);

van Ooijen, I., et al., (2017). Packaging design as an implicit communicator: Effects on product quality inferences in the presence of explicit quality cues. *Food Quality and Preference*, 62: 71-79; <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2017.06.007>;

Vișan, A., Ionescu, N. (2004) Toleranțe – Bazele proiectării și prescrierii preciziei produselor. Editura Politehnică din București, Capitolul 5;

Wang, H., Quian, J., Ding, F., (2018). Emerging chitosan-based films for food packaging applications. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 66: 395-413; 10.1021/acs.jafc.7b04528;

Wang, L.F., Rhim, J.W., (2015). Preparation and application of agar/collagen ternary blend functional food packaging films. *International Journal of Biological Macromolecules* 80: 460-468;

Wei, P.J., Lin, J., (2004). A new method developed to evaluate both the hardness and elastic modulus of a coating–substrate system. Department of Mechanical Engineering, National Cheng Kung University, p.701;

Yan, Q. et al., 2012. Effect of extrusion and glycerol content on properties on oxidized and acetylated corn starch-based films. *Carbohydrate Polymers*, 87: 707-712; <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.08.048>;

Yao, Y., et al., (2019). Preparation and characterization of homogenous and enhanced casein protein-base composite films via incorporating cellulose microgel. *Scientific Reports*, 9, 1221; <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37848-1>;

Yegappan, R., et al., (2018). Carrageenan based hydrogel for drug delivery, tissue engineering and wound healing. *Carbohydrate Polymers*, 198:385-400; <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.086>;

Zhang, S., et al., (2019). Hierarchical structure and thermal property of starch based nanocomposites with different amylase/amylopectin ratio. *Polymers*, 11(342): 1-11; doi:10.3390/polym11020342;

(1*) http://www.en-standard.eu/csn-en-13432-packaging-requirements-for-packaging-recoverable-through-composting-and-biodegradation-test-scheme-and-evaluation-criteria-for-the-final-acceptance-of-packaging/?gclid=CPCzILjcnMsCFVQ_Gwod-yULdQ;â;

(2*) https://www.afm.ro/main/legislatie_taxe_si_contributii/2017/legea_211_2011.pdf;

(3*) https://static.anaf.ro/static/10/Anaf/legislatie/L_249_2015.pdf;

(4*) <https://lege5.ro/Gratuit/gi4dsmbxgqyq/ordonanta-de-urgenta-nr-74-2018-pentru-modificarea-si-completarea-legii-nr-211-2011-privind-regimul-deseurilor-a-legii-nr-249-2015-privind-modalitatea-de-gestionare-a-ambalajelor-si-a-deseurilor-de-ambalare>;

(5*) ISO 527:200 - <https://www.zwickroell.com/en/plastics/thermoplastic-and-thermosetting-molding-materials/tensile-test-iso-527-astm-d638>;

(6*) STAS ASTM D882 -Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting.

(7*) Gelatin Leaf Burst Strength by Puncture, Perten Instruments Method Description TVT Method 71-04.02;

(8*) STAS 90-88 - <https://www.scribd.com/document/382931015/Determinarea-Umiditatii-Fainii-2>;

(9*) SR ISO 16150:2004 - <https://www.asro.ro/lista-standarde-calitatea-apei/>.