

UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS” DIN GALAȚI  
ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE FUNDAMENTALE ȘI INGINEREȘTI



# TEZĂ DE DOCTORAT

## REZUMAT

**Dezvoltarea unor soluții de ambalare,  
biodegradabile, cu rol bioactiv, pentru produsele  
alimentare**

Doctorand,  
Ing. Andreea (DOROFTE) LANCIU

Coordonator științific,  
Prof. univ. dr. ing. habil. Daniela BORDA

Seria I 7: Ingineria produselor alimentare nr. 25  
GALAȚI  
2024





# TEZĂ DE DOCTORAT

## Dezvoltarea unor soluții de ambalare, biodegradabile, cu rol bioactiv, pentru produsele alimentare

(Rezumatul tezei de doctorat)

Doctorand,  
Ing. Andreea LANCIU (DOROFTE)

Președinte,

**Prof. univ. dr. ing. Gabriela RÂPEANU**  
Universitatea „Dunărea de Jos”, Galați

Conducător științific,

**Prof. univ. dr. ing. habil. Daniela BORDA**  
Universitatea „Dunărea de Jos”, Galați

Referenți științifici,

**Prof. univ. dr. ing. Mona Elena POPA**  
USAMV București, Facultatea de Biotehnologii

**Cerc. șt. gr. I dr. ing. Denisa Eglantina DUȚĂ**  
Institutul Național de Cercetare- Dezvoltare pentru Bioresurse  
Alimentare – IBA, București

**Prof. univ. dr. ing. Violeta NOUR**  
Universitatea din Craiova, Facultatea de Horticultură

Seriile tezelor de doctorat susținute public în UDJG începând cu 1 octombrie 2013 sunt:

**Domeniul ȘTIINȚE INGINEREȘTI**

Seria I 1: **Biotehnologii**

Seria I 2: **Calculatoare și tehnologia informației**

Seria I 3: **Inginerie electrică**

Seria I 4: **Inginerie industrială**

Seria I 5: **Ingineria materialelor**

Seria I 6: **Inginerie mecanică**

Seria I 7: **Ingineria produselor alimentare**

Seria I 8: **Ingineria sistemelor**

Seria I 9: **Inginerie și management în agricultură și dezvoltare rurală**

**Domeniul ȘTIINȚE SOCIALE**

Seria E 1: **Economie**

Seria E 2: **Management**

Seria E 3: **Marketing**

Seria SSEF: **Știința sportului și a educației fizice**

**Domeniul ȘTIINȚE UMANISTE ȘI ARTE**

Seria U 1: **Filologie- Engleză**

Seria U 2: **Filologie- Română**

Seria U 3: **Istorie**

Seria U 4: **Filologie-Franceză**

**Domeniul MATEMATICĂ ȘI ȘTIINȚE ALE NATURII**

Seria C: **Chimie**

**Domeniul ȘTIINȚE BIOLOGICE ȘI BIOMEDICALE**

Seria M: **Medicină**

Seria F: **Farmacie**

## Cuprins

	Pag. teză	Pag. rezumat
Introducere .....	1	1
<i>Introduction</i> .....	6	-
Listă de notații și abrevieri .....	10	-
<b>I. Studiu documentar</b> .....	<b>11</b>	<b>5</b>
<b>1. Filme și acoperiri cu pelicule aplicate alimentelor: abordări moderne privind ambalarea alimentelor</b> .....	<b>12</b>	<b>5</b>
1.1. Introducere .....	12	5
1.2. Definirea filmelor și acoperirilor cu pelicule .....	12	-
1.3. Aplicabilitatea filmelor și acoperirilor cu pelicule .....	12	-
1.4. Compuși utilizați pentru funcționalizarea biologică a filmelor .....	15	-
1.4.1. Compuși antimicrobieni .....	16	-
1.4.2. Compuși antioxidanți .....	16	-
1.4.3. Compuși cu activitate antimicrobiană și antioxidantă .....	17	-
1.5. Aspecte teoretice privind integrarea compușilor activi în filme (probiotice, argint, uleiuri esențiale) .....	18	-
1.6. Uleiul esențial de cimbru .....	22	-
1.7. Reglementări legislative și limitări în utilizarea uleiurilor esențiale .....	22	-
<b>2. Încapsularea uleiului esențial</b> .....	<b>23</b>	<b>-</b>
2.1. Introducere .....	23	-
2.2. Îmbunătățirea funcțională a filmelor .....	24	-
2.3. Metode și tehnici de microîncapsulare a uleiurilor esențiale .....	25	-
2.4. Materiale încapsulante .....	25	-
2.5. Încapsularea uleiului esențial în ciclodextrine .....	26	-
<b>3. Tehnici noi pentru obținerea filmelor și materialelor biocompozite</b> .....	<b>28</b>	<b>-</b>
3.1. Introducere .....	28	-
3.2. Nanomateriale .....	28	-
3.3. Procesul de electrofilare .....	30	-
3.3.1. Principiul de funcționare al procesului de electrofilare .....	31	-
3.3.2. Efectul condițiilor instrumentale .....	33	-
3.3.3. Efectul proprietăților soluției de polimer .....	33	-
3.3.4. Efectul condițiilor ambientale .....	33	-
3.3.5. Limitări ale procesului de electrofilare .....	34	-
3.4. Filme biocompozite și compozite .....	34	-
3.5. Bibliografie .....	35	-
<b>II. Studiu experimental</b> .....	<b>40</b>	<b>5</b>
<b>4. Screening-ul uleiurilor esențiale</b> .....	<b>41</b>	<b>5</b>
4.1. Introducere .....	41	5
4.2. Obiectivele studiului .....	41	-
4.3. Materiale și metode de analiză .....	41	-
4.3.1. Materiale și reactivi .....	41	-
4.3.2. Determinarea activității antimicrobiene a uleiurilor esențiale față de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	41	-
4.3.3. Determinarea MIC a uleiului de cimbru cu timol față de <i>L. monocytogenes</i> .....	41	-
4.4. Rezultate și discuții .....	42	6
4.5. Concluzii .....	44	7
4.6. Bibliografie .....	44	-
<b>5. Obținerea nanocomplexului de incluziune prin microîncapsularea uleiului esențial de cimbru în β-ciclodextrină</b> .....	<b>45</b>	<b>-</b>
5.1. Introducere .....	45	-

5.2.	Obiectivele studiului	.....	45	-
5.3.	Materiale și metode de analiză	.....	45	-
5.3.1.	Materiale și reactivi	.....	45	-
5.3.2.	Procesul de obținere al nanocomplexului de incluziune cu ulei esențial de cimbru încapsulat în $\beta$ -ciclodextrină și caracterizarea acestuia	.....	46	-
5.3.3.	Determinarea gradului de retenție (R%) și eficienței incluziunii (EI%)	.....	46	-
5.3.4.	Determinarea gradului de eliberare al uleiului esențial de cimbru din nanocomplexul de incluziune	.....	47	-
5.3.5.	Evaluarea microstructurii $\beta$ -ciclodextrinei și a nanocomplexului de incluziune prin microscopie electronică de scanare (SEM)	.....	47	-
5.3.6.	Evaluarea solubilității nanocomplexului de incluziune	.....	47	-
5.3.7.	Evaluarea activității antiradicalice a nanocomplexului de incluziune	.....	47	-
5.3.8.	Evaluarea activității antimicrobiene a nanocomplexului de incluziune prin metoda difuzimetrică cu godeuri de evidențiere a activității antibacteriene față de microorganismele testate	.....	48	-
5.3.9.	Amprenta volatilă a nanocomplexului de incluziune determinată prin cromatografie de gaze -spectrometrie de masă SPME (GC-MS).	.....	48	-
5.3.10.	Caracterizarea materialelor componente ale nanocomplexului de incluziune prin spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier (FTIR)	.....	48	-
5.3.11.	Investigații <i>in silico</i>	.....	48	-
5.4.	Rezultate și discuții	.....	49	7
5.5.	Concluzii	.....	60	15
5.6.	Bibliografie	.....	61	-
6.	<b>Obținerea și caracterizarea filmelor obținute prin adăugarea complexului de incluziune ulei esențial de cimbru încapsulat în <math>\beta</math>-ciclodextrină (EF/IC) pentru creșterea funcționalității acestora</b>	.....	65	15
6.1.	Introducere	.....	65	15
6.2.	Obiectivele studiului	.....	65	-
6.3.	Materiale și metode de analiză	.....	65	-
6.3.1.	Materiale și reactivi	.....	65	-
6.3.2.	Procesul de obținere al filmelor cu complexul de incluziune ulei esențial de cimbru încapsulat în $\beta$ -ciclodextrină	.....	66	-
6.3.3.	Evaluarea microstructurii filmelor prin microscopie electronică de scanare	.....	66	-
6.3.4.	Caracterizarea materialelor componente ale filmelor prin spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier	.....	66	-
6.3.5.	Determinarea grosimii filmelor	.....	67	-
6.3.6.	Determinarea substanței uscate	.....	67	-
6.3.7.	Determinarea activității apei	.....	67	-
6.3.8.	Determinarea permeabilității la vaporii de apă	.....	67	-
6.3.9.	Determinarea indicelui de umflare	.....	68	-
6.3.10.	Determinarea opacității și transmitanței	.....	68	-
6.3.11.	Determinarea activității antimicrobiene	.....	68	-
6.3.12.	Determinarea activității antiradicalice	.....	68	-
6.3.13.	Testul de eliberare al TEO din EF în simulanți alimentari	.....	69	-
6.4.	Rezultate și discuții	.....	69	16
6.5.	Concluzii	.....	78	22
6.6.	Bibliografie	.....	79	-
7.	<b>Funcționalizarea și îmbunătățirea proprietăților</b>	.....	82	22

<b>mecanice ale filmelor biocompozite, utilizând metoda de electrofilare</b>		
7.1.	Introducere	82 22
7.2.	Obiectivele studiului	83 23
7.3.	Materiale și metode de analiză	83 -
7.3.1.	Materiale și metode	83 -
7.3.2.	Obținerea filmelor biocompozite	84 23
7.3.3.	Evaluarea microstructurii filmelor biocompozite prin microscopie electronică de scanare (SEM)	85 -
7.3.4.	Caracterizarea materialelor componente ale filmelor biocompozite prin spectrometrie în infraroșu cu transformată Fourier (FTIR)	85 -
7.3.5.	Determinarea grosimii	86 -
7.3.6.	Determinarea conținutului de umiditate	86 -
7.3.7.	Determinarea solubilității în apă	86 -
7.3.8.	Determinarea permeabilității la vaporii de apă	86 -
7.3.9.	Determinarea permeabilității la gaze	86 -
7.3.10.	Determinarea culorii și opacității	87 -
7.3.11.	Determinarea activității antimicrobiene	87 -
7.3.12.	Determinarea activității antiradicalice	88 -
7.3.13.	Determinarea proprietăților de barieră ale filmelor biocompozite față de compușii volatili din uleiul de cimbru și față de octanol, determinate prin cromatografie de gaze -spectrometrie de masă SPME (GC-MS)	88 -
7.3.14.	Analiza mecanică	89 -
7.4.	Rezultate și discuții	90 25
7.5.	Concluzii	103 30
7.6.	Bibliografie	104 -
8.	<b>Obținerea acoperirilor cu pelicule comestibile active, din zeină, funcționalizate cu ulei esențial de dafin, pentru alunele de pădure</b>	107
8.1.	Introducere	107 31
8.2.	Obiectivele studiului	109 31
8.3.	Materiale și metode de analiză	109 -
8.3.1.	Materiale și reactivi	109
8.3.2.	Procesul de obținere a soluției de acoperire cu pelicule comestibile și obținerea alunelor acoperite cu pelicule comestibile	109 31
8.3.3.	Activitatea antimicrobiană a uleiului esențial de dafin	110 -
8.3.4.	Cromatografia de gaze -spectrometria de masă SPME (GC-MS) a uleiului de dafin și a alunelor de pădure cu acoperire cu pelicule comestibile	110 -
8.3.5.	Determinarea culorii alunelor de pădure cu acoperiri cu pelicule comestibile	111 -
8.3.6.	Evaluarea senzorială a alunelor de pădure cu acoperiri cu pelicule comestibile	111 -
8.3.7.	Efectuarea testului de depozitare accelerată	112 -
8.3.8.	Valoarea substanțelor reactive la acid tiobarbituric (TBARS) a alunelor de pădure cu acoperiri cu pelicule comestibile	112 -
8.3.9.	Indicele de aciditate al alunelor de pădure cu acoperiri cu pelicule comestibile	112 -
8.4.	Rezultate și discuții	113 32
8.5.	Concluzii	118 35
8.6.	Bibliografie	119 -
9.	<b>Obținerea acoperirilor cu pelicule comestibile active, comestibile, pe bază de nanoemulsii, obținute din concentrat proteic din zer, funcționalizate cu ulei</b>	121 36

	<b>esențial de cimbru pentru dovlecei</b>		
9.1.	Introducere	121	36
9.2.	Obiectivele studiului	122	36
9.3.	Materiale și metode de analiză	122	-
9.3.1.	Materiale și reactivi	122	-
9.3.2.	Procesul de obținere al nanoemulsiilor	123	36
9.3.3.	Caracterizarea reologică a nanoemulsiei	123	-
9.3.4.	Determinarea culorii nanoemulsiilor	124	-
9.3.5.	Evaluarea microstructurii acoperirilor cu pelicule comestibile prin microscopie electronică de scanare		-
9.3.6.	Cromatografia de gaze- spectrometria de masă SPME (GC-MS) a acoperirilor cu pelicule comestibile	124	-
9.3.7.	Acoperirea și depozitarea dovleceilor cu acoperiri cu pelicule comestibile	124	37
9.3.8.	Analiza fizico-chimică a dovleceilor cu acoperiri cu pelicule comestibile (pierderea în greutate, activitatea apei, pH, analiza Brix)	125	-
9.3.9.	Evaluarea texturii	125	-
9.3.10.	Cromatografia de gaze- spectrometria de masă SPME (GC-MS) a compușilor volatili din dovleceii cu acoperiri cu pelicule comestibile	125	-
9.3.11.	Analiza culorii dovleceilor	126	-
9.3.12.	Evaluarea senzorială a dovleceilor	126	-
9.3.13.	Evaluarea microscopică a acoperirilor cu pelicule comestibile ale dovleceilor	126	-
9.4.	Rezultate și discuții	126	37
9.5.	Concluzii	140	44
9.6.	Bibliografie	140	-
10.	<b>Obținerea filmelor compozite, active, din concentrat proteic din zer și zeină, destinate ambalării intermediare și aromatizării unui produs tip pudră instant cu cacao și conținut scăzut de lactoză</b>	143	44
10.1.	Introducere	143	44
10.2.	Obiectivele studiului	144	44
10.3.	Materiale și metode de analiză	145	-
10.3.1.	Materiale și reactivi	145	-
10.3.2.	Procesul de obținere al filmelor compozite și al produsului tip pudră instant cu cacao și conținut scăzut de lactoză		44
10.3.3.	Determinarea grosimii filmelor compozite	146	-
10.3.4.	Determinarea culorii și opacității filmelor compozite	146	-
10.3.5.	Determinarea permeabilității la vaporii de apă	147	-
10.3.6.	Determinarea indicelui de umflare	147	-
10.3.7.	Determinarea activității antimicrobiene	147	-
10.3.8.	Determinarea activității antiradicalice	147	-
10.3.9.	Cromatografie de gaze -spectrometrie de masă cu SPME/GC-MS- Amprenta volatilă a mixului de ulei esențial de lavandă și scorțișoară, a filmelor și a produsului tip pudră instant ambalat în filme compozite	147	-
10.4.	Rezultate și discuții	148	45
10.5.	Concluzii	153	50
10.6.	Bibliografie	154	-
11.	<b>Concluziile tezei de doctorat</b>	155	50
12.	<b>Contribuții originale și perspective de continuare a cercetărilor</b>	157	52
13.	<b>Diseminarea rezultatelor obținute</b>	157	52
14.	<b>Anexe</b>	160	-
14.1.	Liste figuri	160	-
14.2.	Listă tabele	162	-



## Introducere

Cercetările privind soluțiile noi de ambalare a alimentelor au evoluat în ultimii ani fiind studiate numeroase materiale noi caracterizate de biodegradabilitate, durabilitate, capacitate de a extinde termenul de valabilitate demonstrând că acestea reprezintă o alternativă pentru ambalajele convenționale. Numeroase rezultate promițătoare ale cercetărilor în domeniul ambalajelor alimentare comestibile au fost publicate în ultima perioadă (*Daniloski și colab., 2021; Chakravartula și colab., 2019; Ehsani și colab., 2020*).

Din punct de vedere economic dar și al asigurării sustenabilității în sectorul alimentar precum și din nevoia de a limita pierderile de resurse materiale înregistrate în tehnologiile actuale, cercetătorii consideră că înlocuirea ambalajelor convenționale cu cele biodegradabile, bazate pe valorificarea fluxurilor secundare din industria alimentară, reprezintă o soluție de viitor.

Ambalarea are ca scop principal creșterea siguranței alimentare prin menținerea prospețimii și a calității alimentelor. Rolul de protecție al ambalajului este în primul rând pasiv, el acționând ca o barieră între aliment și mediul înconjurător. Cu toate acestea, există unele excepții, cum ar fi produsele proaspete, pentru care sunt utilizate materiale de ambalare foarte permeabile la gaze sau chiar perforate, pentru a permite schimbul de gaze prin ambalaj (*Yildirim și colab., 2018*).

Filmele comestibile (EF) pot fi obținute din proteine, polizaharide, lipide sau din combinarea acestora. Filmele din proteine din zer sunt structuri independente, care se prezintă sub forma unor folii subțiri, transparente și biodegradabile care au multiple avantaje și pot fi folosite ca ambalaj aplicat direct pe suprafața sistemelor alimentare (*Navarro, 2016*). Acoperirile cu pelicule comestibile (EC) sunt straturi subțiri, foarte fine, aplicate direct pe suprafața alimentului, care formează împreună cu alimentul un întreg unitar.

Pentru a ține pasul cu progresele tehnologice și nevoile consumatorilor, s-a dezvoltat concepul de ambalare activă. Ambalarea activă se referă la funcționalizarea structurală, biologică și mecanică a materialelor de ambalare prin adăugarea unor compuși antimicrobieni, antioxidanți, a nanofibrelor sau a uleiurilor volatile (*Yildirim și colab., 2018*).

Uleiurile esențiale (EO) precum uleiul esențial de cimbru care este bogat în compuși fenolici precum timolul și carvacrolul, are proprietăți antioxidante și antimicrobiene remarcabile și poate înlocui antioxidanții de sinteză (*Fonseca, 2020*). Cu toate acestea, volatilitatea ridicată, oxidabilitatea și termosensibilitatea EO ar putea reduce biodisponibilitatea compușilor fenolici, modificând în același timp culoarea și aroma EF, transformându-le în matrici alimentare inacceptabile (*Das și colab. 2019*). Acestea necesită măsuri de protecție și de stabilizare care pot fi realizate prin procesul de încapsulare.

Încapsularea este definită ca un proces de înglobare a unei substanțe solide, lichide sau gazoase numită substanță încapsulată sau fază internă într-o altă substanță, numită material încapsulant sau fază externă, sub forma unor sisteme coloidale cu structură și dimensiuni diferite, în domeniul micro sau nano-metrilor. Captarea compușilor bioactivi, cunoscută sub numele de tehnologie de încapsulare poate crește performanța ambalajului alimentar activ prin transportul protejat al compușilor bioactivi (de exemplu, EO) și prin eliberarea controlată, pentru a obține o eficiență maximă în ceea ce privește activitatea antimicrobiană sau antioxidantă (*Reis și colab., 2022, Fonseca și colab., 2020*).

Proteinele din zer au capacitatea de a forma cu ușurință pelicule, sunt compatibile cu produsele lactate, dar, cu toate acestea, proprietățile mecanice și de barieră sunt considerate slabe în comparație cu ambalajele convenționale, de aceea este necesară îmbunătățirea structurii acestora.

Acidul polilactic (PLA) este unul dintre cele mai promițătoare materiale din surse regenerabile, deoarece are proprietăți termoplastice, este biodegradabil, biocompatibil și are rezistență ridicată și procesabilitate bună. Fibrele electrofilate din PLA pot fi folosite ca strat suplimentar într-un sistem de ambalare multistrat.

Filmele biocompozite care conțin proteine din zer și alte substanțe capabile să formeze polimeri, cum ar fi acidul polilactic (PLA), ar putea oferi o rezistență mecanică mai mare și proprietăți de barieră mai bune în comparație cu filmele mono-compozite. În plus, este bine cunoscut faptul că filmele mono-compozite pe bază de proteine din zer nu pot fi utilizate în aplicațiile de ambalare ca ambalaje de sine stătătoare din cauza fragilității lor și a permeabilității mari față de apă.

Teza de doctorat intitulată **“Dezvoltarea unor soluții de ambalare, biodegradabile, cu rol bioactiv, pentru produsele alimentare”** a vizat obținerea, funcționalizarea biologică, îmbunătățirea structurală și a proprietăților mecanice precum și studiul morfologic, fizico-chimic și biologic al filmelor și acoperirilor cu pelicule comestibile pe bază de proteine, bioactive, în vederea obținerii unor materiale de ambalare cu proprietăți antimicrobiene, antioxidante, mecanice și de barieră îmbunătățite promovând concepte moderne precum protejarea mediului înconjurător și valorificarea subproduselor din industria alimentară.

Cercetarea din timpul studiului doctoral a urmărit astfel următoarele **obiective științifice**:

- Obținerea filmelor pe bază de concentrat proteic din zer funcționalizate cu ulei esențial de cimbru (WF/TEO) sub două forme, încapsulat și neîncapsulat. Uleiul esențial de cimbru a fost încapsulat prin metoda co-precipitării, în diferite concentrații, cu scopul de a forma complexe de incluziune, utilizând ciclodextrinele (CD) ca biomaterial de încapsulare.
- Obținerea filmelor biocompozite (WF/G) prin aplicarea unui strat de fibre din PLA pentru îmbunătățirea proprietăților structurale și mecanice, pe o față a filmelor din concentrat proteic din zer cu TEO și caracterizarea filmelor obținute.
- Studii privind aplicarea unor acoperiri cu pelicule comestibile bioactive pe bază de zer aplicate pe suprafața dovelceilor, cu scopul prelungirii duratei de păstrare a acestora
- Obținerea unor pelicule comestibile din zeină, funcționalizate cu EO pentru creșterea duratei de păstrare a alunelor de pădure;
- Obținerea unui film compozit din zeină și proteine din zer destinat protejării și aromatizării pudrei instant cu zer praf și cacao;

Teza de doctorat este structurată în două părți:

- I. **Studiu documentar** structurat în trei capitole:
  - **Capitolul 1. „Filme și acoperiri cu pelicule aplicate alimentelor: abordări moderne privind ambalarea alimentelor”** structurat în 7 subcapitole.
  - **Capitolul 2. „Încapsularea uleiului esențial”** structurat în 5 subcapitole
  - **Capitolul 3. „Tehnici noi pentru obținerea filmelor și materialelor biocompozite”** structurat în 5 subcapitole. Această parte a tezei de doctorat prezintă cercetări recente din domeniul obținerii și utilizării filmelor ca ambalaje în industria alimentară, tehnici moderne de încapsulare a uleiurilor esențiale și modalități prin care pot fi îmbunătățite proprietățile structurale și de barieră ale filmelor.
- II. **Studiu experimental** prezintă rezultatele activităților de cercetare originale, realizate în timpul stagiului doctoral și este structurat în 7 capitole, după cum urmează:
  - **Capitolul 4 „Screening-ul uleiurilor esențiale”** are ca scop alegerea uleiurilor esențiale bioactive prin determinarea activității antimicrobiene a uleiurilor esențiale.
  - **Capitolul 5. „Obținerea nanocomplexului de incluziune prin microîncapsularea uleiului esențial de cimbru în  $\beta$ -ciclodextrină”** vizează procesul de obținere al complexului de incluziune ulei esențial de cimbru încapsulat în  $\beta$ -ciclodextrină prin metoda de co-precipitare. S-au obținut trei complexe de incluziune cu concentrații diferite de ulei esențial de cimbru ceea ce a permis studiul gradului de retenție (R %) și eficiența de incluziune (EI %) a uleiurilor esențiale, determinarea gradului de eliberare al uleiului esențial de cimbru din complexul de incluziune, evaluarea microstructurii  $\beta$ -ciclodextrinei și a complexului de incluziune prin microscopie electronică de scanare, a solubilității complexului de incluziune, a activității antiradicalice a acestuia precum și a activității antimicrobiene. De asemenea, a fost analizată amprenta volatilă a complexului de

incluziune, au fost caracterizate materialele componente ale filmelor prin spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier (FTIR) și au fost realizate investigații *in silico*.

- **Capitolul 6. „Obținerea și caracterizarea filmelor funcționalizate prin adăugarea complexului de incluziune ulei esențial de cimbru încapsulat în  $\beta$ -ciclodextrină (EF/IC)”** a urmărit analiza proprietăților structurale ale filmelor (evaluarea microstructurii filmelor prin microscopie electronică de scanare, spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier), a proprietăților fizice (determinarea grosimii, substanței uscate, activității apei, permeabilității la vaporii de apă, opacității și transmitanței, a indicelui de umflare), a proprietăților funcționale ale filmelor biocompozite (determinarea activității antimicrobiene, activității antiradicalice).
- **Capitolul 7. „Funcționalizarea și îmbunătățirea proprietăților mecanice ale filmelor biocompozite, utilizând metoda de electrofilare”** a urmărit analiza proprietăților structurale ale filmelor biocompozite (evaluarea microstructurii filmelor biocompozite prin microscopie electronică de scanare, spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier), a proprietăților fizice (determinarea grosimii, substanței uscate, permeabilității la vaporii de apă, permeabilității la gaze, opacității și culorii, a indicelui de umflare), a proprietăților funcționale ale filmelor biocompozite (determinarea activității antimicrobiene, activității antiradicalice, proprietăților de barieră ale filmelor biocompozite față de compușii volatili din uleiul de cimbru determinate prin cromatografie de gaze -spectrometrie de masă SPME) precum și analiza proprietăților mecanice ale filmelor biocompozite.
- **Capitolul 8. „Obținerea acoperirilor cu pelicule comestibile active, din zeină, funcționalizate cu ulei esențial de dafin, pentru alunelile de pădure”** a urmărit acoperirea alunelilor cu pelicule comestibile pe bază de zeină funcționalizată cu ulei esențial de dafin (*Laurus nobilis*) și evaluarea eficacității formulei acoperirilor cu pelicule comestibile.
- **Capitolul 9. „Obținerea acoperirilor cu pelicule comestibile active pe bază de nanoemulsii, obținute din concentrat proteic din zer, funcționalizate cu ulei esențial de cimbru pentru dovlecei”** a urmărit evaluarea eficacității a două formule de nanoemulsii care conțin ulei esențial de cimbru și proteine din zer, ca acoperiri cu pelicule comestibile pentru dovlecel, cu scopul de a prelungi perioada de valabilitate a acestuia.
- **Capitolul 10. „Obținerea filmelor compozite, active, din concentrat proteic din zer și zeină, destinate ambalării intermediare și aromatizării unui produs tip pudră instant cu cacao și conținut scăzut de lactoză”** a urmărit obținerea filmelor compozite active pe bază de concentrat proteic din zer și zeină și caracterizarea fizico-chimică a acestora, evaluarea potențialului antimicrobian al uleiurilor volatile, obținerea unui produs tip pudră instant cu cacao și conținut scăzut de lactoză și caracterizarea acestuia, utilizarea filmelor compozite active ca material de ambalare pentru produsul obținut și caracterizarea acestuia.

Fiecare capitol din studiul experimental este structurat la rândul său în subcapitolele următoare: Introducere (este prezentat stadiul actual al cercetării); Obiectivele studiului (sunt definite obiectivele cercetării); Materiale și metode de analiză (este prezentată lista cu materiile prime, materialele, reactivii utilizați și metodele de lucru); Rezultate și discuții, subcapitol în cadrul căruia sunt prezentate rezultatele obținute în comparație cu alte date din literatura de specialitate; Concluzii și Bibliografie.

- **Capitolul 11. „Concluziile tezei de doctorat”**, prezintă concluziile finale ce rezultă

din studiul experimental realizat, care a avut ca rezultat obținerea unor filme comestibile, funcționalizate cu ulei esențial încapsulat și neîncapsulat, obținerea unor structuri biocompozite prin aplicarea unui strat de fibre din PLA pentru îmbunătățirea proprietăților structurale și mecanice și aplicații ale filmelor și acoperirilor cu pelicule comestibile.

Ultimele capitole ale tezei prezintă contribuțiile originale ale tezei de doctorat care concurează la îmbogățirea conceptelor fundamentale și aplicative în domeniul studiat și perspectivele de continuare a cercetărilor sunt:

- **Capitolul 12. „Contribuții originale și perspective de continuare a cercetărilor”**
- **Capitolul 13. „Diseminarea rezultatelor obținute”**
- **Capitolul 14., cuprinde lista figurilor și lista tabelor.**

Astfel, rezultatele cercetărilor au fost valorificate prin elaborarea a 4 (patru) articole științifice pe tema tezei de doctorat din care 3 (trei) în calitate de prim-autor și unul în calitate de autor secund. Din activitatea de cercetare desfășurată în timpul pregătirii doctorale au mai rezultat alte 2 articole publicate în reviste cotate ISI. Au mai fost realizate un număr de 14 comunicări la manifestări științifice importante în domeniul ingineriei alimentare, din țară și din străinătate.

Teza de doctorat cuprinde 164 pagini, incluzând 57 figuri și 30 tabele. Studiul documentar reprezintă 20 % iar studiul experimental 80 %.

Activitățile de cercetare din cadrul tezei de doctorat au fost derulate cu ajutorul infrastructurii moderne de cercetare a Centrului integrat de cercetare, expertiză și transfer tehnologic (BioAliment-TehnIA) ([www.bioaliment.ugal.ro](http://www.bioaliment.ugal.ro)), din cadrul Facultății Știința și Ingineria Alimentelor, Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați și cu ajutorul Centrului de Excelență în domeniul Prelucrării Polimerilor (CE- PP).

Teza de doctorat a fost realizată sub coordonarea științifică a doamnei **Prof. dr. ing. habil. Daniela BORDA**, în calitate de conducător de doctorat și a comisiei de îndrumare, cu următoarea componență: **Prof.dr.ing. Anca NICOLAU**, **Prof. dr. ing. Iuliana APRODU**, **Ș.I. dr. ing. Iulia BLEOANCĂ**.

## 1. Filme și acoperiri cu pelicule aplicate alimentelor: abordări moderne privind ambalarea alimentelor

### 1.1. Introducere

O situație nefavorabilă pentru mediul înconjurător o reprezintă folosirea în exces a ambalajelor convenționale pentru produsele alimentare, obținute din derivați ai petrolului, a căror acumulare are efecte nocive din ce în ce mai evidente asupra vieții marine și terestre, așadar s-a impus și este în continuă dezvoltare o nouă direcție de dezvoltare a sectorului alimentar – ambalajele biodegradabile active, care asigură o protecție ridicată alimentelor și protejarea mediului înconjurător.

Ambalajele pe bază de materiale obținute din subproduse ale industriei alimentare, cum ar fi zerul, pot fi considerate o alternativă ecologică a ambalajelor clasice. Noi soluții de ambalare poate fi create cu ajutorul filmelor sau acoperirilor cu pelicule comestibile aplicate produselor alimentare. Filmele și acoperirile cu pelicule comestibile prelungesc termenul de valabilitate al alimentului, îi îmbunătățesc calitatea acestuia și îi oferă protecție sporită împotriva factorilor fizici și mecanici acționând ca o barieră semipermeabilă pentru gaze, vapori și apă.

### 1.2. Definirea filmelor și acoperirilor cu pelicule

Deși termenii filme și acoperiri cu pelicule comestibile sunt uneori folosiți ca sinonime, ei reprezintă concepte diferite.

Ambalajele comestibile pot avea forma unor pelicule subțiri numite filme comestibile sau pot avea forma unor acoperiri cu pelicule comestibile (*Navarro și colab., 2016*).

Filmul este definit ca un strat subțire de material care poate fi folosit ca ambalaj, în timp ce acoperirea cu peliculă comestibilă este formată direct pe suprafața produsului, urmând a fi consumată împreună cu produsul alimentar (*Guimar și colab., 2018*). Acestea trebuie să aibă proprietăți mecanice, stabilitate fizico-chimică și microbiologică excelente, să fie compatibile organoleptic și funcțional cu alimentul, să fie netoxice, sigure și să fie disponibile la un cost de producție scăzut. Mai mult, trebuie să îndeplinească cerințele legislative specifice ale țării în care sunt comercializate.

## 4. Screening-ul uleiurilor esențiale

### 4.1. Introducere

Uleiurile esențiale (EO) au câștigat o popularitate uriașă datorită naturii lor prietenoase cu mediul, efectului antioxidant și antimicrobian puternic. Multe dintre ele (scorțișoară, cuișoare, rozmarin, oregano, cimbru, piper, mentă etc.) au statutul GRAS, fiind „recunoscute în general ca sigure”. (*Mukurumbira și colab., 2022*).

*L. monocytogenes* este o bacterie Gram-pozitivă, care nu formează spori, un agent patogen care poate provoca listerioză omului. Această bacterie poate fi prezentă în laptele de vacă provenit de la animalele infectate, în brânzeturi cu pastă moale, poate supraviețui și se poate dezvolta în produsele din carne refrigerate, inactivarea în scopul conservării alimentelor reprezentând o preocupare majoră în industria alimentară (*Rasooli și colab., 2006*).

### 4.2. Obiectivele studiului

Obiectivul principal al acestui capitol constă în selectarea unui ulei esențial dintr-o varietate mai mare de uleiuri esențiale achiziționate din comerț, prin testarea activității antimicrobiene față de bacteria *L. monocytogenes*, utilizând metoda difuzimetrică. Un alt obiectiv îl reprezintă determinarea concentrației minime inhibitorii (MIC) a uleiului esențial selectat.

#### 4.4. Rezultate și discuții

##### Determinarea activității antimicrobiene a uleiurilor esențiale față de *Listeria monocytogenes*

Uleiurile esențiale testate au avut activitate diferită asupra microorganismului testat privind zonele de inhibiție ale creșterii acestuia (**Tabel 4.1.**). Pe baza diametrelor zonelor de inhibiție din jurul godeului decupat în mediu și încărcat cu proba de analizat, a fost selectat uleiul esențial de cimbru, el având un diametru al zonei de inhibiție mai mare decât celelalte probe analizate dar și decât controlul pozitiv. Diametrul zonei de inhibiție de jur împrejurul godeului încărcat cu antibiotic a fost de  $1,3 \text{ cm} \pm 0,12$ , scorțișoara având același efect antimicrobian, cu un diametru egal cu cel realizat de antibiotic, situându-se pe locul doi, după TEO.

**Tabelul 4.1.** Diametrele zonelor de inhibiție ale uleiurilor esențiale testate față de *L. monocytogenes*

Substanță activă testată	Diametrul zonei de inhibiție (cm)
Dafin	$0,85 \pm 0,07$
Lavanda	$0,5 \pm 0,04$
Cuișoare	$0,4 \pm 0,03$
Scorțișoară	$1,3 \pm 0,11$
Eucalipt	$0,3 \pm 0,02$
Chimen	$0,3 \pm 0,03$
Cătină	0
TEO cu timol	$1,6 \pm 0,15$
TEO cu tuianol	$0,5 \pm 0,04$
Cloramfenicol (C+)	$1,3 \pm 0,11$

Diametrul egal al zonei de inhibiție al uleiului esențial de scorțișoară cu cel realizat de antibiotic  $1,3 \pm 0,11 \text{ cm}$  indică același efect antimicrobian, situându-se pe locul doi, după TEO cu timol cu un diametru de  $1,6 \pm 0,15 \text{ cm}$ .

##### Determinarea MIC a uleiului de cimbru

Activitatea antimicrobiană a TEO față de *L. monocytogenes* a fost determinată prin efectuarea diluțiilor cu solventul dimetilsulfoxid (DMSO). Concentrația minimă inhibitorie (MIC) este definită ca fiind cea mai mică concentrație a probelor care poate inhiba creșterea microorganismelor testate (*Wen și colab., 2016*). MIC a fost determinat pentru examinarea capacității de inhibare a microorganismului testat în diferite concentrații. Cu cât este mai mică valoarea MIC, cu atât este mai mare activitatea antimicrobiană a compusului activ testat (*Binazir și colab., 2024*).

În **Tabelul 4.2.** sunt prezentate rezultatele testării TEO cu timol în diluții de 1:5, 1:10, 1:20, 1:25, 1:50, 1:75 și 1:100. Pentru controlul pozitiv a fost folosit antibiotic, Cloramfenicol, și DMSO, a fost considerat controlul negativ. O capacitate minimă de inhibiție față de *L. monocytogenes* se remarcă la diluția 1:100 pentru TEO: DMSO.

**Tabelul 4.2.** Scăderea capacității de inhibare (%) a uleiului esențial de cimbru TEO odată cu creșterea diluțiilor, față de TEO nediluat

Diluție TEO: DMSO	Scăderea capacității de inhibare (%) a uleiului esențial de cimbru TEO odată cu creșterea diluțiilor, față de TEO nediluat
1:5	$95,65 \pm 9,3^a$
1:10	$65,22 \pm 6,7^b$

1:20	60,87 ± 6,2 <sup>b</sup>
1:25	56,52 ± 5,6 <sup>b</sup>
1:50	56,52 ± 5,6 <sup>b</sup>
1:75	47,83 ± 4,8 <sup>b</sup>
1:100	34,78 ± 3,3 <sup>b,c</sup>
C+ (cloramfenicol)	65,22 ± 6,4 <sup>c</sup>

Valorile obținute sunt media ± SD a trei analize. Literele diferite obținute prin metoda ANOVA și testul post-hoc Tukey la  $p < 0,05$  indică faptul că sunt diferențe semnificative între probe.

#### 4.5. Concluzii

Pe baza diametrelor zonelor de inhibiție a fost selectat uleiul de cimbru, el având un diametru al zonei de inhibiție mai mare decât celelalte uleiuri esențiale analizate dar și față de controlul pozitiv

Uleiul cu cimbru prezintă activitate antilisterială până la diluția 1:100, efectul său în diluția 1:5 ulei cimbru:DMSO fiind comparabil cu cel al antibioticului (1mg/mL – dizolvat în alcool etilic).

### 5. Obținerea nanocomplexului de incluziune prin microîncapsularea uleiului esențial de cimbru în $\beta$ -ciclodextrină

#### 5.1. Introducere

Uleiurile esențiale sunt sensibile la acțiunea factorilor externi precum temperatura, lumina, prezența oxigenului, sunt compuși instabili și au o volatilitate ridicată, ceea ce le limitează aplicabilitatea. Microîncapsularea reprezintă o tehnologie promițătoare pentru a depăși aceste limitări, care oferă o matrice de acoperire pentru uleiurile esențiale, asigură o eliberare controlată a compușilor volatili, prelungeste astfel durata de valabilitate a alimentelor, maschează aromele prea intense, îmbunătățește stabilitatea chimică, biodisponibilitatea, abordează solubilitatea lor scăzută în apă și ușurează transportul și manipularea uleiurilor esențiale ([Lanciu și colab., 2024](#), [Razaei și colab., 2021](#), [Bai și colab., 2022](#))

Ciclodextrinele (CD) sunt oligozaharide derivate din amidon cu o structură ciclică și formă de trunchi de con, având caracter lipofil în interior datorită legăturilor C-H și suprafața exterioară hidrofilă, datorită grupărilor numeroase hidroxil. Ciclodextrinele au capacitatea de încapsulare selectivă a moleculelor de ulei esențial în interiorului cavității trunchiului de con datorită hidrofobicității interiorului acestuia.

#### 5.2. Obiectivele studiului

Primul obiectiv al acestui capitol este caracterizarea capacității moleculelor de ulei esențial de cimbru (TEO) de a forma legături cu cavitatea interioară și situsurile active externe ale nanomoleculii de  $\beta$ -CD prin metoda de co-precipitare.

Al doilea obiectiv este studiul cineticii de eliberare a compușilor volatili și caracterizarea proprietăților pulberilor rezultate în raport cu activitatea lor antimicrobiană și antioxidantă.

#### 5.4. Rezultate și discuții

##### Procesul de obținere al nanocomplexului de incluziune și caracterizarea acestuia

În acest studiu TEO a fost încapsulat în  $\beta$ -CD prin metoda co-precipitării. Pentru aceasta s-au folosit diferite rapoarte masice  $\beta$ -CD: TEO, respectiv 8.5:1.50 (m/m) (IC1); 8.5:3.0 (m/m) (IC2) and 8.5:4.5 (m/m) (IC3). Fiecare complex de incluziune TEO/  $\beta$ -CD s-a notat cu simbolurile IC1, IC2 și IC3 corespunzătoare rapoartelor specificate în **Tabelul 5.1.**

Deoarece în TEO componentul principal este timolul, se consideră că în cavitățile moleculelor de  $\beta$ -CD sunt incluse cu prioritate, moleculele de timol al căror volum este de 257,25 Å<sup>3</sup>, mai mic decât cel al cavității  $\beta$ -CD (262 Å<sup>3</sup>) ([Kfoury și colab., 2016](#)) dar suficient de apropiat încât să

formeze un complex de incluziune. Valoarea ridicată a constantei de repartiție  $\log K_{U/A} = 3,34$  (Kfoury și colab., 2016) arată că timolul este lipofil și are capacitatea să elimine moleculele de apă din cavitatea hidrofobă a  $\beta$ -CD și să formeze un complex de incluziune stabil energetic, datorită interacțiunilor van der Waals și a celor hidrofobe. Prezența grupării hidroxil în structura moleculei de timol determină acumularea acestuia pe suprafața exterioară a trunchiului de con, datorită legăturilor de hidrogen pe care le poate forma cu grupările hidroxil primare și secundare distribuite pe suprafața exterioară a moleculei de  $\beta$ -CD.

### Determinarea gradului de retenție și a eficienței incluziunii

În Tabelul 5.1. sunt prezentate rezultatele procesului de încapsulare TEO în  $\beta$ -CD.

**Tabelul 5.1. Retenția (R) TEO în  $\beta$ -CD și eficiența incluziunii (EI)**

Complexul de incluziune TEO/ $\beta$ -CD	Raport masic ( $\beta$ -CD: TEO)	Retenția TEO în $\beta$ -CD (R %)	Eficiența incluziunii (EI %)
IC1	5,67	71,66 ± 3,6 <sup>a</sup>	36,33 ± 2,4 <sup>d</sup>
IC2	2,83	41,33 ± 3,11 <sup>b</sup>	8,67 ± 1,51 <sup>e</sup>
IC3	1,89	29,11 ± 1,49 <sup>c</sup>	4,35 ± 3,41 <sup>e</sup>

IC1 – complexul de incluziune TEO/ $\beta$ -CD cu 1,5 mL TEO

IC2 – complexul de incluziune TEO/ $\beta$ -CD cu 3 mL TEO

IC3 – complexul de incluziune TEO/ $\beta$ -CD cu 4,5 mL TEO

Valorile obținute sunt media ± deviația standard (SD) a trei determinări independente. Literale diferite obținute prin metoda ANOVA și testul post-hoc Tukey la  $p < 0,05$  indică faptul că sunt diferențe semnificative între probe la R (a,b,c) și la EI (d,e).

Experimental, s-a observat că la folosirea raportului masic  $\beta$ -CD:TEO 5,67:1 (m/m) a favorizat prezența celei mai mari cantități de ulei esențial inclusă în suspensia de  $\beta$ -CD, în timp la creșterea cantității de ulei s-au separat cantități diferite de ulei la suprafața suspensiei., la folosirea raportului  $\beta$ -CD:TEO 5,67:1 (w/w) s-a obținut un grad de retenție de 71,66 ± 3,60 % iar 36,33 ± 2,40 % din uleiul folosit s-a regăsit în interiorul  $\beta$ -CD formând complexul de incluziune TEO/  $\beta$ -CD. Cu creșterea conținutului de ulei a scăzut atât procentul de retenție cât și eficiența incluziunii (Tabelul 5.1). De exemplu, la un raport de  $\beta$ -CD:TEO 2,83:1,00 (m/m) procentul de retenție a scăzut la 41,33 ± 3,11 %, iar eficiența incluziunii a fost de 8,67 ± 1,81 %, în timp la o cantitate maximă de ulei corespunzătoare raportului  $\beta$ -CD:TEO 1,89:1,00 (m/m), procentul de retenție al uleiului esențial a fost de 29,11 ± 1,49 %, iar eficiența incluziunii a fost de 4,35 ± 3,41 % (Tabelul 5.1). Aceasta se datorează probabil pe de o parte posibilității de saturare a centrilor de legătură ai moleculelor uleiului esențial pe suprafața externă a moleculelor de  $\beta$ -CD și numărului limitat de molecule lipofile incluse în cavitatea  $\beta$ -CD dar, pe de altă parte și unei biocompetiții între moleculele lipofile cu dimensiuni diferite (Goubet și colab., 2001).

### Determinarea gradului de eliberare al uleiului esențial de cimbru din nanocomplexul de incluziune

Curbele cinetice pentru toate cele trei probe au prezentat trei domenii care explică mecanismele de eliberare diferite, astfel:

- **Domeniul I** corespunde unei eliberări rapide (eliberare explozivă- “burst release”) a TEO neîncapsulat și al celui legat de suprafața externă a moleculei de  $\beta$ -CD. Rata de eliberare cea mai mare a avut-o complexul de incluziune TEO/ $\beta$ -CD (IC3) după 60 min. (~38%). Această probă a fost obținută cu o cantitate mare de TEO și de aceea o anumită cantitate a rămas liberă în pudră (neîncapsulată), comparativ cu complexul de incluziune TEO/ $\beta$ -CD care a fost obținut cu un raport masic  $\beta$ -CD:TEO de 8.5:1.5 (m/m) Acesta, după 60 min, a avut o rată de eliberare de aproximativ 16 %, ceea ce arată că în probă a existat o cantitate scăzută de TEO și s-au eliberat doar moleculele din TEO legate pe suprafața exterioară a  $\beta$ -



CD. Rezultate similare ale eliberării *explozive* a TEO au fost observate de *Rezaei și colab. (2021)* din  $\beta$ -CD.

- **Domeniul II** corespunde unei stări de competiție între moleculele rămase pe suprafața externă a moleculei de  $\beta$ -CD și cele din interiorul cavității hidrofobe. Considerăm că moleculele din cavitate se eliberează mai târziu ca urmare a stabilității energetice a complexului de incluziune și atracției sterice (*Kfoury și colab., 2016*).
- **Domeniul III** corespunde unei eliberări a moleculelor în interiorul IC, urmată de o cinetică de ordin zero. Se poate observa că IC1 și IC2 afișează o rată de eliberare identică, în timp ce IC3 înregistrează o întârziere în eliberarea TEO și o eliberare cumulativă mai mică.

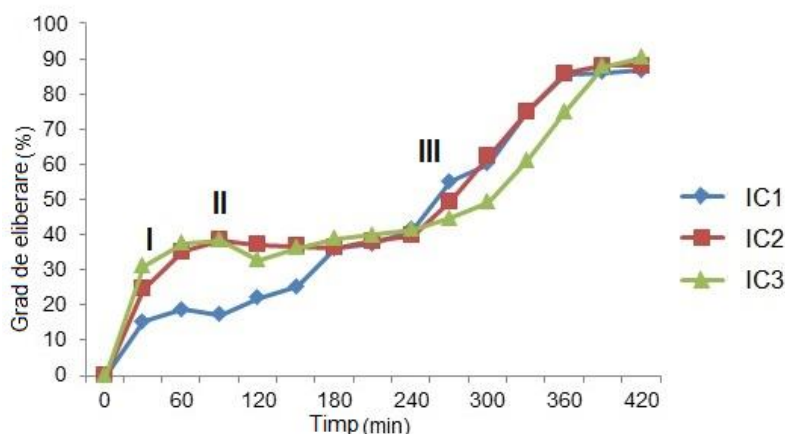


Figura 5.3. Profiluri de eliberare a TEO din IC1, IC2, IC3

### Evaluarea microstructurii $\beta$ -ciclodextrinei și a nanocomplexului de incluziune prin SEM

În **Figura 5.4.** sunt prezentate imaginile SEM ale  $\beta$ -CD și ale fiecărui complex de incluziune TEO/ $\beta$ -CD obținut cu diferite rapoarte de TEO. Imaginea SEM a probei de  $\beta$ -CD (**Figura 5.4.a**) a arătat o structură cristalină neregulată, cu particule de dimensiuni mari (6-24  $\mu\text{m}$ ), forme diferite și suprafață aproape netedă, în timp ce fiecare complex de incluziune TEO/ $\beta$ -CD a prezentat structuri cristaline monociclice tipice, cu dimensiuni mai mici cuprinse în domeniul 5-10  $\mu\text{m}$ , în funcție de retenție și eficiența incluziunii (**Figura 5.4 b,c,d**).

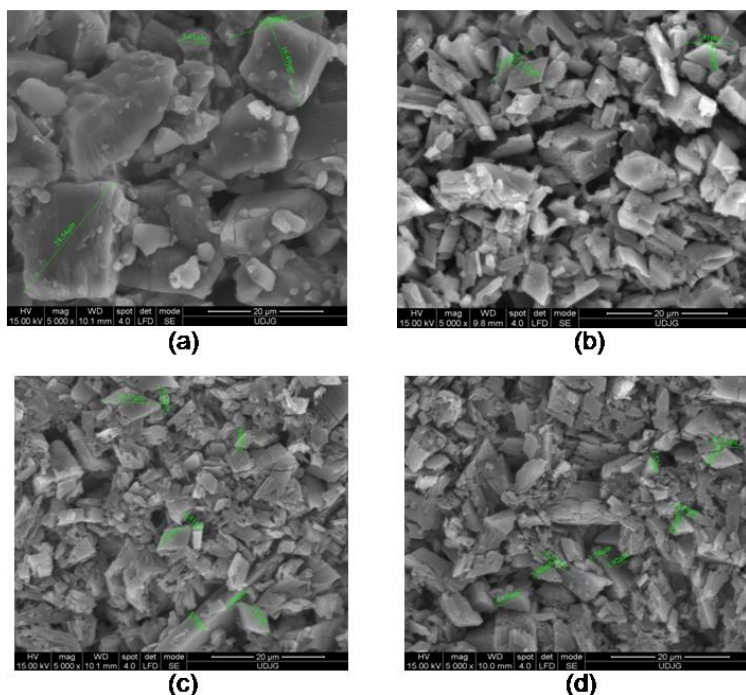


Figura 5.4. Imagini SEM a  $\beta$ -CD-ului (a) și a complexului de incluziune TEO/ $\beta$ -CD: IC1 (b), IC2 (c), IC3 (d)

### Evaluarea solubilității nanocomplexului de incluziune

Solubilitatea complexelor de incluziune analizate a fost strâns apropiată ca valoare de solubilitatea  $\beta$ -ciclodextrinei fără ulei încapsulat. Astfel, valoarea solubilității în apă calculată ca medie a trei determinări independente  $\pm$  deviația standard SD a fost de  $99,46^a \pm 9,93$  pentru IC1,  $99,88^a \pm 9,97$  pentru IC2,  $99,9^a \pm 9,96$  pentru IC3 și  $96,7^a \pm 9,65$  pentru  $\beta$ -CD. Întrucât pentru toate cele trei IC-uri literele obținute indicate de testul post-hoc Tukey nu sunt diferite, nu sunt diferențe semnificative ( $p < 0,05$ ) între probe. Prin urmare se poate afirma că grupările hidrofiele  $-\text{OH}$  din  $\beta$ -CD au asigurat o bună solubilitate pentru toate pudrele analizate ( $\sim 99\%$ ).

### Evaluarea activității antiradicalice a nanocomplexului de incluziune

Deși pulberile IC au prezentat activități antiradicalice diferite, fără diferențe semnificative ( $p > 0,05$ ) înregistrate între pulberile IC TEO/ $\beta$ -CD studiate, toate cele trei IC-uri au prezentat activitate antiradicalică puternică ( $42,64 \pm 4,24\%$ ,  $39,87 \pm 3,99\%$  și  $42,71 \pm 3,99\%$ ) și acest lucru arată că toate pulberile ar putea servi ca inhibitori ai radicalilor liberi în diferite aplicații alimentare (*Bai și colab., 2022*). Controlul  $\beta$ -CD nu a furnizat proprietăți antiradicalice (datele nu sunt prezentate).

### Evaluarea activității antimicrobiene a nanocomplexului de incluziune

Se consideră că probele cu zone de inhibiție mai mici de 0,7 cm nu au activitate inhibitorie microbiană, în timp ce probele cu diametre de cel puțin 1,2 cm au activitate inhibitorie satisfăcătoare (*Radünz și colab., 2019*). Toate microorganismele testate sunt susceptibile la TEO neîncapsulat, diametrele de inhibiție variind între 2,87 (*R. glutinis*) - 5,30 (*B. cereus*) (**Tabelul 5.2**). În schimb, TEO încapsulat a prezentat o activitate inhibitorie semnificativ redusă ( $p > 0,05$ ) în comparație cu TEO neîncapsulat. Niciun IC nu are activitate inhibitorie satisfăcătoare conform clasificării de mai sus, cu excepția IC2 care a prezentat o activitate antibacteriană de  $1,20 \pm 0,24$  cm în diametru, față de *B. cereus*, semnificativ diferită ( $p < 0,05$ ) de toate celelalte zone de inhibare ale IC. IC1 a avut cea mai mare activitate antifungică, cu un diametru de inhibiție de  $0,97 \pm 0,11$  cm, foarte aproape de valorile prag considerate activitate inhibitorie relevantă. Se constată, de asemenea, că pentru fungi (mușgaiuri și drojii) activitatea antimicrobiană a uleurilor este similară ( $p > 0,05$ ) pentru IC2 și IC3. O altă constatare este că IC3 a avut cea mai scăzută activitate inhibitorie pentru toate cele trei microorganismele testate. Comportamentul diferit al celor trei pulberi ar putea fi determinat de diferențele de ocupare ale cavității interioare a  $\beta$ -CD ca urmare a competiției volatilor prezente în TEO.

**Tabelul 5.2 . Activitatea antimicrobiană cu zone de inhibiție ale uleiului esențial de cimbru TEO neîncapsulat și ale uleiului esențial de cimbru TEO încapsulat: 1,5 g/g (IC1), 3 g/g (IC2) și 4,5 g/g (IC3) și activitatea antiradicală a complexelor de incluziune IC (%)**

Proba		Control TEO	IC1	IC2	IC3
Microorganism	<i>B. cereus</i>	$5,30 \pm 0,53^a$	$0,85 \pm 0,09^{a,b,B,C}$	$1,20 \pm 0,24^{a,A}$	$0,63 \pm 0,09^{a,C}$
	<i>G. candidum</i>	$3,79 \pm 0,14^a$	$0,97 \pm 0,11^{a,A,B}$	$0,81 \pm 0,09^{a,B,C}$	$0,59 \pm 0,03^{a,C}$
	<i>R. glutinis</i>	$2,87 \pm 0,38^a$	$0,71 \pm 0,03^{b,B,C}$	$0,78 \pm 0,17^{a,B,C}$	$0,67 \pm 0,05^{a,B,C}$
Inhibiție DPPH (%)		-	$42,64 \pm 4,24^a$	$39,87 \pm 3,99^a$	$42,71 \pm 4,21^a$

Valorile obținute sunt media  $\pm$  SD a trei analize. Diferite litere obținute prin metoda ANOVA și testul post-hoc al lui Tukey la  $p < 0,05$  indică diferențe semnificative între probe. Literele mici indică diferențe semnificative pe coloană iar literele majuscule indică diferențe semnificative pe rând.

**Amprenta volatilă a nanocomplexului de incluziune determinată prin cromatografie de gaze -spectrometrie de masă SPME (GC-MS).**

**Tabelul 5.3.** Amprenta GC/MS SPME a pulberilor TEO/IC și concentrația relativă de compuși volatili în mg octanol /L și, respectiv, mg octanol /kg pulbere

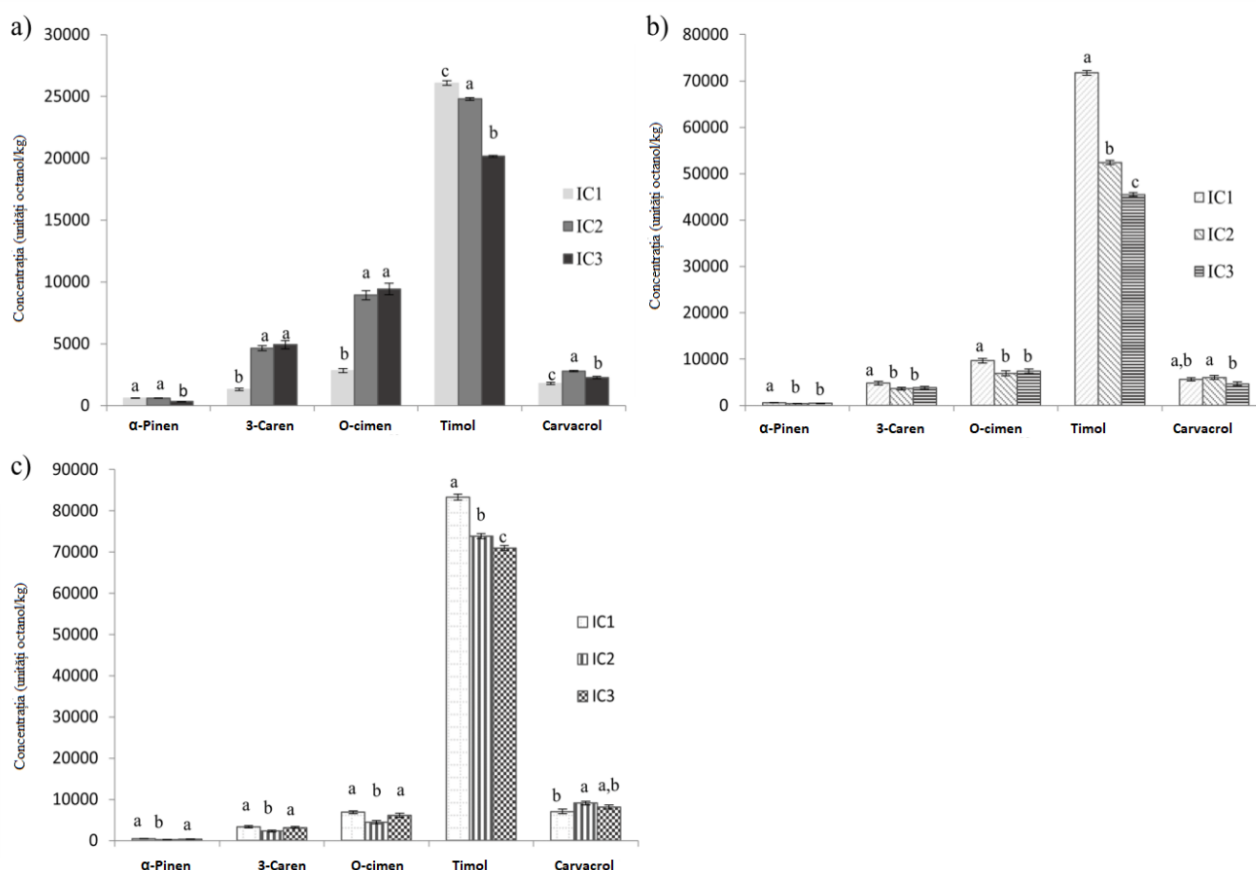
Compuși	KI	Formula	Ioni	TEO (mg octanol/L)	IC1 (mg octanol/kg pudră)	IC2 (mg octanol /kg pudră)	IC3 (mg octanol /kg pudră)
Thuen	825	C10H16	91;77;93;51;136	8181,76 ± 125,04e*	57,88 ± 3,052h,B	211,14 ± 12,17f,g,A	221,42 ± 11,05f,g,A
α Pinen	925	C10H16	91;93;136;121;93	4885,31 ± 101,48f	597,921 ± 29,41e,A	597,92 ± 20,27e,A	328,23 ± 13,94f,B
Ciclohexen 1-methyl, 4-methyldienă	939	C10H16	91;77;93;51;107	8787,63 ± 117,59e	145,52 ± 17,32g,h,B	576,92 ± 20,52e,A	619,59 ± 26,31e,A
1-S α pinen	953	C10H16	91;67;93;94;65	1122,79 ± 101,13i,j	30,76 ± 9,23h,B	95,90 ± 7,21f,g,A	97,04 ± 3,89g,h,A
3-Caren	993	C10H16	91;93;136;77;121	48528,31 ± 712,42c	1318,13 ± 101,19d,B	4644,16 ± 201,87c,A	4923,24 ± 325,13c,A
O-cimen	1013	C10H14	119;91;134;135;169	84149,56 ± 841,79b	2832,63 ± 153,28b,B	8930,73 ± 384,67b,A	9415,03 ± 458,16b,A
Izolen	1114	C15H24	105;119;169;91;79	25,16 ± 2,74k	10,45 ± 1,06h,A	7,50 ± 0,88g,A	5,93 ± 0,62h,A
Carenol	1122	C10H16O	67;79;81;91;109	26,18 ± 2,15k	5,17 ± 0,55h,C	7,87 ± 0,62g,A	49,77 ± 1,83h,B
Copaen	1123	C15H24	105;119;161;91;79	118,82 ± 10,36j,k	412,48 ± 18,96f,A	20,25 ± 2,02g,B	9,71 ± 0,81h,B
α-Panasinsen	1137	C15H24	91;95;67;105;119	137,9 ± 11,74j,k	10,93 ± 0,41h,B	15,35 ± 1,28,A	74,56 ± 2,24h,B
Camfen	1144	C10H16	91;93;77;121;67	3569,89 ± 157,31g	400,34 ± 40,41f,C	645,36 ± 22,61e,A	536,50 ± 14,17e,B
4-Caren	1169	C10H16	91;105;133;77;161	8874,78 ± 171,82e	140,86 ± 12,12g,h,C	268,57 ± 10,13f,A	217,11 ± 18,74f,g,B
α-Phellandren	1170	C10H16	91;93;77;111;67	1462,45 ± 85,16h,i	289,36 ± 24,23f,g,A	281,62 ± 12,576f,A	258,06 ± 11,07f,g,A
Longifolen	1186	C15H24	91;105;119;161;77	76,9 ± 4,28k	1,55 ± 0,15h,A	2,57 ± 0,11g,B	1,81 ± 0,89h,B
Trans-chrizantemal	1187	C10H16O	81;123;95;67;166	13,36 ± 1,52k	5,02 ± 0,42h,A	2,27 ± 0,13g,B	2,15 ± 0,55h,B
Seiselen	1295	C15H24	91;93;77;105;121	148,04 ± 12,72j,k	14,43 ± 1,03h,C	2,10 ± 0,12f,g,A	1,69 ± 0,87h,B
2-Bornen	1223	C10H16	91;93;121;79;136	281,54 ± 10,87j,k	24,53 ± 2,44h,C	62,17 ± 3,12g,A	48,86 ± 2,74h,B
Borneol	1306	C10H18O	95;67;121;65;136	2478,29 ± 152,14h	11,36 ± 1,02h,A	26,18 ± 1,14g,B	17,74 ± 1,07h,B
Epizonaren	1314	C15H24	119;161;105;204;91	432,9 ± 21,42 i,j,k	87,40 ± 7,23h,A	32,82 ± 2,21g,B	28,11 ± 1,89f,B
Timol	2097	C10H14O	136;150;105;107;91	113678,02 ± 501,33a	172,34a,C	24803,78 ± 114,96a,A	20172,65 ± 80,89a,B
Carvacrol	2381	C10H14O	135;150;108;92;79	13113,96 ± 848,36d	1782,28 ± 90,51c,C	2790,68 ± 55,35d,A	2270,69 ± 87,95d,B

Un număr total de 21 de compuși volatili conținuți de extractul TEO și de pulberile IC au fost identificați, în mod provizoriu, utilizând biblioteca NIST, iar ionii rezultați sunt indicați în **Tabelul 5.3**. Componentul major din extractul TEO este timolul (36,36 %) și a reprezentat cel mai abundent compus din toate pulberile (IC1, IC2 și IC3). Concentrații mari de timol au fost raportate și de alte cercetări care au raportat încapsularea cimbrului (*Hudaib și colab., 2002; Cutillas și colab., 2018*). Alți compuși majori din uleiul esențial de cimbru sunt o-cimenul, 3-caren, dar și camfenul și  $\alpha$ -pinenul. Compușii minori au fost, de asemenea, identificați în amestec și prezentați în **Tabelul 5.3**.

Pulberile IC1, IC2 și IC3 au fost comparate reciproc, iar rezultatele sunt indicate în **Tabelul 5.3**. Concentrația majorității compușilor volatili identificați, tujen, 3-caren, o-cimen, carenol, seychellen, 2-bornen în cele trei pulberi a crescut semnificativ ( $p < 0,05$ ), odată cu creșterea concentrației TEO (1,5, 3 și 4,5 %). Cu toate acestea, deși în comparație cu IC1 unii compuși au fost semnificativ ( $p < 0,05$ ) mai abundenți, în IC2, nu au existat diferențe semnificative ( $p > 0,05$ ) observate între pulberile IC2 și IC3 pentru componente precum tuien, 1-S  $\alpha$  pinen, longifolen și borneol.

În mod surprinzător, concentrația de timol și carvacrol a fost semnificativ mai mică în pulberile care conțin mai mult ulei TEO (IC2 și IC3) decât IC1. Același fenomen a fost observat la 50, 60 și 70 °C (Fig. 7).

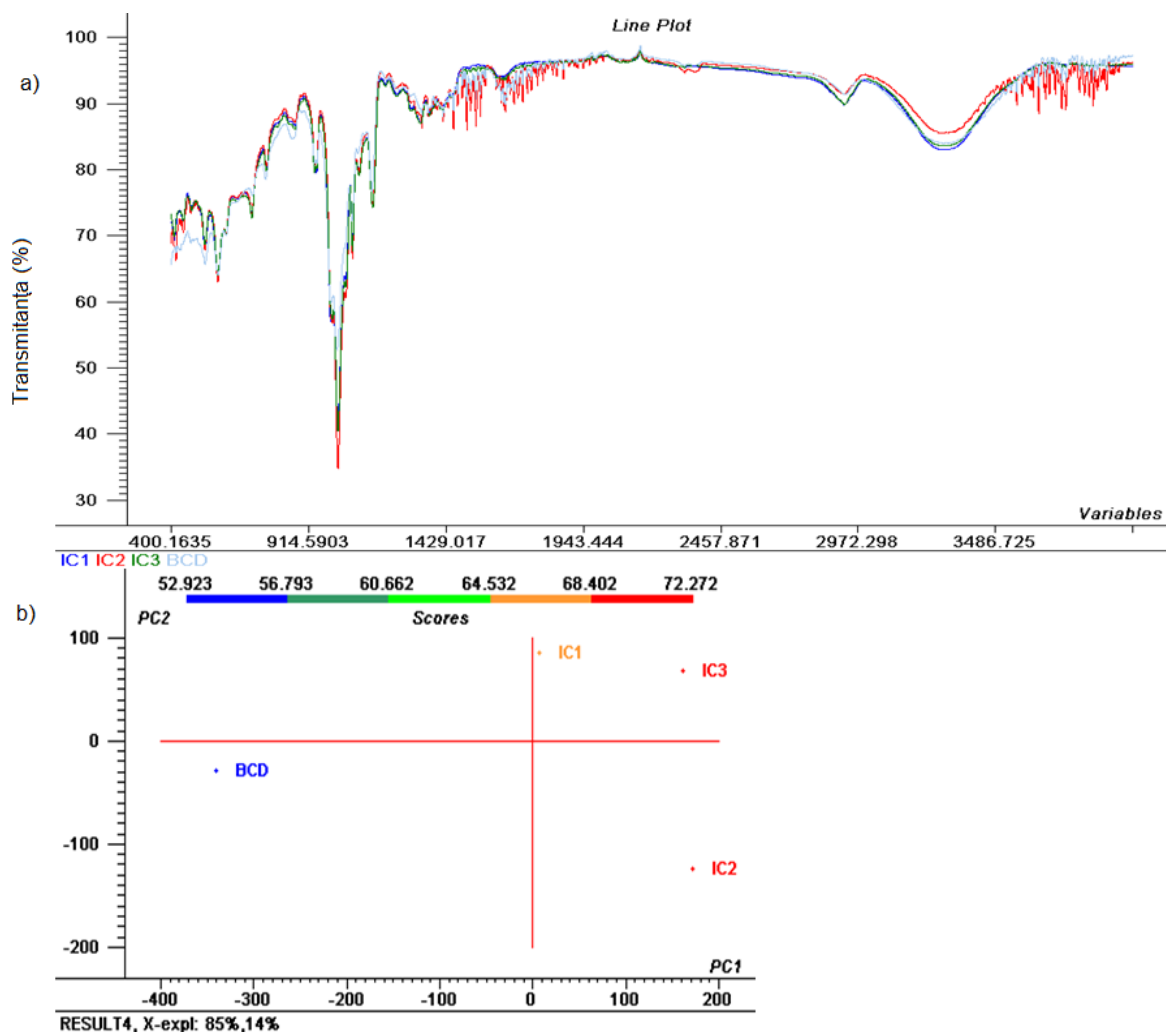
Din setul de grafice în coloană (**Figura 5.5.**) se poate observa că, în toate cazurile, concentrația de timol a scăzut odată cu creșterea concentrației de TEO în pulberi.



**Figura 5.5.** Concentrația relativă a celor mai abundente 5 componente în pulberile IC1, IC2 și IC3, incubate anterior extracției la trei temperaturi diferite: 50 °C (a), 60 °C (b) și 70 °C (c)

Comportamentul similar in cele 3 IC-uri poate fi explicat, parțial, prin scăderea eficienței de încapsulare în IC2 și IC3 comparativ cu IC1. Celălalt mecanism care ar fi putut apărea, odată cu creșterea concentrației TEO, ar putea fi o competiție în ocuparea cavităților moleculelor  $\beta$ -CD produse de ocimen, 2-caren sau camfen cu timolul.

### Caracterizarea materialelor componente ale filmelor prin FTIR



**Figura 5.6.** Spectrele FTIR aliniate (a) și analiza PCA cu scorurile (b) și reprezentarea celor două componente principale (PC1 și PC2) pentru IC1, IC2, IC3 și  $\beta$ -CD control

La  $3293\text{ cm}^{-1}$ , toate picurile largi corespund legăturii O–H, specifice pentru alcooli așa cum se vede în **Figura 5.6a.**, unde se poate observa că pulberile IC1, IC3 și  $\beta$ -CD absorb mai multă lumină în comparație cu IC2. Intensitatea mai mare a legăturilor O–H în IC3 ar putea fi explicată prin numărul mai mare de molecule cu grupări OH provenite din TEO, acumulate pe suprafața exterioară a trunchiului de con. La  $2970\text{ cm}^{-1}$  benzile de absorbție sunt specifice legăturilor C–H și cea mai mare intensitate a fost obținută pentru pulberile IC1 și IC3. Picurile slabe la  $1645\text{ cm}^{-1}$  din spectre corespund prezenței inelului aromatic. Astfel, se poate observa că IC2 și  $\beta$ -CD au absorbit mai multă lumină și au avut picuri mai mari în comparație cu IC1 și IC3. Potrivit lui [Rezaei și colab. \(2021\)](#), picurile între  $1450$  și  $1600\text{ cm}^{-1}$  (la  $1639\text{ cm}^{-1}$ ,  $1539\text{ cm}^{-1}$ ,  $1506\text{ cm}^{-1}$  și  $1410\text{ cm}^{-1}$ ) corespundea absorbției caracteristice a timolului și pot fi legate de gruparea CH<sub>2</sub>. IC2 a absorbit mai multă lumină IR în comparație cu pulberile IC2 și IC3.

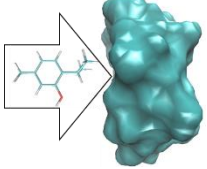
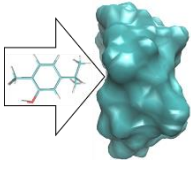
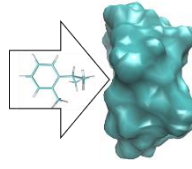
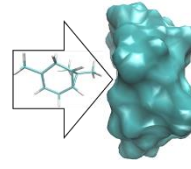
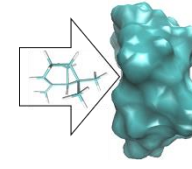
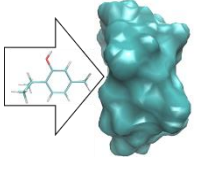
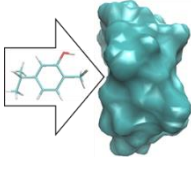
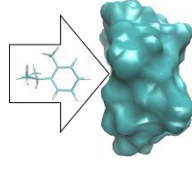
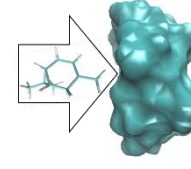
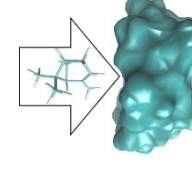
Scorurile din **Figura 5.6.** arată că cea mai mare parte a variației este explicată de PC1 (85 %) și 15 % este explicată de PC2. Aici, controlul  $\beta$ -CD este în al 3-lea cadran, IC1 și IC3 sunt în primul cadran, în timp ce IC2 este în al 4-lea cadran.

## Investigații *in silico*

Abordarea *in silico* a fost aplicată în continuare pentru a verifica potențialul diferiților compuși identificați în TEO, prin intermediul GC/MS, de a pătrunde în cavitatea hidrofobă a  $\beta$ -CD, astfel încât să formeze complexe de incluziune. Investigațiile la nivel de moleculă unică au indicat că în cavitatea  $\beta$ -CD este suficient de mult spațiu liber pentru a găzdui fiecare ligand în ambele poziții de incluziune luate în considerare în studiu, așa cum este afișat în **Tabelul 5.3**. Oricum, având în vedere spațialitatea moleculei de  $\beta$ -CD aceasta poate încapsula doar o moleculă în cavitatea hidrofobă. În toate cazurile studiate, interacțiunile hidrofobe, van der Waals și forțele electrostatice stabilite între moleculele gazdă și molecula oaspete au contribuit la stabilitatea energetică a complexelor de incluziune. În cazul timolului, carvacrolului și o-cimenului, indiferent de poziția relativă a moleculei oaspete față de  $\beta$ -CD, valorile energetice totale ale tuturor complexelor de incluziune au fost mai mici decât energia modelelor izolate, ceea ce sugerează că legarea moleculelor este favorabilă termodinamic. După cum au arătat anterior *Siva și colab. (2019)* și *Dai și colab. (2022)*, stabilitatea complexelor de incluziune poate fi estimată cu succes pe baza energiei de complexare. Pe baza valorilor mai scăzute ale energiei totale și de complexare înregistrate pentru complexul de incluziune 2, se pare că timolul, carvacrolul și o-cimenul sunt mai bine asociate cu  $\beta$ -CD și formează complexe mai stabile atunci când inelul aromatic al moleculei oaspete este spre marginea mai îngustă a  $\beta$ -CD.

Modelele moleculare ale complexelor de incluziune formate din  $\beta$ -CD cu 3-caren și  $\alpha$ -pinen sunt caracterizate prin valori pozitive ale energiei potențiale, sugerând că, în acest caz, complexarea nu are loc spontan, ci este necesar un aport de energie. Oricum, trebuie remarcat faptul că dintre toate complexele de incluziune testate, cele bazate pe  $\alpha$ -pinen ca moleculă oaspete sunt cele mai stabile. Complexele  $\beta$ -CD -  $\alpha$ -pinen au cele mai mici valori  $E_c$  (**Tabelul 5.4**.)

**Tabelul 5.4.** Reprezentarea schematică și descriptorii energetici ai complexelor de incluziune formate din  $\beta$ -ciclodextrină (reprezentată în stilul Surf) cu diferite molecule oaspete (reprezentate în stilul Licorice)

	Timol	Carvacrol	O-cimen	3-Caren	$\alpha$ -Pinen
E, kcal/mol	4,53	4,05	7,47	113,64	124,36
<b>Complex de incluziune 1</b>					
					
$E_T$ , kcal/mol	-25,19	-25,11	-15,43	86,38	90,11
$E_C$ , kcal/mol	-21,43	-20,87	-14,61	-18,97	-25,95
<b>Complex de incluziune 2</b>					
					
$E_T$ , kcal/mol	-25,31	-26,31	-22,72	86,87	90,18
$E_C$ , kcal/mol	-21,55	-22,07	-21,90	-18,48	-25,89

E – energia potențială a moleculelor invitate;  $E_T$  – energia totală a complexelor de incluziune;  $E_C$  – energie de complexare.

## 5.5. Concluzii

TEO poate fi nanoîncapsulat cu succes în  $\beta$ -CD prin metoda de co-precipitare.

Acest studiu demonstrează că, pe lângă o eficiență diferită de încapsulare, un mecanism competitiv explicat prin afinitate diferită în legarea la cavitatea interioară și la grupările OH exterioare ale  $\beta$ -CD este prezent în TEO, mai exact între timol și alte substanțe volatile majore precum carvacrolul, o-cimenu, dar de asemenea, dacă este furnizată energie,  $\alpha$ -pinen. Această competiție a împiedicat probabil încapsularea timolului în  $\beta$ -CD și a influențat proprietățile antimicrobiene ale pulberilor care ar putea sugera o aplicare diferită, în funcție de efectul antimicrobian vizat, mai ales atunci când volatilele TEO trebuie protejate prin nanoîncapsulare. Cu toate acestea, nu au putut fi găsite diferențe semnificative ( $p > 0,05$ ) pentru activitatea antioxidantă dintre pulberi.

Studiile ulterioare ar trebui să confirme rolul antimicrobian al pulberilor  $\beta$ -CD/TEO IC în diferite matrice alimentare.

Concomitent cu creșterea conținutului de ulei din IC-uri, a scăzut atât gradul de retenție cât și eficiența incluziunii uleiului esențial de cimbru în  $\beta$ -ciclodextrină.

În ceea ce privește structura SEM, complexul de incluziune TEO/ $\beta$ -CD a prezentat structuri cristaline monoclinice tipice, cu dimensiuni cuprinse în domeniul 5-10  $\mu\text{m}$ .

În ceea ce privește gradul de eliberare, se poate observa că IC1 și IC2 prezintă o rată de eliberare identică în timp ce IC3 înregistrează o întârziere în eliberarea TEO.

Toate microorganismele testate sunt sensibile la uleiul de cimbru neîncapsulat, diametrele de inhibiție variind între 4,6 cm (*L. monocytogenes*)- 2,87 cm (*R. glutinis*) - 5,30 cm (*B. cereus*). În schimb, TEO încapsulat sub forma de complex de incluziune a afișat o activitate inhibitorie semnificativ redusă ( $p > 0,05$ ) în comparație cu TEO neîncapsulat. Niciun IC nu are activitate inhibitorie satisfăcătoare conform clasificării de mai sus, cu excepția IC2 care a prezentat o activitate antibacteriană de  $1,20 \pm 0,24$  cm în diametru, față de *B. cereus*, semnificativ diferită ( $p < 0,05$ ) de toate celelalte zone de inhibare IC. IC1 a avut cea mai mare activitate antifungică, cu un diametru de inhibiție de  $0,97 \pm 0,11$  cm, foarte aproape de valorile prag considerate activitate inhibitorie relevantă. IC3 a avut cea mai scăzută activitate inhibitorie pentru toate cele trei microorganisme testate.

## 6. Obținerea și caracterizarea filmelor obținute prin adăugarea complexului de incluziune ulei esențial de cimbru încapsulat în $\beta$ -ciclodextrină (EF/IC) pentru creșterea funcționalității acestora

### 6.1. Introducere

Tehnologia de încapsulare ar putea fi o soluție atât pentru protejarea compușilor bioactivi din EF, cum ar fi EO, cât și pentru eliberarea lor controlată pentru a îmbunătăți siguranța alimentară.

EF pot fi funcționalizate cu EO, sau combinate cu alți biopolimeri pentru a forma materiale compozite cu proprietăți îmbunătățite. Pentru a reduce pierderea compușilor volatili din uleiul esențial de cimbru (TEO), care au un puternic efect antibacterian datorită conținutul ridicat de terpeni (*Bai și colab., 2022*), antifungic și activitate antioxidantă bună (*Almasi și colab, 2021; Bleoancă și colab., 2020; Aziz și colab, 2018; Bleoancă și colab., 2016*), acesta a fost încapsulat în  $\beta$ -CD înainte de a fi introdus în EF.

### 6.2. Obiectivele studiului

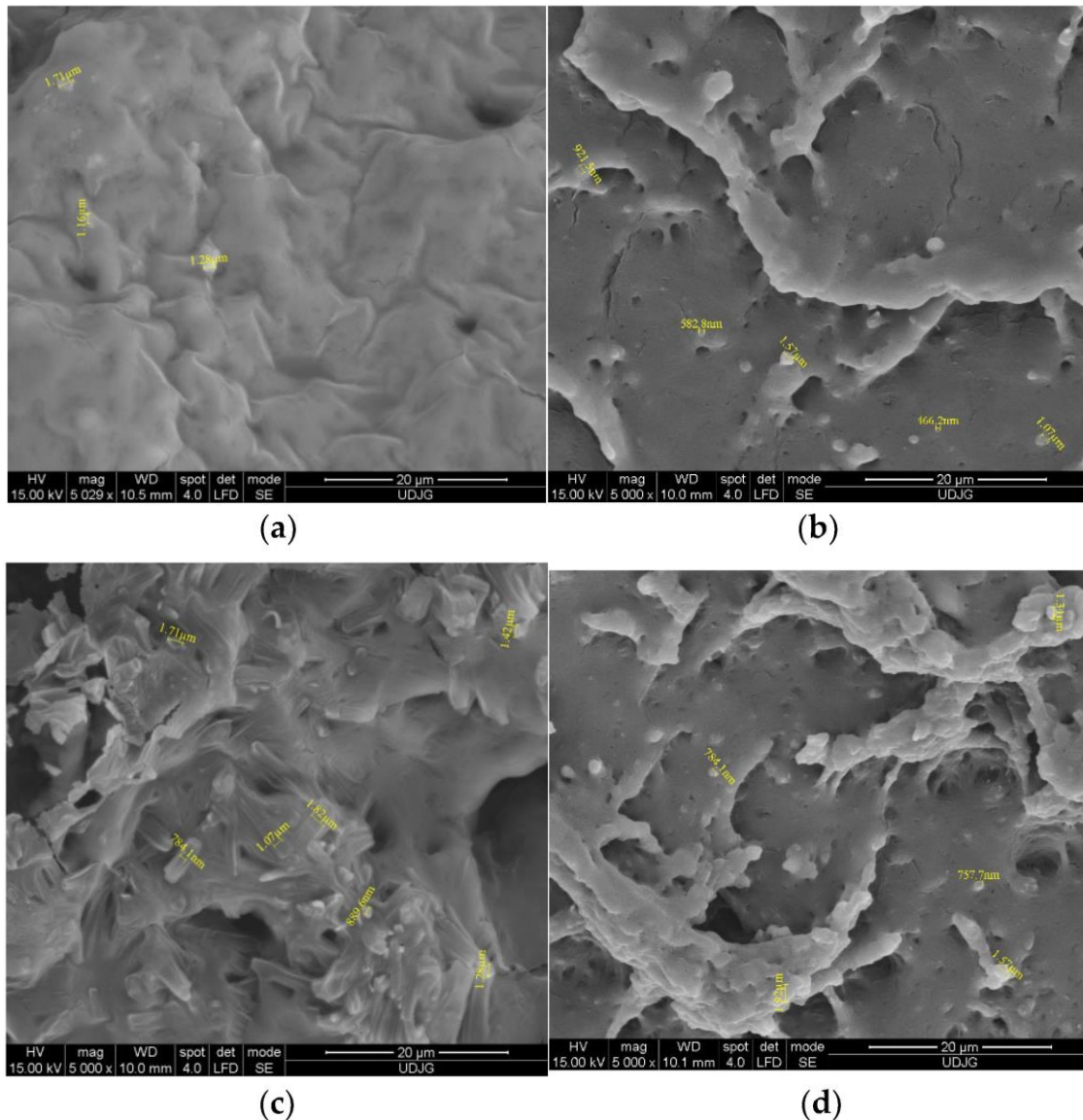
Obiectivul studiului actual a fost de a obține, de a caracteriza și de a compara proprietățile morfologice și fizice ale EF din zer, funcționalizate cu TEO încapsulat sub forma a trei variante de complexe de incluziune (EF/IC1, EF/IC2, EF/IC3) față de EF cu TEO neîncapsulat (EF/TEO).

Au fost determinate proprietățile antimicrobiene și antioxidante ale EF/IC precum și eliberarea substanțelor volatilele din EF în doi simulanți.

#### 6.4. Rezultate și discuții

##### Evaluarea microstructurii filmelor prin microscopie electronică de scanare

Evaluarea microstructurii filmelor prin scanarea secțiunilor transversale ale EF/TEO (**Figura 6.1.a**) indică prezența picăturilor TEO ca sfere luminoase în matricea EF întunecată, cu un diametru mediu de  $1,38 \pm 0,24 \mu\text{m}$ . În timpul interacțiunii fasciculului de electroni și datorită naturii chimice diferite, TEO, IC și EF apar în diverse morfologii și tonuri de gri în imaginile SEM. Prin urmare, pot fi observate trei tipuri de structuri: componente TEO ca sfere mai albe (**Figura 6.1.a**) și incluziunile IC ca tije (**Figura 6.1.c**) cu structura cristalină, încorporate în matricea filmului ca o peliculă continuă, omogenă (structură amorfă).

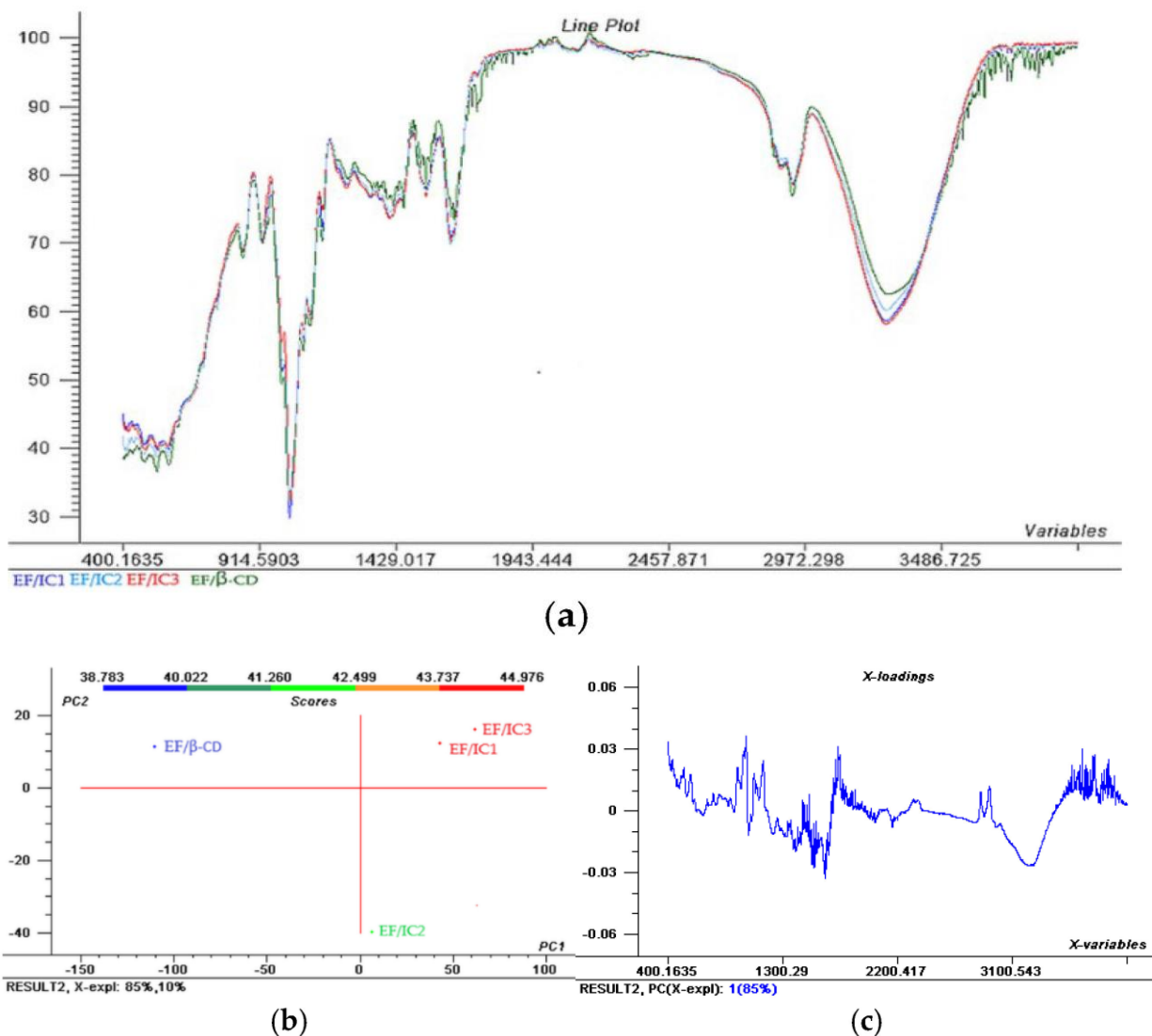


**Figura 6.1.** Analiza SEM a filmelor EF/TEO (a) și a filmelor EF/IC1 (b), EF/IC2 (c) și EF/IC3 (d).

Evaluarea SEM a secțiunii transversale a EF/IC (**Figura 6.1.b–d**) a relevat prezența structurilor cristaline monociclice tipice, caracteristice materialului încapsulant  $\beta$ -CD. Complexele de incluziune au diametre cuprinse între 466,20 nm (IC1) și 1,92  $\mu\text{m}$  (IC3), majoritatea având un diametru de 1 nm. **Figura 6.1.c** prezintă cel mai bine secțiunea transversală a EF/IC2, cu numeroase nanostructuri de încapsulare, dreptunghiulare dar și sfere de TEO.



## Caracterizarea materialelor componente ale filmelor prin spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier



**Figura 6.2.** Spectrele FTIR aliniate (a) și analiza PCA a scorurilor cu reprezentarea celor două componente principale (PC1 și PC2) pentru EF/IC1, EF/IC2, EF/IC3 și control EF/β-CD, (b); și contribuția spectrelor la structura (*Loadings*) pentru EF/IC1 (c)

La  $3293\text{ cm}^{-1}$  toate picurile largi corespund legăturii O–H în filmele EF/IC1, EF/IC2, EF/IC3 și EF/β-CD, așa cum se observă în **Figura 6.2.a**. Cea mai mare intensitate a legăturilor O–H au fost prezente în EF/IC3 și EF/IC1, sugerând un număr mai mare de legături O–H în comparație cu EF/IC2, în timp ce cele mai puține legături O–H au fost găsite în filmele cu β-CD, considerate martor.

Scorurile din **Figura 6.2.b** arată că cea mai mare parte a variației este explicată de PC1 (85 %) și 10 % este explicată de PC2. În cadranul 1, sunt poziționate EF/IC1 și EF/IC3 care prezintă multe asemănări ale întregului spectru FTIR, în timp ce în cadranul 2, controlul EF/β-CD are caracteristici diferite. Interesant este că EF/IC2 prezintă un spectru diferit față de EF/IC1 și EF/IC3, fiind poziționat într-un cluster diferit, în cadranul 4 care ar putea sugera mai puține grupuri funcționale libere datorită unei mai bune interacțiuni cu compoziția biopolimerică EF.

## Determinarea grosimii

Filmele obținute în această lucrare au avut grosimi cuprinse între 0,362 și 0,370 mm, fără diferențe semnificative ( $p > 0,05$ ), comparabile cu filmele produse cu izolat proteic din zer (WPI) cu valori între 0,43 și 0,46 mm (Socaciu, 2020).

**Tabelul 6.1. Grosimea, substanța uscată și activitatea apei**

Film	Grosimea (mm)	SU (%)	$a_w$
EF/IC1	0,362 ± 0,034 <sup>b</sup>	84,467 ± 8,393 <sup>a</sup>	0,533 ± 0,052 <sup>c</sup>
EF/IC2	0,370 ± 0,038 <sup>b</sup>	83,661 ± 8,402 <sup>a</sup>	0,552 ± 0,051 <sup>c</sup>
EF/IC3	0,366 ± 0,035 <sup>b</sup>	83,565 ± 8,326 <sup>a</sup>	0,539 ± 0,054 <sup>c</sup>
EF/TEO	0,314 ± 0,033 <sup>b</sup>	82,296 ± 8,224 <sup>a</sup>	0,507 ± 0,054 <sup>c</sup>

\*) Valorile obținute sunt media ± SD a trei repetări independente. Diferite litere obținute prin metoda ANOVA și testul post-hoc Tukey la  $p < 0,05$  indică diferențe semnificative între probe.

## Determinarea substanței uscate

Substanța uscată (SU) este o caracteristică importantă a filmelor în evaluarea performanței filmului, deoarece o valoare scăzută a substanței uscate și, implicit, o valoare mare a umidității filmului, poate modifica proprietățile filmului și mai ales a alimentelor acoperite de film, datorită migrării sau transferului de umiditate (Othman și colab., 2017).

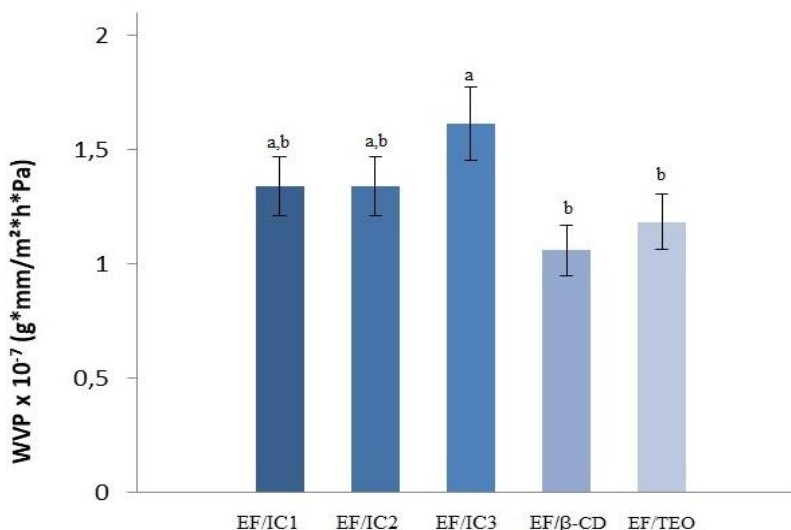
După cum se poate observa în **Tabelul 6.1.** conținutul de SU al filmului EF/TEO a fost de 82,296 ± 8,224 %, în timp ce SU crește odată cu adăugarea IC-urilor în film. SU a filmelor cu IC are valori apropiate, fără diferențe semnificative ( $p > 0,05$ ).

## Determinarea activității apei

Rezultatele obținute sunt prezentate în **Tabelul 6.1.**

## Determinarea permeabilității la vaporii de apă

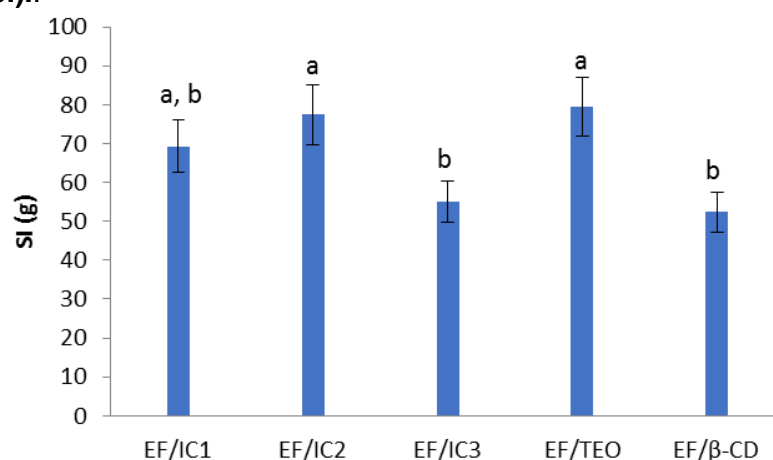
EF/IC1 și EF/IC2 au o permeabilitate mai mare la vaporii de apă cu 13 % față de EF/TEO, EF/IC3 cu 36 %, această probă fiind diferită semnificativ față de EF/TEO, iar EF/β-CD are o permeabilitate cu 11 % mai mică în comparație cu EF/TEO (**Figura 6.4.**).



**Figura 6.4.** Permeabilitatea la vaporii de apă a filmelor EF/IC1, EF/IC2, EF/IC3, EF/TEO și EF/β-CD. Valorile obținute sunt media ± SD a trei analize. Literele diferite obținute prin metoda ANOVA și testul post-hoc Tukey la  $p < 0,05$  indică diferențe semnificative între probe.

### Determinarea indicelui de umflare

Valorile calculate arată că filmele analizate au un comportament similar față de indicele de umflare (**Figura 6.5.**).



**Figura 6.5.** Influența EO adăugat în filmele proteice sub diferite forme (complexele de incluziune IC1, IC2, IC3) și EF/ EO față de filmul cu β-CD fără ulei asupra indicelui de umflare (SI).

Valorile obținute sunt media ± SD a trei analize. Literele diferite obținute prin metoda ANOVA și testul post-hoc Tukey la  $p > 0,05$  nu indică diferențe semnificative între probe.

### Determinarea opacității și transmitanței filmelor

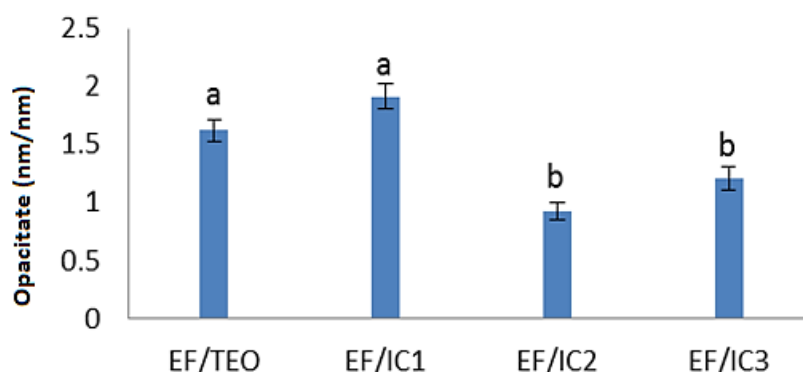
Deoarece valorile transmitanței au fost sub 90 % în toate formulele, toate filmele pot fi considerate semi-transparente. (*Socaciu și colab., 2020*).

**Tabelul 6.2.** Transmitanța filmelor (%) la diferite lungimi de undă (nm). Efectul asupra transmitanței a uleiului esențial TEO adăugat în filme încapsulat sub formă de IC, în comparație cu filmul cu TEO neîncapsulat

EFs \ λ(nm)	450	500	550	600	650
EF/TEO	23,08 ± 2,25 <sup>c</sup>	24,79 ± 2,42 <sup>c</sup>	26,03 ± 2,55 <sup>c</sup>	27,21 ± 2,62 <sup>c</sup>	28,29 ± 2,82 <sup>c</sup>
EF/ IC1	20,31 ± 2,01 <sup>c</sup>	22,53 ± 2,15 <sup>c</sup>	24,43 ± 2,32 <sup>c</sup>	26,11 ± 2,45 <sup>c</sup>	27,47 ± 2,64 <sup>c</sup>
EF/ IC2	37,11 ± 3,65 <sup>a</sup>	40,85 ± 4,01 <sup>a</sup>	44,04 ± 4,37 <sup>a</sup>	46,42 ± 4,55 <sup>a</sup>	48,46 ± 4,71 <sup>a</sup>
EF/ IC3	29,51 ± 2,84 <sup>b</sup>	32,34 ± 3,01 <sup>b</sup>	34,81 ± 3,32 <sup>b</sup>	36,72 ± 3,51 <sup>b</sup>	38,27 ± 3,61 <sup>b</sup>
EF/β-CD	15,56 ± 1,52 <sup>d</sup>	17,11 ± 1,68 <sup>d</sup>	18,22 ± 1,93 <sup>d</sup>	19,32 ± 2,10 <sup>d</sup>	20,30 ± 1,95 <sup>d</sup>

Valorile obținute sunt media ± SD a trei analize. Diferite litere obținute prin metoda ANOVA și testul post-hoc al lui Tukey la  $p < 0,05$  indică diferențe semnificative între probe.

Opacitatea filmului EF/IC2 are cea mai mică valoare în comparație cu celelalte filme analizate. Opacitatea mai mare în cazul EF/IC1 se poate datora unui număr mai mare de molecule de β-CD încărcate sau neîncărcate cu molecule de ulei, uleiul rămas la suprafață favorizând trecerea luminii. Cu toate că a crescut concentrația de pudră din filme, opacitatea nu a crescut, ci a scăzut în filmele EF/IC2 și EF/IC3 probabil pentru că, rămânând o parte din TEO la suprafață, acesta a scăzut opacitatea filmelor, nefiind însă diferențe semnificative ( $p > 0,05$ ) între EF/IC2 și EF/IC3. (**Figura 6.6.**).



**Figura 6.6.** Opacitatea filmelor EF/TEO, EF/IC1, EF/IC2 și EF/IC3

Valorile obținute sunt media  $\pm$  SD a trei analize. Diferite litere obținute prin metoda ANOVA și testul post-hoc al lui Tukey la  $p < 0,05$  indică diferențe semnificative între probe.

### Determinarea activității antimicrobiene a filmelor

Toate EF cu TEO neîncapsulat au avut un efect antimicrobian față de microorganismele testate, cu diametrele de inhibiție variind de la 20,71 mm (*R. glutinis*) la 47,57 mm (*G. candidum*), cu valori semnificativ diferite (**Tabelul 6.3.**).

**Tabelul 6.3.** Zonele de inhibiție ale EF cu TEO neîncapsulat (martor) și TEO încapsulat (IC1, IC2, IC3) față de microorganismele test.

Proba Microorganismele	Zona de inhibiție (mm)			
	Control EF/TEO	EF/ IC1	EF/IC2	EF/IC3
<i>B. cereus</i>	38,99 $\pm$ 0,36 <sup>a,A</sup>	34,09 $\pm$ 0,51 <sup>a,B</sup>	33,47 $\pm$ 0,24 <sup>a,B</sup>	33,98 $\pm$ 0,40 <sup>a,B</sup>
<i>G. candidum</i>	47,57 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>	ND <sup>**</sup>	ND	ND
<i>R. glutinis</i>	20,71 $\pm$ 0,41 <sup>c,A</sup>	15,63 $\pm$ 0,64 <sup>b,B</sup>	14,20 $\pm$ 0,62 <sup>b,B</sup>	16,44 $\pm$ 0,40 <sup>b,C</sup>

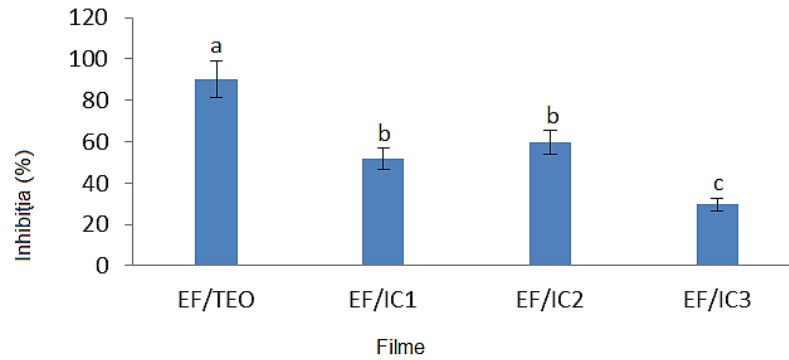
\* Diferite litere cu majuscule mici indică diferențe semnificative ( $p < 0,05$ ) pe coloane și majuscule pe rânduri, estimate prin ANOVA unifactorială și testul Tuckey post-hoc; \*\*ND-nedetecat. Rezultatele sunt media  $\pm$  SD a trei teste independente, exprimate în mm.

Activitatea antimicrobiană a compușilor încapsulați este de obicei mai mare decât cea a compușilor sub formă liberă (*Matouskova și colab., 2016*), dar există și excepții (*Bilenler și colab., 2015*), precum este și acest caz.

Efectul antimicrobian al EF/CD-TEO a fost clasificat ca fiind puternic pentru zone de inhibiție mai mari sau egale cu 20 mm, moderat pentru zone de inhibiție cuprinse între 12 mm și 20 mm și fără efect inhibitor pentru zone de inhibiție mai mici de 20 mm (*Rao și colab., 2019*).

### Activitatea antiradicalică a filmelor

A fost analizată proprietatea antiradicalică a filmului EF/TEO și a filmelor cu IC, cu concentrații crescătoare de TEO încapsulat (**Figura 6.7.**).



**Figura 6.7.** Activitatea antiradicalică a filmelor EF/TEO, EF/IC1, IC2, EF/IC3.

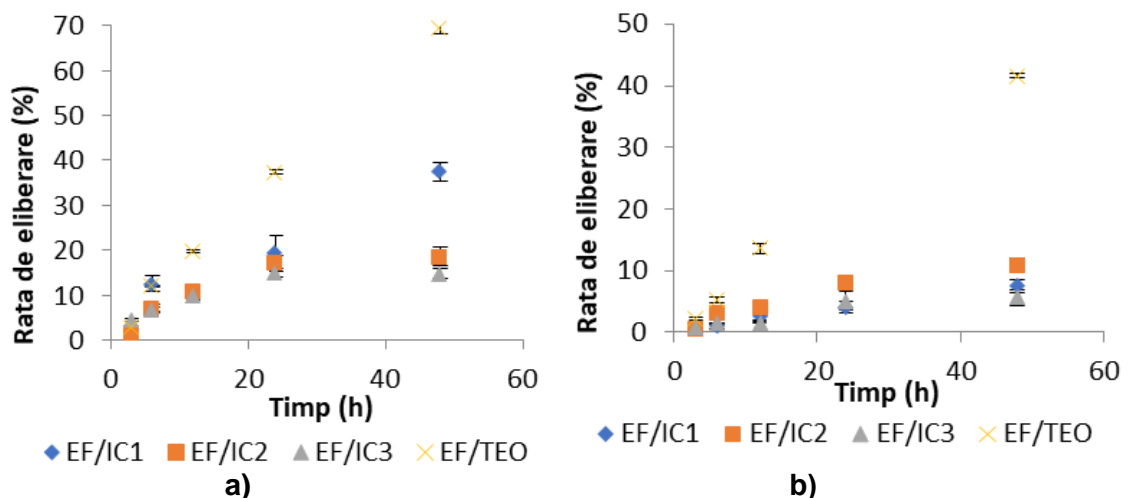
Valorile obținute sunt media  $\pm$  SD a trei analize. Literele diferite obținute prin metoda ANOVA și testul post-hoc al lui Tukey la  $p < 0,05$  indică diferențe semnificative între probe.

Filmul care conține TEO liber, EF/TEO, a avut cea mai bună activitate antiradicalică (82,11 %), datorită concentrației mai mari de fenoli. Cea mai mare activitate antiradicalică obținută de EF/IC a fost obținută de EF/IC2, cu o valoare a inhibiției de  $51,73 \pm 5,96$  %, urmată de IC1 cu o inhibiție de  $43,82 \pm 43,82$  % și de IC3 cu o inhibiție de  $21,53 \pm 2,93$  %. Proportia de TEO încapsulat în  $\beta$ -CD a influențat semnificativ această proprietate. Valoarea inhibiției EF/IC2, a fost cea mai apropiată de cea a EF/TEO.

### Testul de eliberare al TEO din EF în simulanți alimentari

S-au folosit doi simulanți alimentari (etanol 95 % și apă) cu polarități diferite pentru a studia eliberarea de compuși volatili (VOC) încapsulați în  $\beta$ -CD din EF. Difuzia are loc, mai întâi, prin migrarea soluției în exteriorul matricei polimerice, care produce o slăbire a rețelei, urmată de difuzarea VOC în soluția exterioară. Procesul se desfășoară până la atingerea echilibrului termodinamic (Sanchez și colab, 2011).

După cum se poate observa în **Figura 6.8.a**, difuzia este mai intensă în soluția etanolică decât în apă (**Figura 6.8.b**), unde procesul are loc într-un ritm mai lent. Rata de eliberare după 48 de ore, la 25 °C, în apă, atinge aproape 40 % în comparație cu aproape 70 % în etanol. Timpul până la atingerea unui cvasi-echilibru în etanol, ca simulant, din EF/IC menținut la 25 °C, este de aproximativ 24 de ore și, după 48 de ore, filmele au început să se deterioreze lent în soluția simulant.



**Figura 6.8.** Cinetica de eliberare a VOC din EF/IC la 25 °C în doi simulanți: (a) în etanol 95 % și (b) în apă distilată. Valorile reprezentate în grafice sunt media a trei repetări independente.

## 6.5. Concluzii

Analiza microstructurii filmelor a indicat prezența în filme a complexelor de incluziune cu diametre în domeniul nanometrilor.

Filmul EF/IC2 a avut cele mai mari valori ale transmitanței la toate lungimile de undă măsurate, ceea ce semnifică o transparență bună și un potențial mai mare de aplicabilitate ca filme comestibile, în industria alimentară, pentru alimente în culori deschise, comparativ cu celelalte complexe de incluziune. De asemenea, opacitatea sa este cea mai mică, în comparație cu celelalte filme analizate.

Rezultatele raportate indică faptul că filmele comestibile cu IC ar putea proteja principalele substanțe volatile active cu acțiune împotriva bacteriilor și drojdiilor, dar care prezintă și o bună activitate antioxidantă. Filmele cu TEO neîncapsulat prezentat WVP mai scăzută decât filmele cu TEO încapsulat în  $\beta$ -CD.

Spectrele FTIR au arătat că EF/IC-urile au picurile de vibrație diferite în comparație cu EF cu  $\beta$ -CD. Rezultatele raportate indică faptul că filmele comestibile cu IC ar putea proteja alimentele prin activitatea antimicrobiană, dar prezintă și o bună activitate antioxidantă. Cu toate acestea, a existat o reducere semnificativă a activității antifungice în filmele cu TEO/ $\beta$ -CD comparativ cu EF/TEO. Încapsularea a permis o reținere mai bună a substanțelor volatile în structura filmului și o eliberare treptată a substanțelor volatile, cu viteze de eliberare mai lente în apă decât în soluția de etanol 95 %.

Nu s-au observat diferențe semnificative între cele trei formule de filme studiate în ceea ce privește indicele de umflare, WVP și activitățile antimicrobiene și antioxidante, probabil datorită interacțiunilor dintre biopolimerul pe bază de zer și complexii de incluziune TEO/ $\beta$ -CD.

Aceste filme ar putea fi folosite ca ambalaje pentru matrici alimentare compatibile, adică în industria brânzeturilor, unde ar putea exercita o activitate antioxidantă și antimicrobiană protectoare împreună cu un rol aromatizant.

## 7. Funcționalizarea și îmbunătățirea proprietăților mecanice ale filmelor biocompozite, utilizând metoda de electrofilare

### 7.1. Introducere

Acidul polilactic (PLA) este unul dintre cele mai promițătoare materiale din surse regenerabile, deoarece are proprietăți termoplastice, este biodegradabil, biocompatibil și are rezistență ridicată și procesabilitate bună. PLA este un poliester alifatic, cu proprietăți termoplastice, produs prin fermentarea bacteriană a resurselor regenerabile vegetale, cum ar fi amidonul de porumb, trestia de zahăr, rădăcinile de tapioca și amidonul de cartofi. Fibrele electrofilate din PLA pot fi folosite ca strat suplimentar într-un sistem de ambalare multistrat pentru a îmbunătăți proprietățile mecanice și funcționale ale ambalajului. PLA are proprietăți unice, cum ar fi biocompatibilitatea și non-toxicitatea (*Suner și colab, 2022*).

Nanofibrele sunt o nouă clasă de materiale care prezintă proprietăți unice, cum ar fi raportul suprafața-volum mare, grosime redusă și dimensiunea mică a porilor în comparație cu fibrele uzuale. Electrofilarea este o tehnică utilizată datorită simplității, versatilității, rentabilității și, de asemenea, capacității de a fi o gamă largă de polimeri sintetici și naturali cu diametre la scară nanometrică (*Parin și colab., 2021*).

Sistemele multistrat reprezintă o alternativă promițătoare pentru aplicațiile de ambalare datorită efectului sinergic al materialelor utilizate.

Filmele biocompozite formate din două straturi, unul din proteine din zer și altul din acid polilactic (PLA), ar putea oferi o rezistență mecanică mai mare și proprietăți de barieră mai bune în comparație cu filmele monostrat. În plus, este bine cunoscut faptul că filmele monostrat pe bază de proteine din zer nu pot fi utilizate în aplicațiile de ambalare ca ambalaje de sine stătătoare din cauza fragilității lor și a premeabilității mari față de apă.

## 7.2. Obiectivele studiului

Obiectivele specifice ale acestei cercetări sunt:

- Obținerea filmelor pe bază de concentrat proteic din zer funcționalizate cu ulei esențial de cimbru (WF/TEO) și caracterizarea acestora.
- Obținerea filmelor biocompozite (WF/G) prin aplicarea unui strat de nanofibre din PLA, de diferite densități, obținute la diferite durate de electrofilare, pe o parte a filmelor din concentrat proteic din zer funcționalizate cu TEO și caracterizarea filmelor obținute. Acoperirea filmelor WF/TEO cu fibre PLA obținute prin electrofilare a fost realizată utilizând timp diferit, 90, 150, 210 min- folosind o pompă și un singur ac și 210 min- folosind un sistem de electrofilare *față-în-față* (două ace și două pompe), filmele obținute fiind codificate WF/G1, WF/G2, WF/G3 și, respectiv, WF/G4.

### 7.3.2. Obținerea filmelor biocompozite

Filmele biocompozite s-au obținut în două etape principale:

- a) Obținerea filmelor proteice cu ulei esențial de cimbru cu timol neîncapsulat în proporție de 3 %, s-a realizat conform protocolului descris în **capitolul 6.3.2.**
- b) Acoperirea filmelor proteice obținute în etapa a) cu fibre PLA prin electrofilare

Filmele din proteine din zer au fost obținute prin turnare urmând protocolul publicat de [Lanciu și colab. \(2023\)](#), ușor modificat. Soluțiile filmogene au fost funcționalizate cu TEO (3 % g/g) datorită proprietăților antimicrobiene și antiradicalice ([Nieto și colab., 2020](#)). Acest ulei esențial a fost ales datorită conținutului ridicat de carvacrol, timol și p-cimen și alte terpenoide bine cunoscute cu proprietăți antimicrobiene, ținând cont de concentrația eficientă arătată în alte cercetări similare efectuate de grupul nostru ([Bleoanca și colab., 2022](#); [Bleoanca și colab., 2020](#); [Bleoanca și colab., 2016](#); [Lanciu și colab., 2023](#)). Tratamentul de sonicare, procesul de degazare și metoda de uscare au fost similare cu protocolul publicat descris de [Lanciu și colab. \(2023\)](#).

Peleții de PLA (10 % w/w) au fost solubilizați într-un amestec 3:1 cloroform: acetonă. Solubilizarea s-a produs sub agitare magnetică, la 50 °C și 250 rpm, până la solubilizarea completă obținându-se o soluție vâscoasă. Procesul de electrofilare a fost realizat folosind o unitate de electrofilare Nanofiber (TL-Pro-BM, Tong Li Tech, China) la temperatura camerei de 22 ± 1 °C și umiditate relativă de 30 ± 5 %.

Pentru electrofilarea soluției PLA s-au folosit seringi de 25 mL și ace de oțel de calibru 19, conectate la electrodul încărcat pozitiv, care a fost alimentat de un furnizor de curent continuu de înaltă tensiune. Filmele din zer au fost fixate pe un colector și soluția de PLA a fost alimentată direct sub forma unui strat fibros, la un debit de 0,5 ml/h. A fost utilizat un glisor orizontal în mișcare pentru filare, cu o viteză de scanare de 20 mm/s. Ceilalți parametri de electrofilare care au fost selectați: viteza de rotație a colectorului 20 rpm, tensiunea aplicată: (+) 15 kV, (-) 8kV. Distanța dintre colector și ac a fost de 30 cm distanță între vârful acului și colector și înclinația de 75° față de generatorul colectorului tambur.

S-au obținut 4 formule de filme (**Figura 7.2.**) folosind un timp diferit de electrofilare, cu o pompă pornită: WF/G1 (90 min., 1 pompă), WF/G2 (150 min., 1 pompă), WF/G3 (210 min., 1 pompă) și, într-un canal dublu configurat independent, cu două pompe cu seringi *față în față*, îndreptate către fiecare parte a colectorului, WF/G4 (210 min., 2 pompe).

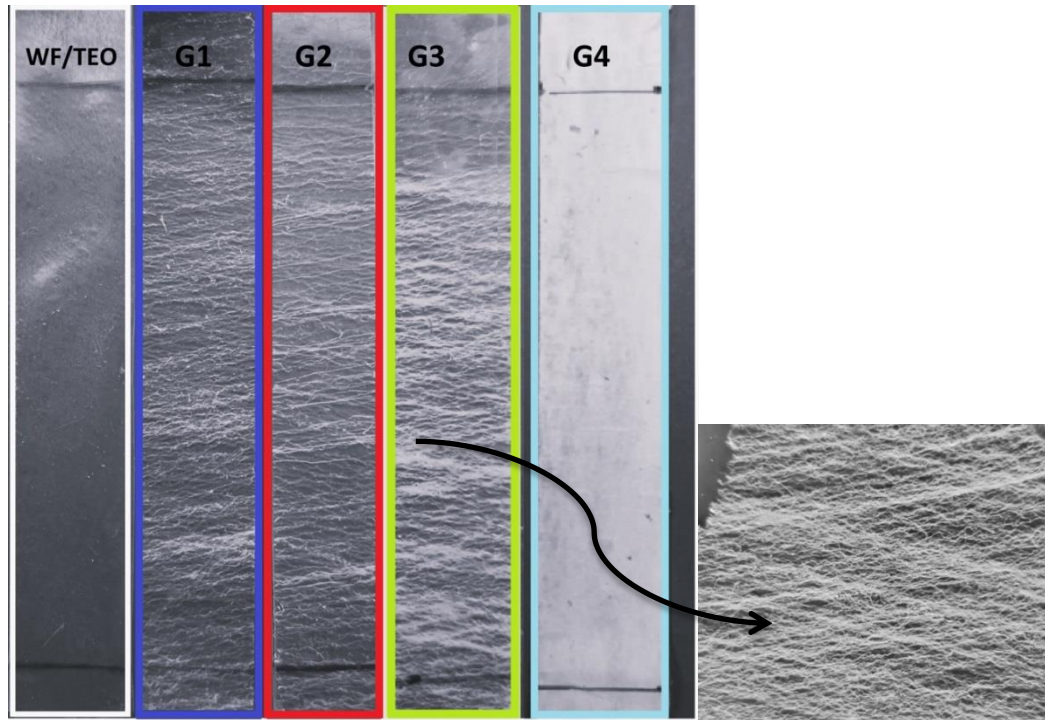


Figura 7.2. Filmul fără acoperire WF/TEO și filmele bistrat WF/G1-G4 strat întrețesut de PLA

### 7.3. Rezultate și discuții

#### Evaluarea microstructurii filmelor biocompozite prin SEM

Prin electrofilare se obțin fibre, iar diametrul fibrei poate fi influențat de mai mulți factori, cum ar fi tipul de polimer, structura conformațională a lanțului polimeric, conductivitatea electrică, vâscozitatea, polaritatea și tensiunea superficială (Aydogdu și colab., 2019).

Imaginea în secțiune a filmelor indică grosimi diferite ale stratului fibros PLA pentru filmele WF/G1, WF/G2, WF/G3 și WF/G4 cu următoarele valori:  $9,623 \pm 2,857 \mu\text{m}$ ,  $11,122 \pm 0,527 \mu\text{m}$ ,  $20,325 \pm 1,147 \mu\text{m}$  și  $69,905 \pm 2,347 \mu\text{m}$  (Figura 7.5.).

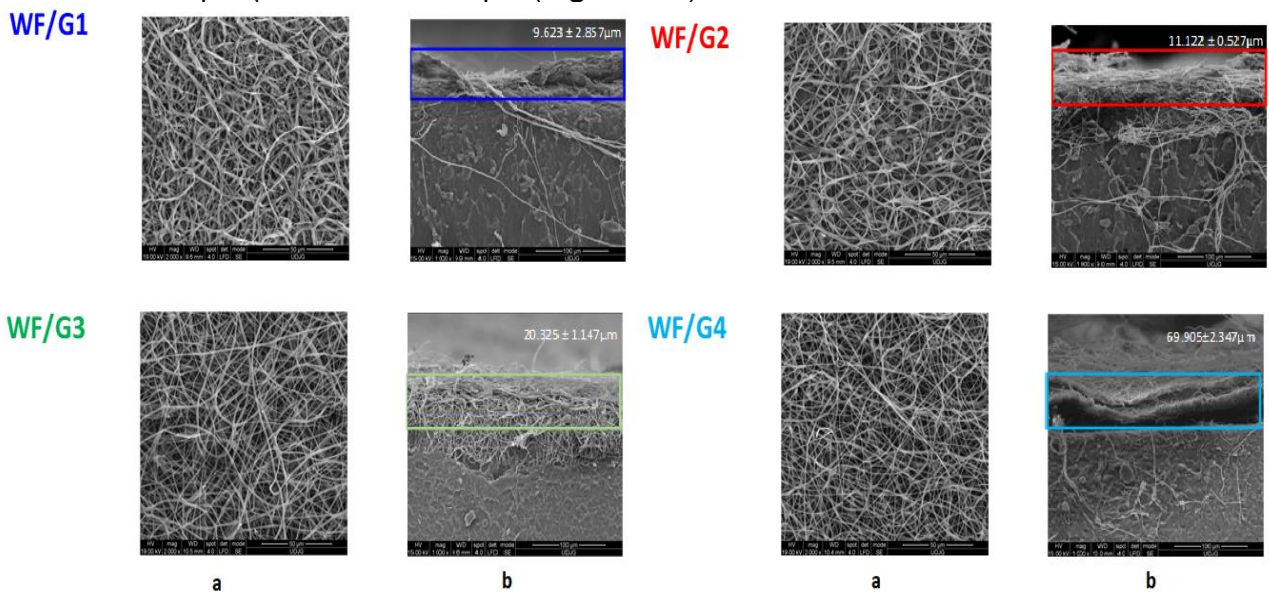


Figura 7.5. Analiza morfologică a straturilor de fibre WF/ G1 – G4. (a) vedere de sus a fibrelor mat; (b) secțiune transversală cu grosimea estimată a stratului PLA dată ca medie ± abatere standard.



Se observă că în cazul filmelor WF/G1-4 valorile stratului nanofibros PLA sunt crescătoare. Comparativ cu WF/G4, WF/G1 are o grosime a stratului PLA de 7,26 ori mai mică, WF/G2 de 6,28 ori mai mică, iar WF/G3 de 3,43 ori mai mică, rezultatele corelându-se cu creșterea timpului de electrofilare de la WF/G1 la WF/G3 și cu introducerea unei noi pompe cu seringă pentru WF/G4, cu păstrarea timpului de 210 min de electrofilare.

În acest studiu, toate fibrele din PLA au avut o structură omogenă, fără aglomerări, cu forme sferoide (**Figura 7.5.**), deci putem afirma că au fost atinse condiții adecvate de electrofilare. Evaluarea SEM a suprafeței filmelor biocompozite a relevat faptul că fibrele PLA au o formă cilindrică cu o suprafață netedă și un diametru mediu Feret, prezentat în **Figura 7.5.b**, care a variat de la  $3,294 \pm 1,885 \mu\text{m}$  pentru WF/G1 la  $0,2291 \pm 0,1687 \mu\text{m}$  pentru WF/G4, dar sunt prezente aleatoriu și nanofibre cu diametrul de 800 nm.

Imaginea SEM prezintă stratul nanofibros întretesut. Prin urmare, tehnica de electrofilare poate fi utilizată pentru a produce nanofibre cu diametre uniforme.

### Caracterizarea materialelor componente ale filmelor biocompozite prin FTIR

Pentru a putea analiza mai bine spectrele, acestea au fost separate în două intervale: a) regiunea analitică peste  $1500 \text{ cm}^{-1}$  și b) regiunea amprente FTIR de la 600 la  $1500 \text{ cm}^{-1}$  lungime de undă. Pentru regiunea lungimii de undă de peste  $1500 \text{ cm}^{-1}$  are o structură caracteristică diferită față de celelalte filme biocompozite, și anume WF/G1, WF/G2 și WF/G3. Vibrațiile înregistrate în spectrul WF/G4 sunt mai strâns legate de spectrul PLA decât de G1, G2 și G3, care sunt mai aproape de spectrul WF/TEO. Acest lucru poate fi observat din analiza PCA cu două componente principale care explică 99% din totalul varianței.

Prin analiza PCA, variația totală a fost explicată de două componente. Componenta principală PC1, care explică cea mai mare parte a variației sistemului (91 %), pe abscisă, în timp ce PC2, plasată în ordonată explică doar 8 % din variația totală. Din graficul scorului au rezultat două cluster, unul în care sunt grupate WF/G4 și PLA și unul cu WF/G1, WF/G2, WF/G3 și WF/TEO, grupate în același cadran. Astfel, se poate afirma că odată ce grosimea structurii fibroase PLA este mai mare, spectrele sunt mai puțin influențate de proteinele din zer și TEO prezente în structura compozitelor și mai mult influențate de proprietățile PLA.

### Determinarea grosimii

Filmel biocompozite au obținut grosimi cuprinse între  $0,404 \pm 0,01 \text{ mm}$  și  $0,468 \pm 0,01 \text{ mm}$  (**Tabelul 7.1.**) fără diferențe semnificative între probe ( $p > 0,05$ ).

**Tabelul 7.1.** Grosimea, conținutul de umiditate și solubilitatea în apă a filmelor

Film	Grosimea (mm)	MC (%)	Solubilitatea în apă (%)
WF/TEO	$0,369 \pm 0,01^c$	$49,14 \pm 1,85^a$	$81,33 \pm 6,45^a$
WF/G1	$0,404 \pm 0,01^a$	$48,59 \pm 3,15^a$	$80,66 \pm 7,23^a$
WF/G2	$0,404 \pm 0,01^a$	$40,36 \pm 2,62^a$	$78,15 \pm 8,22^a$
WF/G3	$0,419 \pm 0,01^a$	$41,34 \pm 4,06^{a,b}$	$66,28 \pm 6,92^a$
WF/G4	$0,468 \pm 0,01^a$	$41,13 \pm 3,27^a$	$63,67 \pm 7,04^a$

\*) Valorile obținute sunt media a trei analize  $\pm$  deviația standard (SD). Litere diferite indică diferențe semnificative între probe ( $p < 0,05$ ), conform metodei ANOVA și a testul post-hoc Tukey.

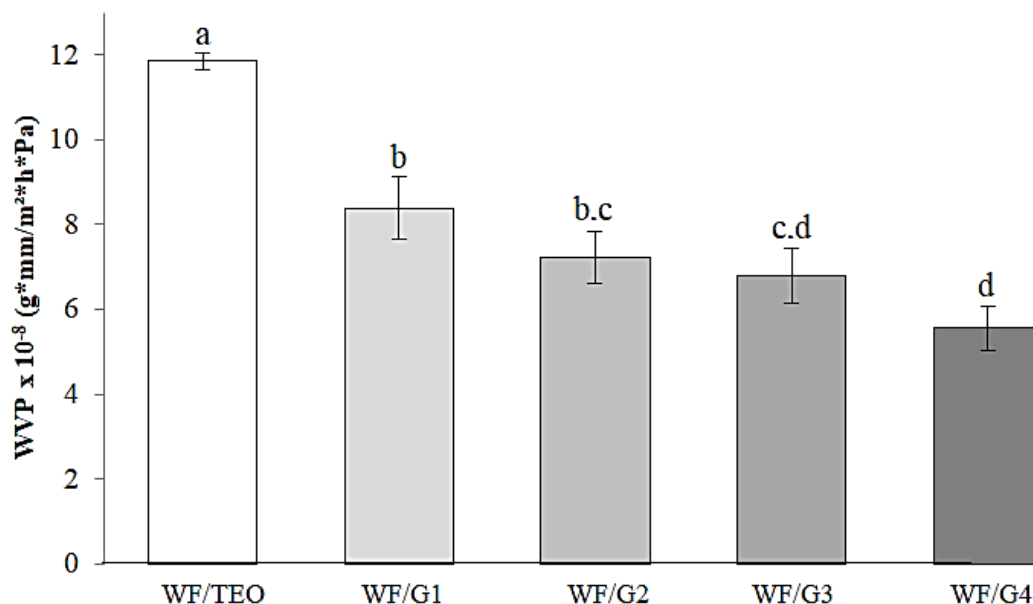
Conținutul de umiditate (MC) al filmelor obținute a variat între  $41,13 \pm 3,27$  % și  $49,14 \pm 1,85$  % (**Tabelul 7.1.**).

Valori scăzute ale solubilității în apă indică o rezistență a filmelor împotriva pătrunderii moleculelor de apă, caracteristică necesară pentru filmele comerciale (*Mohammadi și colab., 2020*). Filmele au obținut valori ale solubilității în apă cuprinse între  $63,67 \pm 7,04$  % și  $81,33 \pm 6,45$  % (**Tabelul 7.1.**), fără diferențe semnificative ( $p > 0,05$ ) între ele, în ciuda unei scăderi evidente a solubilității în apă, odată cu aplicarea și creșterea grosimii stratului nanofibros de PLA, de la WF/TEO la WF/G4.

### Determinarea permeabilității la vaporii de apă

Din rezultatele obținute se observă faptul că WVP a scăzut odată cu creșterea grosimii stratului de fibre PLA electrofilate (**Figura 7.7.**).

WVP a înregistrat o scădere cu 18,57% când timpul pentru electrofilare a crescut de la 90 min în WF/G1 la 210 min în WF/G3 și cu 33,73% când fibrele au fost produse cu două ace unul în fața celuilalt, timp de 210 min în WF/G4. Rezultatele obținute în acest studiu sunt în același interval cu cele raportate de *Roy și Rhim (2020)* pentru compozitele PLA/curcumină.



**Figura 7.7.** Efectul grosimii stratului nanofibros de PLA asupra permeabilității vaporilor de apă a filmelor biocompozite WF/G.

Valorile obținute sunt media a trei analize  $\pm$  SD. Literele diferite indică diferențe semnificative între probe ( $p < 0,05$ ) conform metodei ANOVA și a testului post-hoc Tukey.

### Determinarea permeabilității la gaze

În mod surprinzător, permeabilitatea la  $O_2$  nu a arătat diferențe semnificative ( $p < 0,05$ ) cu creșterea grosimii stratului de PLA (**Figura 7.8.**). Cu toate acestea, filmele pe bază de proteine din zer se caracterizează printr-o barieră excelentă împotriva oxigenului, datorită naturii lor extrem de polare și a spațiului liber mai mic dintre lanțurile polimerice în timp ce armarea cu PLA măresc proprietățile barierei.

Permeabilitatea la  $CO_2$  a scăzut odată cu creșterea grosimii stratului de PLA cu diferențe semnificative ( $p < 0,05$ ). (**Figura 7.8.**)

## Determinarea culorii și opacității

Valorile pozitive  $a^*$  și  $b^*$  prezentate în **Tabelul 7.2.** indică nuanțe de galben și roșu ale materialelor biocompozite analizate, în timp ce valorile negative pentru  $b^*$  arată prezența tonurilor de albastru doar în filmul fără PLA (WF/TEO). Pentru toți parametrii CIELab, valorile WF/TEO (controlul fără fibre) sunt semnificativ diferite de WF/G (cu fibră PLA). (**Tabel 7.2.**)

**Tabelul 7.2.** Parametrii de culoare ai filmelor biocompozite

Film	L*	a*	b*	H <sub>ab</sub> (°)	Chroma (C <sub>ab</sub> )	Opacitatea (%)
WF/TEO	45,19± 2,56 <sup>b*</sup>	0,12 0,09 <sup>b</sup>	± -0,20 0,03 <sup>d</sup>	± 120,96 10,5 <sup>a</sup>	± 0,23 0,01 <sup>d</sup>	± ND
WF/G1	64,12 4,40 <sup>a</sup>	± 1,54 0,15 <sup>a</sup>	± 6,09 0,61 <sup>a</sup>	± 75,81 3,12 <sup>b</sup>	± 6,29 0,62 <sup>a</sup>	± 58,04 5,5 <sup>b</sup>
WF/G2	63,33 3,31 <sup>a</sup>	± 1,85 0,18 <sup>a</sup>	± 5,36 0,52 <sup>a,b</sup>	± 70,96 4,13 <sup>b</sup>	± 5,67 0,57 <sup>a,b</sup>	± 62,72 6,10 <sup>b</sup>
WF/G3	64,40 3,40 <sup>a</sup>	± 1,55 0,15 <sup>a</sup>	± 4,70 0,41 <sup>b,c</sup>	± 71,75 4,19 <sup>b</sup>	± 4,95 0,49 <sup>b,c</sup>	± 69,17 7,20 <sup>a,b</sup>
WF/G4	64,23 3,04 <sup>a</sup>	± 1,71 0,17 <sup>a</sup>	± 4,00 0,42 <sup>c</sup>	± 66,85 5,47 <sup>b</sup>	± 4,35 0,42 <sup>c</sup>	± 80,44 8,10 <sup>a</sup>

Valorile obținute sunt media a trei analize ± SD. Literale diferite obținute indică diferențe semnificative ( $p < 0,05$ ) între probe, așa cum rezultă din aplicarea metodei ANOVA și a testului post-hoc Tukey

Nuanța filmelor nu diferă semnificativ, nuanța galbenă este din ce în ce mai redusă odată cu creșterea grosimii stratului PLA. A fost determinată o luminozitate cu diferențe nesemnificative ( $p > 0,05$ ) între filmele analizate iar valoarea celei mai puțin intense culori, croma (C<sub>ab</sub>\*), a fost determinată pentru WF/G4, filmul cu cel mai gros strat PLA.

Rezultatele indică faptul că opacitatea filmelor biocompozite crește cu grosimea stratului de PLA aplicat prin electrofilare (**Tabel 7.2.**). Valorile mai mari ale opacității pot reprezenta un avantaj pentru alimentele sensibile la factorii externi, spre exemplu pentru cele sensibile la acțiunea luminii, unde ar putea avea loc reacții oxidative în produsul alimentar.

Când este comparat filmul WF/G cu WF/TEO, valoarea  $\Delta E > 12$ , pentru toate probele (**Tabel 7.3.**), ceea ce sugerează diferențe semnificative de culoare față de martor (*Bleoanca și colab., 2022*). Pentru WF/G4,  $\Delta E$  variază între 1,5 -3,0 indicând o diferență semnificativă de culoare perceptibilă, care poate fi observată cu ușurință de consumatori cu ochiul liber.

**Tabelul 7.3.** Diferența de culoare ( $\Delta E$ ) a filmelor biocompozite față de WF/TEO și față de WF/G1

Probă	$\Delta E$ față de WF/TEO	$\Delta E$ față de WF/G1
WF/TEO	-	-
WF/G1	19,99 ± 1,03 <sup>a</sup>	-
WF/G2	19,05 ± 0,98 <sup>a</sup>	1,12 ± 0,0 <sup>c</sup>
WF/G3	19,98 ± 0,87 <sup>a</sup>	1,42 ± 0,02 <sup>b</sup>
WF/G4	19,56 ± 0,79 <sup>a</sup>	2,10 ± 0,04 <sup>a</sup>

Valorile obținute sunt media a trei analize ± SD. Literale diferite obținute indică diferențe semnificative ( $p < 0,05$ ) între probe, așa cum rezultă din aplicarea metodei ANOVA și a testului post-hoc Tukey.

## Determinarea activității antimicrobiene

S-a observat că filmul cu TEO a inhibat dezvoltarea microorganismelor, prezentând zone de inhibiție diferite în funcție de microorganismul testat (**Tabelul 7.4.**)

**Tabelul 7.4.** Zone de inhibiție (mm) ale filmelor cu TEO

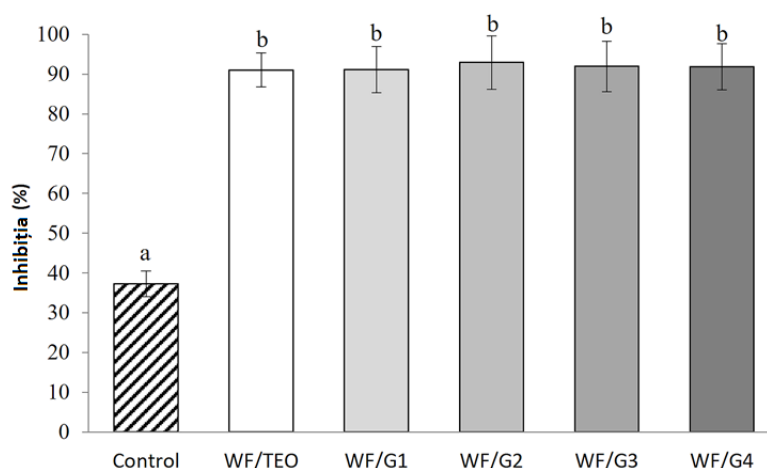
Microorganism test	WF/TEO	WF/G1	WG/G2	WF/G3	WF/G4
<i>B. cereus</i>	38,99 ± 0,36 <sup>a</sup>	37,64 ± 0,77 <sup>a</sup>	37,39 ± 0,72 <sup>a</sup>	37,53 ± 0,48 <sup>a</sup>	37,26 ± 1,07 <sup>a</sup>
<i>G. candidum</i>	45,47 ± 0,25 <sup>b</sup>	45,05 ± 0,72 <sup>b</sup>	44,87 ± 0,66 <sup>b</sup>	44,31 ± 0,22 <sup>b</sup>	44,76 ± 1,09 <sup>b</sup>
<i>R. glutinis</i>	20,71 ± 0,53 <sup>c</sup>	21,15 ± 0,35 <sup>c</sup>	20,91 ± 0,39 <sup>c</sup>	20,12 ± 0,08 <sup>c</sup>	20,51 ± 0,54 <sup>c</sup>
<i>L. monocytogenes</i>	1,00 ± 0,15 <sup>d</sup>	0,99 ± 0,02 <sup>d</sup>	0,93 ± 0,09 <sup>d</sup>	0,88 ± 0,09 <sup>d</sup>	0,88 ± 0,06 <sup>d</sup>

\*) Valorile obținute sunt media a trei analize ± SD. Literele diferite obținute indică lipsa unor diferențe semnificative ( $p > 0,05$ ), pe rânduri, între proba neacoperită (WF/TEO) și celelalte probe, așa cum rezultă din aplicarea metodei ANOVA și a testului post-hoc Tukey .

Cel mai mare efect inhibitor a fost față de *G. Candidum*, urmat de *B. cereus*, aproximativ 50% din activitatea antimicrobiană mai mare a fost înregistrată pentru *R. glutinis*.

### Determinarea activității antiradicalice

EF/TEO a prezentat o valoare a inhibiției radicalilor liberi de  $89,032 \pm 8,9$  %.



**Figura 7.9.** Activitatea antiradicalică a filmului control fără TEO și a filmului cu TEO, WF/TEO (WF/G1, WF/G2, WF/G3, WF/G4)

Valorile obținute sunt media a trei analize ± SD. Literele diferite obținute indică diferențe semnificative ( $p < 0,05$ ) între probe, așa cum rezultă din aplicarea metodei ANOVA și a testului post-hoc Tukey.

### Determinarea proprietăților de barieră ale filmelor biocompozite determinate prin cromatografie de gaze -spectrometrie de masă SPME (GC-MS)

Un număr total de 14 VOC care provin din extractul TEO au fost identificați, în mod provizoriu, utilizând biblioteca NIST în filmele WF/G. Cel mai abundent constituent ai VOC din filmele WF/G este timolul.

Faptul că odată cu creșterea grosimii stratului de PLA, difuzia compușilor volatili prin el este redusă înseamnă o protecție suplimentară împotriva pierderii TEO, și o eliberare mai lentă a compușilor activi din matricea filmului pe bază de concentrat proteic din zer funcționalizat cu TEO care ar putea duce la o protecție mai îndelungată a alimentelor acoperite de acest material compozit, în comparație cu un film monostrat cu TEO, neacoperit cu nanofibre PLA.

Proprietăți bune de barieră au fost prezentate de WF/G4, pentru care borneol, 2-caren, santolina trien au avut o difuzie foarte scăzută prin stratul PLA, în timp ce pentru majoritatea VOC, 40 până la 60 % din concentrația inițială era prezentă în faza gazoasă deasupra structurii fibroase PLA.

## Determinarea proprietăților de barieră ale filmelor biocompozite față de octanol determinată prin SPME GC/MS

Permeabilitatea 2-octanolului prin stratul de PLA a fost evaluată pentru toate probele în comparație cu martor (WF/TEO).

Reducerea considerabilă a permeabilității octanolului în toate filmele compozite (WF/G1, WF/G2, WF/G3), dar mai ales în WF/G4 în comparație cu martor, este un indicator că materialele compozite cu proprietăți bune de barieră pot fi obținute folosind fibre PLA electrofilate.

## Analiza mecanică

Proprietățile mecanice precum rezistența la tracțiune (TS), alungirea la rupere (Eb) sunt factori importanți în studierea filmelor pentru aplicațiile de ambalare. TS și Eb indică capacitatea filmelor de a menține integritatea sub stresul care apare în timpul procesării, manipulării și depozitării materialelor ambalate (*Salmieri și colab., 2014*).

Rezultatele analizei proprietăților mecanice ale filmelor biocompozite sunt prezentate în **Tabelul 7.6**. Rezultatele experimentale arată o creștere de până la 159% a rigidității cu creșterea timpului de electrofilare de la 0 la 210 min. Adăugarea unei a doua pompe a dus la o creștere considerabilă a rigidității filmului. Filmul WF/G4 are cel mai mare modul Young (5,16 ori mai mare decât WF/TEO și de aproximativ 2,0 ori mai mare decât WF/G3), iar acest lucru se explică prin faptul că grosimea stratului nanofibros PLA WF/G4 este de 3,44 ori mai mare decât a filmului WF/G3, având o contribuție semnificativă asupra rigidității.

**Tabelul 7.6.** Parametrii analizei mecanice a filmelor

Filme	Timp (s)	Modulul lui Young (MPa)	Rezistență la tracțiune Ts (MPa)	Grosimea filmului (mm)	Grosimea stratului PLA (μm)
WF/TEO	0	2,390 ± 0,040 <sup>d*</sup>	0,206 ± 0,005 <sup>c</sup>	0,369 ± 0,010 <sup>c</sup>	0
WF/G1	90	4,040 ± 1,060 <sup>c,d</sup>	0,214 ± 0,040 <sup>c</sup>	0,404 ± 0,010 <sup>b,c</sup>	9,623 ± 2,857 <sup>c</sup>
WF/G2	150	5,160 ± 1,020 <sup>b,c</sup>	0,328 ± 0,005 <sup>b</sup>	0,404 ± 0,010 <sup>b,c</sup>	11,122 ± 0,527 <sup>c</sup>
WF/G3	210	6,200 ± 0,460 <sup>b</sup>	0,374 ± 0,019 <sup>b</sup>	0,419 ± 0,010 <sup>b</sup>	20,325 ± 1,147 <sup>b</sup>
WF/G4	210	12,340 ± 0,020 <sup>a</sup>	0,557 ± 0,044 <sup>a</sup>	0,468 ± 0,010 <sup>a</sup>	69,905 ± 2,347 <sup>a</sup>

Valorile obținute sunt media a trei analize ±SD. Diferitele litere obținute indică diferențe semnificative ( $p < 0,05$ ) între probe determinate de ANOVA și testul post-hoc al lui Tukey.

Valorile modulului Young raportate în acest studiu sunt apropiate de valorile raportate pentru pelicula PLA cu 18,0 % acid lactic oligomeric utilizat ca plastifiant și 1,8 % nanoparticule de MgO (*Leonés et al., 2023*).

Pentru filmele obținute cu o seringă și o pompă, rezistența la tracțiune a crescut cu aproximativ 81,5 % odată cu creșterea timpului de electrofilare de la 0 la 210 min, așa cum se observă în **Tabelul 7.6**. Din nou, filmul WF/G4 are cea mai mare rezistență la tracțiune de aproximativ 2,70 ori mai mare decât WF/TEO și de 1,49 ori mai mare decât WF/G3, datorită stratului nanofibros de PLA.

Alungirea la rupere a fost de 1,74 ori mai mare WF/G4 decât WF/G1.

## 7.5. Concluzii

În această cercetare s-au obținut filme biocompozite din proteine din zer cu TEO și fibre din PLA. Fibrele PLA obținute prin electrofilare au o formă cilindrică, o suprafață netedă, cu valori ale diametrului de ordinul micro- și nanometrilor.

Opacitatea filmelor biocompozite a crescut, concomitent cu creșterea grosimii stratului nanofibros de PLA. Filmele cu cea mai mare opacitate ar putea proteja mai bine produsele alimentare de modificări ușoare ale aspectului și de oxidarea lipidelor în alimentele cu conținut ridicat de lipide nesaturate.

Filmele biocompozite au prezentat o creștere a proprietăților de barieră față de principalii compuși volatili acoperiți cu nanofibre odată cu creșterea grosimii stratului nanofibros de PLA.

WVP a scăzut atunci când grosimea stratului de PLA a crescut ceea ce înseamnă că s-au îmbunătățit proprietățile de barieră ale filmelor față de vaporii de apă, prin procesul de electrofilare. Permeabilitatea la CO<sub>2</sub> a scăzut și în cazul filmelor cu un strat mai gros de PLA au fost obținute valorile cele mai scăzute ale permeabilității.

Filmele biocompozite prezintă o rigiditate și o rezistență la tracțiune din ce în ce mai mare, prin creșterea grosimii stratului nanofibros PLA. Rezultatele experimentale arată o creștere a rigidității și, respectiv, a rezistenței la tracțiune, cu creșterea grosimii stratului PLA de la filmul martor neacoperit (film WF/TEO) la filmul WF/G3. În plus, se observă o creștere considerabilă a proprietăților mecanice ale filmelor prin adăugarea unei a doua pompe, oferind filme cu cel mai mare modul Young (5,16 ori mai mare în cazul WF/G4 decât WF/TEO) și rezistență la tracțiune.

Terpenele volatile (timol, carvacrol, camfen,  $\alpha$ -pinen, etc.) ale cimbrului EO au activitate antimicrobiană împotriva *L. monocytogenes* Scott A., *R. glutinis*, *B. cereus* și *G. Candidum*.

Având în vedere rezultatele obținute, această structură compozită (WF/G4) ar putea fi considerată adecvată pentru teste ulterioare de compatibilitate, cu scopul utilizării ca material de ambalare pentru alimentele sensibile.

## 8. Obținerea acoperirilor cu pelicule comestibile active, din zeină, funcționalizate cu ulei esențial de dafin, pentru alunele de pădure

### 8.1. Introducere

Alunele sunt o sursă bogată de lipide care conțin acizi grași mononesaturați și polinesaturați, care sunt mai susceptibili la oxidare și degradarea enzimatică în timpul depozitării (*Bai și colab., 2024*), făcându-le ușor susceptibile la rănecizire (*Król și colab., 2020*).

Oxidarea lipidelor este influențată de condițiile de depozitare care pot afecta calitatea alunelor devenind astfel o preocupare majoră pentru industria alimentară.

Acoperirea cu un pelicule comestibile reprezintă o soluție pentru extinderea termenului de valabilitate, fiind astfel aplicat un strat protector comestibil și netoxic pe suprafața nucilor (*Bai și colab., 2024*).

O plantă simbolică a culturii grecești, dafinul (*Laurus nobilis*) este întâlnit în flora spontană sau este cultivat în bazinul mediteranean, principalele produse comercializate obținute din această plantă fiind frunzele, sub formă uscată și uleiurile esențiale (*Ordoudi și colab., 2022*).

Zeina, proteina din endospermul porumbului, reprezintă aproximativ 80 % din conținutul total de proteine din porumb, este o proteină amfifilă, având proprietăți atât hidrofobe, cât și hidrofile.

În acest studiu a fost aleasă acoperirea alunelor cu pelicule comestibile pe bază de zeină, funcționalizate cu ulei esențial de dafin pentru a preveni oxidarea lipidelor în timpul depozitării alunelor de pădure, formându-se astfel o barieră de protecție față de microorganisme, gaze și umiditate. Din cunoștințele noastre, utilizarea uleiului esențial de dafin individual sau în combinație cu zeina, nu a fost investigată anterior pentru procesul de îmbunătățire al stabilității la depozitare a alunelor de pădure, de unde rezultă noutatea prezentului studiu.

## 8.2. Obiectivele studiului

Evaluarea eficacității formulei de acoperire cu pelicule comestibile pe bază de zeină (ZEC) cu ulei esențial de dafin (*Laurus nobilis*), aplicată pe alunele de pădure pentru prevenirea oxidării lipidelor și a râncezirii acestora.

### 8.3.2. Procesul de obținere a soluției de acoperire cu pelicule comestibile și obținerea alunelor acoperite cu pelicule comestibile

Conform metodei optimizate de echipa noastră de cercetare, soluția de acoperire cu pelicule comestibile este preparată prin dispersarea a 8 % (g/g) pulbere de zeină în 85 % (g/g) histoalcool, sub agitare magnetică continuă (100 rpm, 10 min). Pentru îmbunătățirea proprietăților, soluția alcoolică de zeină a fost denaturată termic la  $70 \pm 0,5$  °C timp de 30 de min, pe o baie de apă. A fost adăugat glicerol 5 % (g/g) și ulei esențial de dafin 2 % (g/g). Pentru a obține o emulsie stabilă și omogenă, a fost utilizat procesul de ultrasonare (amplitudine 35 %, 2 min.), folosind o sondă ultrasonică cu diametrul de 8 mm.

Alunele imersate în soluția filmogenă timp de 15 secunde, au fost așezate pe o sită metalică pentru îndepărtarea excesului de soluție de acoperire cu pelicule comestibile și apoi au fost uscate la temperatura camerei (25 °C) timp de 24 de ore (**Figura 8.3**).

Au fost obținute alune cu un strat de acoperire cu peliculă comestibilă funcționalizată cu ulei esențial de dafin (N-ZEC-1L) dar și cu două straturi (N-ZEC-2L), al doilea strat fiind aplicat după uscarea completă a primului strat (după 30 min de la prima imersie în soluția de acoperire cu peliculă comestibilă). Proba martor a fost reprezentată de alunele acoperite cu soluție filmogenă de zeină fără ulei esențial de dafin (N-ZEC-M). Efectul protector al acoperirii cu peliculă comestibilă pe bază de zeină a fost evaluat în timpul testării accelerate efectuate la  $50 \pm 0,5$ °C timp de 30 de zile.



**Figura 8.3.** Alune cu acoperire cu peliculă comestibilă pe bază de zeină funcționalizată cu ulei esențial de dafin

#### 8.4. Rezultate și discuții

##### Activitatea antimicrobiană a uleiului esențial de dafin

Uleiul esențial de dafin are un efect inhibitor față de microorganismele testate (**Tabel 8.1.**), cu diametre ale zonei de inhibiție care variază între 21,00 – 30,01 mm, cea mai mare zonă de inhibiție fiind înregistrată față de *G. candidum*. Zona de inhibiție mai mică, de 21,00 mm, și valoarea MIC 5,00 mg/mL pentru inhibarea *B.cereus* indică faptul că acesta este mai rezistent la acțiunea antibacteriană a uleiului esențial de dafin testat, fiind nevoie de o concentrație mai mare pentru inhibarea sa, în comparație cu celelalte două microorganisme testate, unde valoarea MIC este de 2,50 mg/mL.

**Tabelul 8.1.** Zone de inhibiție și concentrația minimă inhibitorie (MIC) ale uleiului esențial de dafin

Microorganism test	Zona de inhibiție (mm)	MIC (mg/mL)
<i>B. cereus</i>	21,00 ± 6,05 <sup>a</sup>	5,00
<i>P. expansum</i>	22,00 ± 4,05 <sup>a</sup>	2,50
<i>G. candidum</i>	30,01 ± 5,05 <sup>b</sup>	2,50

Valorile obținute sunt media a trei analize ±SD. Diferitele litere obținute indică diferențe semnificative ( $p < 0,05$ ) între probe determinate de ANOVA și testul post-hoc al lui Tukey.

##### Cromatografia de gaze -spectrometria de masă SPME (GC-MS) a uleiului de dafin și a alunelor de pădure cu acoperire cu pelicule comestibile

Rezultatele indică faptul că o-cimenul este componentul major al uleiului esențial de dafin, cu o arie de 49.65 %, identificat la timpul de retenție mediu (Apex RT) de 12,6 min. Alte componente precum 1R- $\alpha$ -pinen, camfen, 3-caren, au un conținut remarcabil în uleiul de dafin.

Toate componentele volatile identificate în uleiul de dafin se regăsesc și în alunele acoperite cu un strat sau cu două straturi de acoperire cu peliculă comestibilă pe bază de zeină și ulei esențial de dafin, la același timp de retenție ca al uleiului esențial de dafin.

**Tabelul 8.2.** Componentele volatile ale uleiului esențial de dafin și ale alunelor cu acoperiri cu pelicule comestibile identificate prin metoda GC-MS

Proba Compus volatil	Ulei esențial de dafin	Alune cu 1 strat de acoperire cu peliculă comestibilă	Alune cu 2 straturi de acoperire cu peliculă comestibilă
	Apex RT (min)	Aria, %	
1.3-Thuien	7,29	0,03	0,03
1R- $\alpha$ -Pinen	7,78	9,19	0,72
Camfen	8,20	1,07	0,10
3-Caren	9,60	11,11	2,05
1S- $\alpha$ -Pinen	11,43	0,05	0,14
o-Cimen	12,60	49,65	2,11
$\gamma$ -Terpinen	13,41	0,87	0,29
$\alpha$ -Terpinolen	14,84	0,23	0,22
$\beta$ -cis-Ocimen	16,25	2,59	8,19
$\alpha$ -Camfolenal	18,28	0,77	1,21
4-Terpinenol	20,12	1,15	2,02
2-Caren	20,85	2,07	3,69



Santolina trien	25,36	0,22	0,38	0,26
Isoterpinolen	26,71	3,76	6,41	4,25
Eugenol	26,90	0,61	0,52	0,46
Aromadendren	28,21	0,11	0,19	0,13
Methileugenol	28,98	1,44	1,42	1,02
Cariofilen	29,48	0,61	1,11	0,79

### Determinarea culorii alunelor de pădure acoperite cu pelicule comestibile

Proprietățile de culoare ale alunelor acoperite cu zeină și a celor neacoperite, ca probă martor, sunt prezentate în **Tabelul 8.3**.

**Tabelul 8.3.** *Proprietățile de culoare ale alunelor*

Proba	L*	a*	b*	$\Delta E$
<b>Alune cu acoperiri cu pelicule comestibile</b>	65,23 ± 0,00	3,87 ± 0,02	21,78 ± 0,01	1,39
<b>Alune fără acoperiri cu pelicule comestibile</b>	64,27 ± 0,01	4,28 ± 0,03	20,85 ± 0,01	

Valoarea  $\Delta E = 1,39$  obținută indică o diferență ușor sesizabilă între alunele acoperite și cele neacoperite (**Tabelul 8.3**). De asemenea, luminozitatea alunelor acoperite este mai mare față de cea a celor neacoperite, datorită acoperirii cu adaos de glicerol. Valoarea parametrului  $a^*$  este mai mică în cazul alunelor acoperite, această valoare indicând faptul că alunele neacoperite au o nuanță mai apropiată de culoarea roșie față de cele neacoperite. Valoarea parametrului  $b^*$  este mai mare în cazul alunelor acoperite ceea ce indică o nuanță mai apropiată de galben față de cele neacoperite. Aceste nuanțe de galben și roșu mai intense ale alunelor acoperite se datorează acoperirii pe bază de zeină, culoarea pudrei de zeină fiind galbenă.

### Evaluarea senzorială a alunelor de pădure acoperite cu pelicule comestibile

Dintr-un număr de 22 de paneliști, 9 au detectat proba diferită, ceea ce înseamnă că un procent de 40,90 % a detectat diferența dintre alunele acoperite cu un strat și două straturi din zeină.

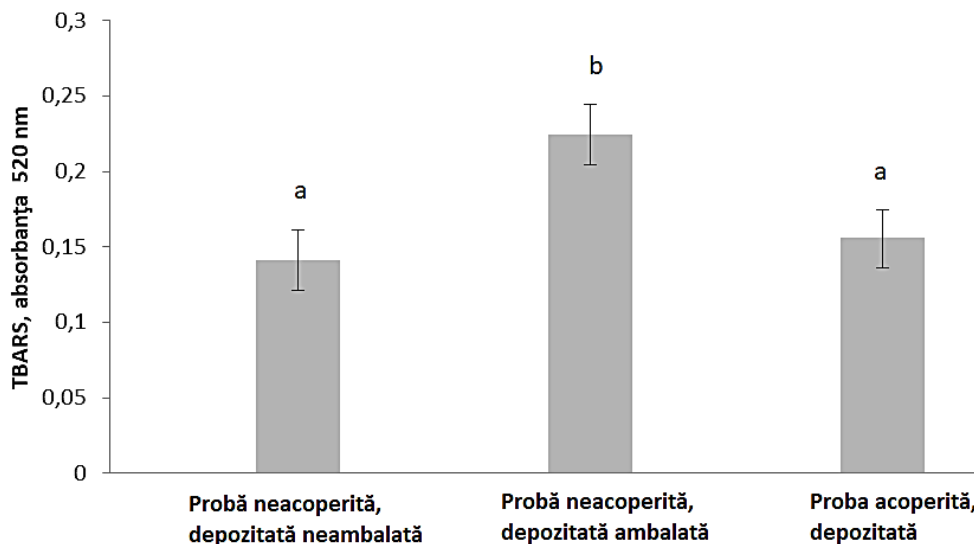
Intensitatea atributelor asociate cu aroma, gradul de strălucire, uniformitatea, gustul de picant au fost mai intense față de alunele neacoperite. Mirosul de nucifere a fost evaluat ca fiind mai intens în cazul alunelor neacoperite, cu toate acestea gustul alunelor acoperite de învelușuri de zeină a fost mai apreciat decât cel al alunelor neacoperite.

Evaluarea senzorială arată că alunele cu acoperire cu peliculă comestibilă au o strălucire mai intensă decât alunele fără acoperire cu peliculă comestibilă datorită acoperirii pe bază de zeină care conține și glicerol. Zeina formează o peliculă netedă și strălucitoare.

Intensitatea mirosului de camfor este influențată de prezența acoperirii cu peliculă comestibilă cu ulei esențial de dafin, compușii volatili oferind un miros de camfor alunelor acoperite cu peliculă comestibilă, acestea fiind considerate de paneliști mai plăcute decât cele fără acoperire cu peliculă comestibilă. Percepția gustului dulce și a celui de nucă nu au fost influențate de acoperirea cu peliculă comestibilă. Textura, de asemenea, este un atribut care nu a fost afectat de acoperirea cu peliculă comestibilă. În ceea ce privește aftertaste-ul, alunele acoperite au obținut o valoare mai mare a acestui atribut, ceea ce sugerează că aroma acoperirii cu peliculă comestibilă cu zeină și ulei esențial de dafin persistă mai mult în cavitatea bucală decât alunele neacoperite.

### Valoarea substanțelor reactive la acid tiobarbituric (TBARS) a alunelor de pădure cu acoperiri cu pelicule comestibile

Unul din parametrii care definesc stabilitatea la oxidare a lipidelor este valoarea TBARS. Valorile TBARS ale uleiului extras din alune au fost determinate și exprimate prin absorbanta la 520 nm și sunt prezentate în **Figura 8.4**.



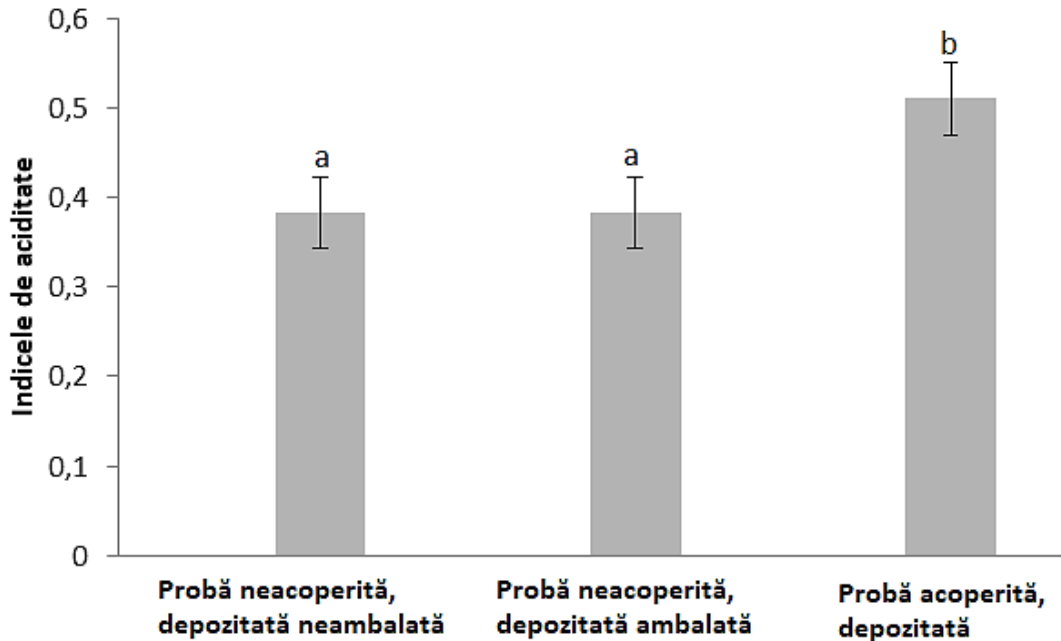
**Figura 8.4.** Prezența radicalilor liberi reactivi cu acid tiobarbituric (TBARS) din alune (fără peliculă comestibilă și cu peliculă comestibilă) ce au fost supuse testului de depozitare accelerată și TBARS din alune, înainte de depozitare accelerată.

\*) Valorile obținute sunt media a trei analize  $\pm$  deviația standard (SD). Litere diferite indică diferențe semnificative între probe ( $p < 0,05$ ), conform metodei ANOVA și a testul post-hoc Tukey.

Se observă o creștere a valorii TBARS în saptamâna a 7-a testului față de saptamâna 1 (proba control nedepozitată), ceea ce semnifică faptul că a avut loc un proces de oxidare a lipidelor în timpul perioadei de depozitare. Comparând valorile între cele două probe, putem observa că indicele TBARS al probei neacoperite este mai mare în ziua 49 cu 27,28 % față de proba cu acoperire cu peliculă comestibilă, ceea ce înseamnă ca procesul de oxidare a fost mai intens în cazul alunelor fără acoperire cu peliculă comestibilă. Acest lucru sugerează faptul că acoperirea cu peliculă comestibilă a redus semnificativ procesul de oxidare al lipidelor.

### Indicele de aciditate al alunelor de pădure acoperite cu pelicule comestibile

Indicele de aciditate a fost evaluat în prima saptamană, pe o probă control care nu a fost supusă testului de depozitare accelerată și în săptămâna 7, adică ziua 49 de depozitare, testul fiind efectuat pe alunele cu acoperire cu peliculă comestibilă și pe cele fără acoperire cu peliculă comestibilă (**Figura 8.5**).



**Figura 8.5.** Indicele de aciditate al alunelor de pădure fără acoperire și al alunelor cu acoperire cu peliculă comestibilă în timpul depozitării accelerate în săptămâna 7 de depozitare, față de proba control analizată la începutul testului de depozitare accelerată. \*) Valorile obținute sunt media a trei analize  $\pm$  deviația standard (SD). Litere diferite indică diferențe semnificative între probe ( $p < 0,05$ ), conform metodei ANOVA și a testul post-hoc Tukey.

Indicele de aciditate a fost monitorizat timp de 7 săptămâni pentru a evalua procesul de degradare al lipidelor din alunele de pădure cu acoperire cu peliculă comestibilă în comparație cu alunele de pădure fără acoperire cu peliculă comestibilă. După cum se poate observa în **Figura 8.5.**, înainte și după testul de depozitare accelerată, indicele de aciditate este neschimbat în cazul alunelor neacoperite. Se observă și este surprinzător faptul că indicele de aciditate crește în cazul alunelor cu acoperire cu peliculă comestibilă față de proba fără acoperire cu peliculă comestibilă.

### 8.3. Concluzii

Uleiul esențial de dafin a prezentat un efect antimicrobian bun împotriva *G. candidum*, *R. glutinis* și *B. cereus*, care fac parte din microbiota comună a alunei.

Amprenta volatilă a alunelor cu acoperire cu peliculă comestibilă a fost determinată prin cromatografie de gaze, metodă care a indicat o-cimenul drept cel mai abundent compus prezent în uleiul esențial de dafin, responsabil de efectul întârziere a proceselor de rânzire oxidativă.

Analiza senzorială a demonstrat acceptabilitatea bună a consumatorilor față de alunele cu acoperire cu peliculă comestibilă pe bază de zeină, funcționalizate cu ulei esențial de dafin. Analiza a relevat modul în care acoperirea cu peliculă comestibilă a alunelor afectează gustul, textura sau acceptabilitatea generală a acestora. Rezultatele favorabile arată că alunele cu acoperire cu peliculă comestibilă au fost considerate de către paneliști plăcute și compatibile cu uleiul esențial de dafin. Acest studiu a arătat că acoperirea cu peliculă comestibilă a avut un impact minor asupra aspectului alunelor.

Stabilitatea oxidativă a alunelor cu acoperire cu peliculă comestibilă pe bază de zeină a fost evaluată prin valorile peroxidului și acidului tiobarbituric, analize efectuate pe parcursul a 7 săptămâni de depozitare accelerată.

TBARS indică o protecție oferită de acoperirea cu peliculă comestibilă a alunelor, în schimb testul de aciditate nu a oferit rezultatele așteptate. Din acest motiv, este necesar un test accelerat ulterior pentru o perioadă mai lungă de timp.

## 9. Obținerea acoperirilor cu pelicule comestibile active pe bază de nanoemulsii, obținute din concentrat proteic din zer, funcționalizate cu ulei esențial de cimbru pentru dovlecei

### 9.1. Introducere

Dovlecelul (*Cucurbita pepo* L.) este o legumă foarte populară având coaja moale, fiind bogat în antioxidanți precum betacarotenul, acidul folic și vitaminele C și E (*Lucera și colab., 2010*). Dovlecelul matur are o textură fermă, dar în timpul depozitării acesta se înmoaie. Din cauza conținutului mare de umiditate, de peste 90 %, dovleceii sunt legume foarte perisabile, cu o durată medie de păstrare de 1-2 săptămâni la 7-10 °C, prezentând o sensibilitate ridicată la temperaturi scăzute (*Desai și colab., 1998; Zuo și colab., 2021; Rodov, 2020*).

Aplicarea acoperirilor cu pelicule comestibile (EC) este o soluție de tratament a suprafeței produsului pentru extinderea termenului de valabilitate. EC reprezintă un strat subțire de material comestibil format direct pe suprafața alimentelor ca acoperire (*Eddin și colab., 2019; Fakhouri și colab., 2015*). Acoperirea poate fi obținută din polizaharide, proteine, lipide, fie dintr-un amestec al celor de mai sus, care poate oferi o barieră selectivă la vaporii de apă, oxigen, dioxid de carbon și substanțe volatile, precum și o apărare împotriva perturbării mecanice a stratului exterior al produsului alimentar acoperit, fără a modifica gustul și textura alimentelor.

Un instrument emergent pentru optimizarea dispersiei ingredientelor active lipofile ale uleiurilor esențiale cu rol activ (EO) într-un mediu apos este conversia acesteia într-o nanoemulsie comestibilă ulei-în-apă, în care nanopicăturile de lipide sunt stabilizate de molecule de surfactant dispersate într-o fază apoasă (*Prakash și colab., 2018*) pentru a fi aplicată ca acoperire.

Utilizarea nanoemulsiilor pentru EC aduce avantaje în ceea ce privește omogenitatea îmbunătățită, transparența crescută datorită împrăștierii slabe a luminii de către nanopicături, îmbunătățirea biodisponibilității și stabilității compușilor bioactivi ai EO, precum și rata de eliberare îmbunătățită din matricea EC (*Prakash și colab., 2018; Salvia-Trujillo și colab., 2015; Nastasi și colab., 2022*).

### 9.2. Obiectivele studiului

Obiectivul acestui studiu este evaluarea eficacității a două formule de nanoemulsii care conțin ulei esențial de cimbru și proteine din zer, ca acoperiri cu pelicule comestibile pentru dovlecei, cu scopul de a prelungi perioada de valabilitate a acestora.

Va fi evaluată capacitatea proteinei din zer funcționalizată cu EO de cimbru, nanoemulsia fiind aplicată ca acoperire cu peliculă comestibilă pentru a prelungi perioada de valabilitate a dovleceilor. Vor fi comparate membranele obținute cu doi stabilizatori și capacitatea acestora de a reține compușii activi și de a exercita un efect protector asupra dovleceilor. Nanoemulsiile comparate au fost: formula de stabilizator de amestec cu gumă guar și gumă arabică (S) și formula cu polioxietilenă sorbitan monolaurat, cunoscută și ca Polisorbat 20 sau Tween 20 (T). Polisorbatul este un surfactant neionic care face posibilă reacția dintre acizii grași și oxidul de etilenă.

Amestecul de stabilizator este alcătuit din guma guar, un galactomanan format din unități de (1-4)- $\beta$ -D-manopiranoză asociate prin grupe  $\beta$ -galactopiranosil, obținut din semințe plantei *Cyamopsis tetragonoloba* și folosit ca agent de îngroșare și emulgator iar cea de-a doua componentă a amestecului este guma arabică sau de acacia, un amestec complex de glicoproteine și polizaharide, predominant polimeri ai arabinozei și galactozei, cu rol stabilizator. Proprietățile senzoriale și fizico-chimice ale dovleceilor cu acoperiri cu pelicule comestibile, cu cele două tipuri de stabilizatori, au fost evaluate pe durata a 42 de zile de depozitare.

### 9.3.2. Procesul de obținere al nanoemulsiilor

Concentratul proteic din zer (WPC) a fost dispersat în apă ultrapură 8,0 % (g/g), sub agitare magnetică (180 rpm, 15 min). S-a aplicat un tratament termic pentru a denatura proteinele din zer folosind o baie de apă la  $80,0 \pm 0,5$  °C timp de 35 min. Soluțiile au fost răcite imediat după tratamentul termic, în apă cu gheață, pentru a opri efectul termic. S-a adăugat glicerol anhidru 8,0

% (g/g) ca plastifiant în amestecul de acoperire pentru a forma o peliculă comestibilă, această formulă fiind optimizată anterior (*Bleoanca și colab., 2020*).

Probele au fost împărțite în mod egal și au fost testați doi stabilizatori. Pentru o jumătate s-a folosit Tween 20 (T) într-o concentrație de 0,90 % (g/g) (*Bleoanca și colab., 2020*) și pentru cealaltă jumătate s-a folosit un amestec de gume (S) de 0,18 % (g/g), conform recomandărilor producătorului, optimizată anterior. Cimbru EO a fost adăugat într-o concentrație de 2,5 % (g/g) în toate probele, având în vedere rezultatele testelor anterioare efectuate de colectivul de cercetare. Acest EO a fost ales datorită conținutului său ridicat de terpeni antimicrobiene cu eficacitate demonstrată (*Bleoanca și colab., 2020*).

Pentru a obține o nanoemulsie stabilă și omogenă, amestecul a fost supus în continuare tratamentului cu ultrasunete (35 % amplitudine, 3 min) cu echipament Sonopuls HD3100 (Bandelin, Germania), folosind o sondă de sonicare cu diametrul de 8 mm. Vârful de de ultrasunare a fost menținut scufundat cu 1 cm mai jos de suprafața suspensiei iar temperatura nanoemulsiei de acoperire a fost menținută constantă la  $23 \pm 1$  °C prin plasarea falconului cu suspensie într-o baie de apă cu gheață iar pH-ul a fost ajustat la 7,0 folosind NaOH 0,5 N (*Bleoanca și colab., 2020*).

### 9.3.7. Acoperirea și depozitarea dovleceilor cu acoperire cu peliculă comestibilă

Nanoemulsiile T și S au fost aplicate pe dovlecel prin acoperire cu o pensulă, într-un singur strat, pe întreaga suprafață a lor, cu un volum de soluție de acoperire echivalent asigurându-se îndepărtarea excesului. Dovleceii cu acoperire cu peliculă comestibilă au fost menținuți timp de șase ore la  $22 \pm 1$  °C până la uscarea soluției de acoperire. Probele de control au fost menținute neacoperite și tratate în mod similar cu probele acoperite. Depozitarea dovleceilor cu acoperire a fost efectuată într-un dulap închis, de 600 L, la temperatură și umiditate relativă constantă ( $10 \pm 1$  °C și  $75 \pm 1$  %), timp de 42 de zile.

## 9.4. Rezultate și discuții

### Caracterizarea reologică a nanoemulsiei

Toate probele au prezentat un comportament de subțiere prin forfecare la creșterea ratei de forfecare de la 0,1 la 100 s<sup>-1</sup>. Fenomenul a fost mai accentuat pentru nanoemulsiile stabilizate cu amestecul Satiagel RP1730 în comparație cu probele obținute prin adăugarea de emulgator Tween 20, datorită valorilor inițiale de vâscozitate mult mai mari în cazul nanoemulsiilor stabilizate cu amestecul Satiagel RP1730. *Farshi și colab. (2019)* au folosit, de asemenea, gumă guar în nanoemulsii cu izolat proteic din zer pentru a crește vâscozitatea acestora.

În a doua parte a testului, când se mențin constante valorile vitezei de forfecare, a putut fi observat un comportament pseudoplastic independent de timp pentru toate cele patru probe.

Nanoemulsiile S US au prezentat cea mai mare consistență (valori G\*) în comparație cu celelalte trei probe. Probele T au prezentat o structură foarte slabă asemănătoare lichidului, fără efect semnificativ rezultat după sonicare.

### Determinarea culorii nanoemulsiilor

Rezultatele prezentate în **Tabelul 9.2.** arată că luminozitatea nanoemulsiilor T și S sunt semnificativ mai mici decât cele ale emulsiilor martor; valoarea b\* pentru nanoemulsia T este semnificativ mai mare decât cea a emulsiei de control T, ceea ce indică un ton galben mai pronunțat pentru nanoemulsie. Modificări similare legate de adăugarea de EO și/sau T în emulsii și la etapa de sonicare au fost raportate de *Amjadi și colab. (2020, 2021)*.

**Tabelul 9.2.** Parametrii de culoare ai nanoemulsiilor T și S

Proba	Parametru	L*	a*	b*	ΔE*
Control T		73,23 ± 0,07 <sup>a</sup>	-1,42 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,37 ± 0,02 <sup>a</sup>	
T		71,06 ± 0,32 <sup>b</sup>	-1,07 ± 0,31 <sup>a</sup>	5,15 ± 0,66 <sup>b</sup>	2,33 ± 0,40 <sup>a</sup>
Control S		71,75 ± 0,07 <sup>c</sup>	-1,48 ± 0,01 <sup>a,b</sup>	5,06 ± 0,00 <sup>b</sup>	
S		70,29 ± 0,19 <sup>d</sup>	-1,88 ± 0,14 <sup>b</sup>	7,05 ± 0,24 <sup>b</sup>	2,45 ± 0,28 <sup>a</sup>

Datele sunt media ± StDev a trei repetări, obținute din două probe. Litere diferite indică diferențe semnificative cu ANOVA și testul post-hoc Tuckey pentru  $p < 0,05$ .

Conform clasificării propuse de cercetători (*Goyeneche și colab., 2014*) atât emulsiile T ( $\Delta E^* 2,33 \pm 0,40$ ) cât și S ( $\Delta E^* 2,45 \pm 0,28$ ) au prezentat o diferență notabilă de culoare în comparație cu probele de control, care nu au fost supuse sonicării. Explicația rezidă în faptul că dimensiunea picăturilor de cimbru EO și glicerol este mult redusă și prin integrarea mai bună în structura filmului ca urmare a sonicării, declanșează o împrăștiere a luminii mai slabă (*Salvia-Trujillo și colab., 2015*) în comparație cu cea a picăturilor mai mari ale emulsiei de control, rămase separate la suprafață.

### Evaluarea microstructurii acoperirilor cu pelicule comestibile prin microscopie electronică de scanare

Microstructurile SEM sunt prezentate pentru membranele (obținute prin uscarea nanoemulsiilor, în forme) care au fost folosite ulterior ca acoperire sub formă de peliculă comestibilă pentru dovlecei. Prezența nanoparticulelor de ulei în film este evidentă și apare sub formă de zone luminoase în matricea de film mai întunecată.

Imaginile SEM sugerează existența unei structuri cu microporozitate deschisă pe toată membrana T, observație care a fost raportată anterior în studii similare (*Ahmadi și colab., 2021*). Discontinuitatea în structură s-ar putea datora caracterului hidrofob al EO de cimbru (*Mohammadi și colab., 2020*). Pe de altă parte, membranele S au o porozitate redusă, iar structura lor arată mai compactă. După cum se poate observa, membrana S este mai stabilă.

Prin urmare, putem considera că tratamentul cu US dar și T cât și S cresc dispersia particulelor de EO de cimbru în întreaga matrice a filmului, arătând distribuția uniformă a dimensiunilor acestora. O scădere a dimensiunii medii a picăturilor de ulei ar putea sugera că nanoemulsia S este mai potrivită pentru acoperiri cu pelicule comestibile cu proprietăți superioare față de nanoemulsia T.

### Cromatografia de gaze- spectrometria de masă SPME (GC-MS) a acoperirilor cu pelicule comestibile

Uleiul esențial (EO) de cimbru utilizat în acest studiu se caracterizează prin următorii cei mai abundenți compuși volatili reprezentativi: 4-caren, cariofilen, cis-geraniol, cis-pinen- 3-ol, mentatrien, ciclocten, o-cimen și timol. Mai mult de 90 % din amprenta compușilor volatili din uleiul de cimbru și în membranele T și S, mai exact 35 de compuși, au fost identificați utilizând biblioteca Nist 08 și indicați în **Tabelul 9.3**.

**Tabelul 9.3.** Amprenta volatilă a compușilor volatili în uleiul de cimbru și în membranele T și S

KI	Ioni	Compuși	Formula	Cimbru EO (%)	T (%)	S (%)	Harta termică (S-T)
843	91,93,77,51,121	3-Thuien	C10H16	1,21±0,05 <sup>a,E,F</sup>	0,21±0,05 <sup>c,E,F</sup>	0,54±0,02 <sup>b,D</sup>	
890	81,107,135,150,53	Phenol	C10H14O	1,63±0,08 <sup>a,E,F</sup>	0,14±0,01 <sup>c,F</sup>	0,86±0,06 <sup>b,D</sup>	
922	91,93,77,51,121	ç-Terpinen	C10H16	0,59±0,04 <sup>a,E,F</sup>	0,28±0,02 <sup>c,E,F</sup>	0,42±0,02 <sup>b,D</sup>	

## Dezvoltarea unor soluții de ambalare, biodegradabile, cu rol bioactiv, pentru produsele alimentare

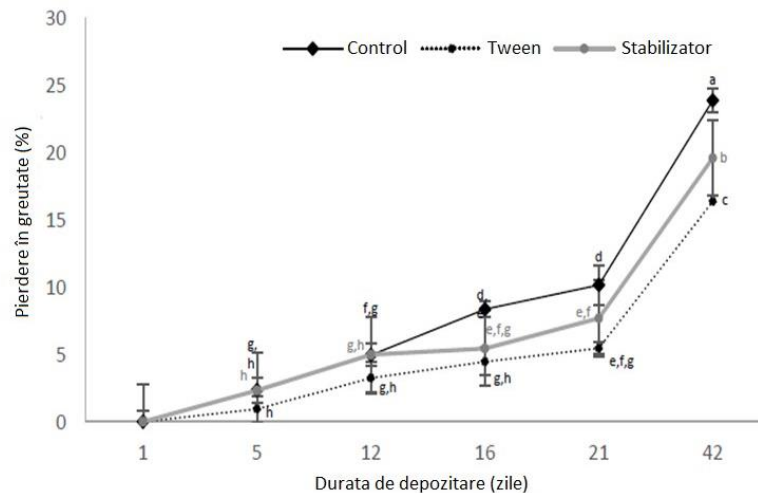
966	91,93,77,65,105	$\alpha$ -Fellandren	C10H16	0,44 $\pm$ 0,03 <sup>aF</sup>	0,08 $\pm$ 0,03 <sup>cF</sup>	0,25 $\pm$ 0,02 <sup>bD</sup>	
986	119,91,115,135,134	1,3,8-Mentatrien	C10H14	1,25 $\pm$ 0,12 <sup>b,E,F</sup>	0,51 $\pm$ 0,02 <sup>c,E,F</sup>	1,63 $\pm$ 0,13 <sup>a,D</sup>	
992	91,93,77,121,136	Ciclohexen	C6H10	0,86 $\pm$ 0,07 <sup>a,E,F</sup>	0,21 $\pm$ 0,02 <sup>c,E,F</sup>	0,6 $\pm$ 0,05 <sup>b,D</sup>	
1024	93,91,108,77,111	Ciclopenten	C5H8	0,03 $\pm$ 0,00 <sup>c,F</sup>	0,37 $\pm$ 0,02 <sup>a,E,F</sup>	0,24 $\pm$ 0,02 <sup>b,D</sup>	
1082	117,115,133,91,77	2,1-Dimetistiren	C10H12	0,03 $\pm$ 0,00 <sup>a,F</sup>	0,02 $\pm$ 0,00 <sup>b,F</sup>	0,03 $\pm$ 0,00 <sup>a,D</sup>	
1096	91,93,77,121,111	$\alpha$ -Pinen	C10H16	2,79 $\pm$ 0,03 <sup>a,E</sup>	1,72 $\pm$ 0,12 <sup>b,E,F</sup>	1,11 $\pm$ 0,01 <sup>c,D</sup>	
1107	105,119,91,120,77	Aromadendren	C15H24	0,01 $\pm$ 0,00 <sup>a,F</sup>	0,04 $\pm$ 0,00 <sup>b,F</sup>	0,01 $\pm$ 0,00 <sup>a,D</sup>	
1119	95,67,108,93,81	Limonen	C10H16	1,15 $\pm$ 0,01 <sup>c,E,F</sup>	0,34 $\pm$ 0,02 <sup>a,E,F</sup>	0,23 $\pm$ 0,01 <sup>b,D</sup>	
1127	91,77,93,67,121	Camfen	C10H16	1,91 $\pm$ 0,12 <sup>a,E,F</sup>	1,63 $\pm$ 0,15 <sup>a,E,F</sup>	1,21 $\pm$ 0,11 <sup>b,D</sup>	
1132	91,77,93,121,107	Santolina trien	C10H16	0,62 $\pm$ 0,02 <sup>a,E,F</sup>	0,43 $\pm$ 0,03 <sup>b,E,F</sup>	0,56 $\pm$ 0,05 <sup>a,D</sup>	
1143	93,91,95,67,121	1,3,6 - Heptatrien	C7H10	0,98 $\pm$ 0,05 <sup>a,E,F</sup>	0,64 $\pm$ 0,05 <sup>b,E,F</sup>	0,96 $\pm$ 0,06 <sup>a,D</sup>	
1150	91,105,77,119,133	Cariofilen	C15H24	22,03 $\pm$ 1,58 <sup>a,B</sup>	9,46 $\pm$ 1,02 <sup>c,C</sup>	14,52 $\pm$ 0,115 <sup>b,B</sup>	
1176	91,77,93,105,119	Seiselen	C15H24	0,48 $\pm$ 0,05 <sup>a,F</sup>	0,48 $\pm$ 0,02 <sup>a,E,F</sup>	0,4 $\pm$ 0,01 <sup>b,D</sup>	
1188	91,93,67,77,121	Ocimen	C10H16	0,04 $\pm$ 0,00 <sup>b,F</sup>	0,03 $\pm$ 0,00 <sup>a,F</sup>	0,04 $\pm$ 0,00 <sup>b,D</sup>	
1189	105,161,91,119,133	Germacren	C15H24	0,36 $\pm$ 0,03 <sup>a,F</sup>	0,11 $\pm$ 0,01 <sup>c,F</sup>	0,24 $\pm$ 0,01 <sup>b,D</sup>	
1193	91,93,77,79,67	Cis- $\alpha$ -Bisabolen	C15H24	0,41 $\pm$ 0,03 <sup>a,F</sup>	0,4 $\pm$ 0,03 <sup>a,E,F</sup>	0,46 $\pm$ 0,03 <sup>a,D</sup>	
1221	93,91,121,67,136	$\delta$ 3-caren	C10H16	30,77 $\pm$ 3,21 <sup>b,A</sup>	40,03 $\pm$ 2,75 <sup>a,A</sup>	41,42 $\pm$ 3,59 <sup>a,A</sup>	
1228	91,77,93,119,65	Cis pinen 3-ol	C10H16O	5,32 $\pm$ 0,22 <sup>b,D</sup>	5,2 $\pm$ 0,34 <sup>b,D</sup>	6,74 $\pm$ 0,58 <sup>a,C</sup>	
1299	91,93,79,67,121	4-Caren	C10H16	0,72 $\pm$ 0,01 <sup>a,E,F</sup>	0,84 $\pm$ 0,06 <sup>a,E,F</sup>	0,84 $\pm$ 0,07 <sup>a,D</sup>	
1313	91,93,67,121,123	cis-Geraniol	C10H18O	10,64 $\pm$ 1,58 <sup>b,C</sup>	17,05 $\pm$ 1,33 <sup>a,B</sup>	13,58 $\pm$ 1,12 <sup>b,B</sup>	
1330	91,77,119,134,51	Cicloocten	C8H14	0,50 $\pm$ 0,01 <sup>c,E,F</sup>	1,97 $\pm$ 0,15 <sup>a,F</sup>	1,65 $\pm$ 0,15 <sup>b,D</sup>	
1334	91,93,67,121,65	$\alpha$ -Ocimen	C10H16	0,25 $\pm$ 0,01 <sup>c,F</sup>	0,38 $\pm$ 0,01 <sup>a,E,F</sup>	0,34 $\pm$ 0,02 <sup>b,D</sup>	
1346	91,77,119,65,51	Cycloocten	C8H14	0,06 $\pm$ 0,00 <sup>a,F</sup>	0,09 $\pm$ 0,01 <sup>a,E</sup>	0,08 $\pm$ 0,04 <sup>a,D</sup>	
1382	91,77,105,107,67	Cis-Lanceol	C15H24O	0,02 $\pm$ 0,00 <sup>a,F</sup>	0,05 $\pm$ 0,00 <sup>b,F</sup>	0,02 $\pm$ 0,00 <sup>a,D</sup>	
1387	91,79,77,105,57	Ledene oxid	C15H24O	0,29 $\pm$ 0,01 <sup>c,F</sup>	0,62 $\pm$ 0,03 <sup>a,E,F</sup>	0,38 $\pm$ 0,02 <sup>b,D</sup>	
1411	91,105,107,67,119	Azulen	C10H8	0,01 $\pm$ 0,00 <sup>a,F</sup>	0,07 $\pm$ 0,00 <sup>b,F</sup>	0,03 $\pm$ 0,00 <sup>c,D</sup>	
1415	79,77,67,91,93	Myrtenol	C10H16O	0,02 $\pm$ 0,00 <sup>a,F</sup>	0,08 $\pm$ 0,00 <sup>c,F</sup>	0,05 $\pm$ 0,00 <sup>b,D</sup>	
1439	91,105,119,79,161	$\alpha$ -Guaien	C15H24	0,01 $\pm$ 0,00 <sup>b,F</sup>	0,02 $\pm$ 0,00 <sup>a,F</sup>	0,02 $\pm$ 0,00 <sup>a,D</sup>	
1455	91,105,119,77,131	Spatulenol	C15H24O	0,01 $\pm$ 0,00 <sup>a,F</sup>	0,14 $\pm$ 0,01 <sup>b,F</sup>	0,03 $\pm$ 0,00 <sup>b,D</sup>	
1473	135,115,91,150,79	Timol	C10H14O	0,04 $\pm$ 0,01 <sup>b,F</sup>	0,11 $\pm$ 0,05 <sup>a,F</sup>	0,08 $\pm$ 0,02 <sup>a,D</sup>	
1485	91,119,77,136,67	acid2,5-octadecadienoic	C19H34O2	0,02 $\pm$ 0,00 <sup>c,F</sup>	0,1 $\pm$ 0,01 <sup>a,F</sup>	0,06 $\pm$ 0,01 <sup>b,D</sup>	

\* diferite litere cu majuscule mici indică diferențe semnificative ( $p < 0,05$ ) pe rânduri și cu majuscule, pe coloane, estimate prin testul Tuckey post-hoc; Indicele KI-Kovats; <sup>a</sup> Datele raportate sunt  $\pm$ SD medii pentru trei repetări independente.

Aceste rezultate sunt diferite de cele raportate de (Bleancă și colab., 2016) unde cel mai abundent component a fost  $\gamma$ -terpinenul, în timp ce în acest studiu, 4-carenul a avut cea mai mare concentrație.

Harta termică din **Tabelul 9.3.** arată diferențele în zona de vârf a compușilor volatili (VOC) reținuți în membranele cu S și T, indicând cu verde cele mai abundente componente din formula S cum ar fi 4-carenul și cariofilenul, în timp ce observăm că cele mai abundente componente din formula T sunt  $\alpha$ -pinenul, camfenul și cis-geraniol. Suprafața totală a compușilor volatili reținuți de matricea S a fost cu 33% mai mare decât în acoperirea T, astfel încât aceasta a fost considerată mai predispusă la reținerea volatilelor. Cu toate acestea, terpeni valoroși, biologic activi, cum ar fi  $\alpha$ -pinenul și camfenul au fost prezente în concentrații mai mici în membrana S comparativ cu membrana T.

### Analiza fizico-chimică a dovleceilor cu acoperiri cu pelicule comestibile



**Figura 9.4.** Pierdere în greutate a dovleceilor în timpul a 42 de zile de depozitare. Datele sunt media  $\pm$ SD a trei repetări, din doi dovlecei. Litere diferite indică diferențe semnificative cu ANOVA și Test post-hoc Tuckey la  $p < 0,05$ .

Dovleceii S acoperiți cu peliculă comestibilă au avut aceeași pierdere în greutate ca și cei fără acoperire cu peliculă comestibilă, în timpul primelor 12 zile de depozitare.

T a declanșat cea mai mică pierdere în greutate dintre toate probele analizate pe întreaga perioadă de depozitare, ceea ce a condus la o pierdere de greutate de 66 % comparativ cu probele de dovlecel neacoperit, după 42 de zile de păstrare. Aceste rezultate indică faptul că acoperirea cu peliculă comestibilă T a avut cea mai bună performanță pe parcursul celor 42 de zile de depozitare.

Dovleceii cu acoperire cu peliculă comestibilă T au atins  $16,48 \pm 0,45$  (%) scădere în greutate, iar cei cu acoperire cu peliculă comestibilă S au atins  $21,16 \pm 1,11$  (%) scădere în greutate înregistrată după 42 de zile de păstrare.

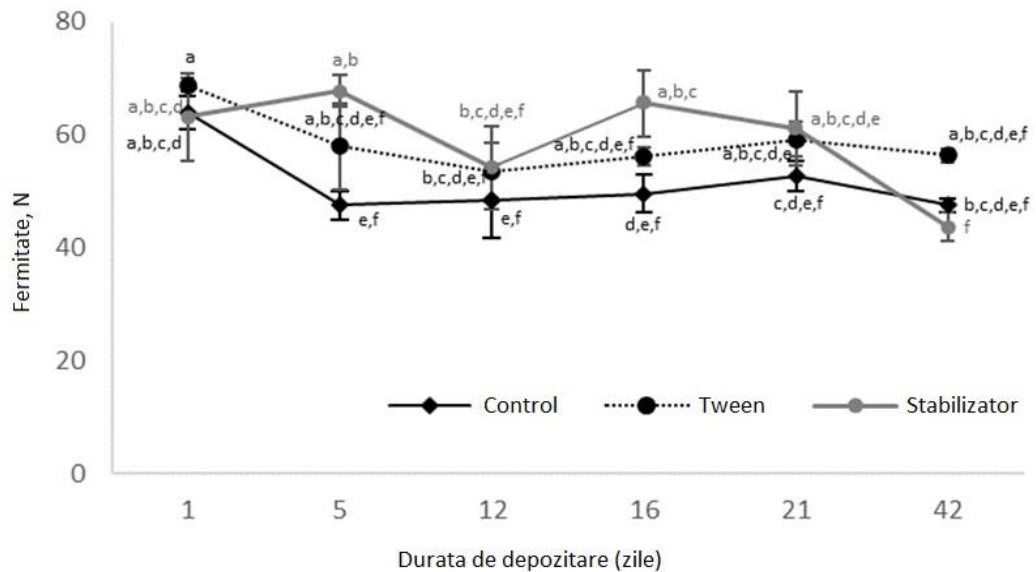
Substanțele solide solubile ( $^{\circ}$ Brix) ale dovlecelilor au fost de  $5,74 \pm 0,3$  la începutul depozitării, similare cu alte valori raportate (*Occhino și colab., 2011; Pugliese și colab., 2011*). După 42 de zile de depozitare, proba control a avut cea mai scăzută valoare, de  $4,6 \pm 0,2$   $^{\circ}$ Bx, dovleceii acoperiți cu peliculă comestibilă S  $5,2 \pm 0,7$   $^{\circ}$ Bx, în timp ce dovleceii acoperiți cu peliculă comestibilă T au avut  $5,85 \pm 0,4$   $^{\circ}$ Bx.

### Evaluarea texturii

După cum se observă în **Figura 9.5.**, fermitatea scade semnificativ în probele martor în primele 5 zile de depozitare ( $p < 0,05$ ), fapt care este similar cu alte valori raportate (*Zuo și colab., 2021*). Dovlecelul cu acoperire cu peliculă comestibilă T nu a prezentat modificări semnificative ale texturii în comparație cu starea inițială, decât după a 21-a zi. Comparația între începutul și sfârșitul stocării indică o scădere a fermității de 25,73 % pentru control (dovlecel neacoperit), o scădere de 23,30 % pentru dovleceii acoperiți cu peliculă comestibilă S, în timp ce probele acoperite cu peliculă comestibilă T au avut cea mai mică scădere a fermității, de doar 10,38 % în 42 de zile de



depozitare. Aceste rezultate indică acoperirea T ca fiind mai eficientă în întârzierea înmuierii dovleceilor în timpul depozitării prelungite.

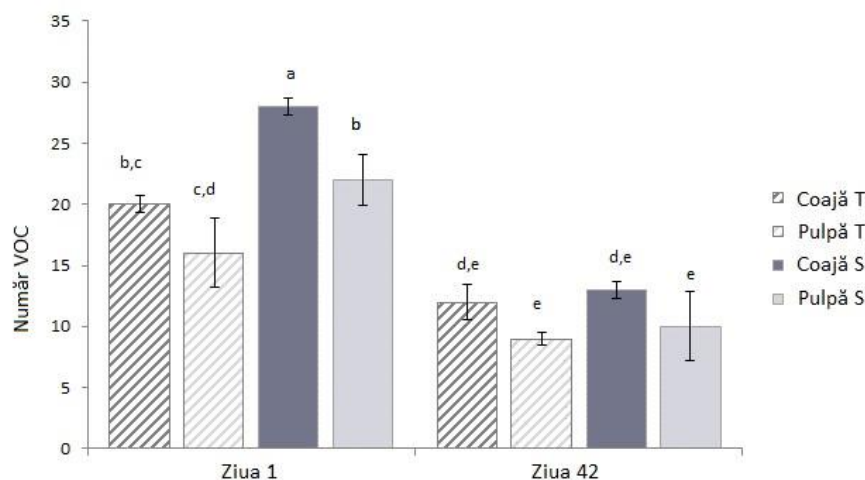


**Figura 9.5.** Evoluția fermității dovleceilor cu acoperire cu peliculă comestibilă în timpul depozitării.

Datele sunt media  $\pm$  SD a trei replici din doi dovlecei. Litere diferite indică diferențe semnificative cu ANOVA și test Tuckey post-hoc la  $p < 0,05$ .

### Cromatografia de gaze- spectrometria de masă SPME (GC-MS) a compușilor volatili din dovleceii acoperiți cu pelicule comestibile

Amprenta volatilă a cojii și pulpei dovleceilor pe toată durata de depozitare a evidențiat faptul că o parte din substanțele volatile din cimbru EO, cum ar fi  $\alpha$ -pinenul, guaienul și cariofilenul, din acoperirea cu peliculă comestibilă, migrează în pulpă imediat după aplicarea stratului de acoperire. După cum se observă în **Figura 9.6.**, în prima zi de depozitare, acoperirea cu peliculă comestibilă S a avut un număr semnificativ mai mare de VOC în coajă ( $p < 0,05$ ) în comparație cu T, în timp ce după 42 de zile de depozitare, numărul total de VOC a fost mai mic decât în prima zi dar asemănător în coajă în ambele formule.



**Figura 9.6.** Dinamica VOC în coaja și pulpa de dovlecel cu acoperire cu peliculă comestibilă T și S în timpul depozitării. Literele diferite indică diferențe semnificative cu ANOVA și testul post-hoc Tuckey la  $p < 0,05$ .

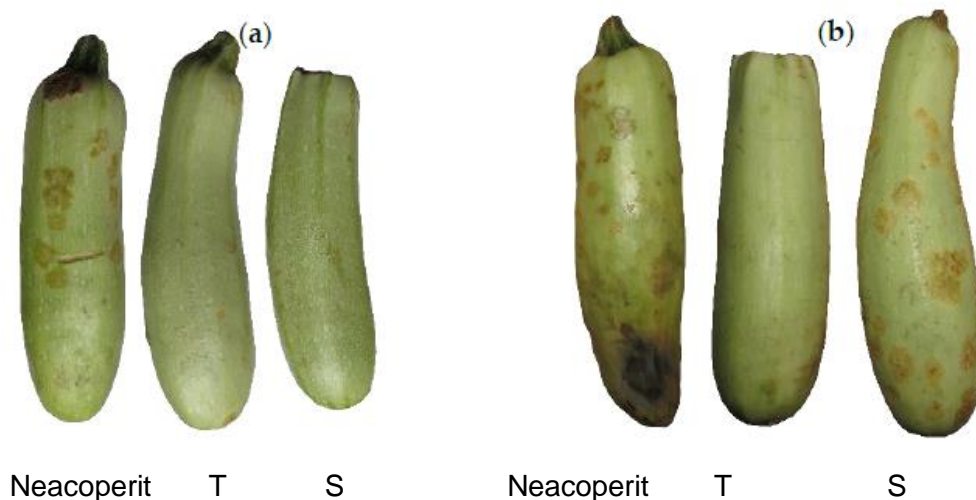
Concentrația semnificativ redusă ( $p < 0,05$ ) în VOC în a 42-a zi de depozitare comparativ cu prima zi ar putea fi explicată prin epuizarea terpenelor cu volatilitatea mare până la atingerea echilibrului. În pulpă au fost găsiți un număr mare de compuși volatili după prima zi de depozitare și cu 37,5% ( $p < 0,05$ ) mai mult în dovlecelul S comparativ cu T. În a 42-a zi de depozitare, o concentrație mai mică în VOC găsiți în pulpă comparativ cu începutul depozitării a fost similară în acoperirea cu acoperirea cu peliculă comestibilă T și S ( $p > 0,05$ )

### Analiza culorii dovlecelor

Coaja de dovlecel (**Tabelul 9.4.**) acoperită cu nanoemulsie T a prezentat o scădere notabilă a valorilor luminozității pe parcursul celor 42 de zile de depozitare, corespunzătoare tonurilor mai deschise la sfârșitul depozitării ( $L_{zi1} = 58,44 \pm 2,44$  vs.  $L_{zi42} = 79,22 \pm 6,75$ ). Valorile negative pentru parametrul  $a^*$  al tuturor cojilor de dovlecel indică tonul verde al probelor; evaluarea valorilor  $a^*$  și  $b^*$  în prima zi arată că niciuna dintre acoperiri nu a schimbat în mod semnificativ aspectul verde-galben al dovlecelor în cele 42 de zile de depozitare. Pe baza clasificării realizate de [Goyeneche și colab. \(2014\)](#), diferența de culoare imediat după acoperire a fost apreciabilă pentru dovlecelul acoperit cu acoperire cu peliculă comestibilă T și o diferență mare pentru dovlecelul cu acoperire cu peliculă comestibilă S, comparativ cu dovlecelul control, fără acoperire cu peliculă comestibilă.

Valorile luminozității  $L^*$  în probele de pulpă de dovlecei cu acoperire cu peliculă comestibilă, comparativ cu cei fără acoperire cu peliculă comestibilă, indică faptul că ambele probe de dovlecei acoperite au fost semnificativ mai luminoase la sfârșitul celei de-a 42 zile de depozitare (**Tabelul 9.5**). Valorile negative ale  $a^*$  pentru pulpă nu sunt semnificativ diferite pe toată durata de depozitare pentru toate probele ( $p < 0,05$ ), ceea ce arată că acoperirea cu peliculă comestibilă nu a afectat negativ culoarea endocarpului de dovlecel sau capacitatea sa respiratorie. Diferența de culoare a pulpei nu este semnificativ diferită în primele 16 zile de depozitare, ceea ce este în concordanță cu termenul de valabilitate obișnuit al dovlecelor de aproximativ 14 zile ([Jancikova și colab., 2021](#)). După 42 de zile de depozitare, dovleceii cu acoperire cu peliculă comestibilă T sunt vizibil diferiți față de martor ( $\Delta E^* 1,96 \pm 0,01$ ), în timp ce dovleceii cu acoperire cu peliculă comestibilă S prezintă o diferență mare de culoare în comparație cu martorul ( $\Delta E^* 11,11 \pm 1,67$ ), ceea ce poate fi observat cu ușurință în **Tabelul 9.5**.

În **Figura 9.7** sunt prezentați dovleceii analizați după 12 și 42 de zile de păstrare.



**Figura 9.7.** Dovlecel după 12 (a) și 42 (b) zile de păstrare

Aspectul de zbârcire moderat a fost vizibil numai pentru dovleceii acoperiți cu S după 42 de zile de depozitare, care se corelează cu  $21,16 \pm 1,11$  pierdere în greutate (%), dar și cu rezultatele raportate de alți cercetători ([García și colab., 2020](#)).

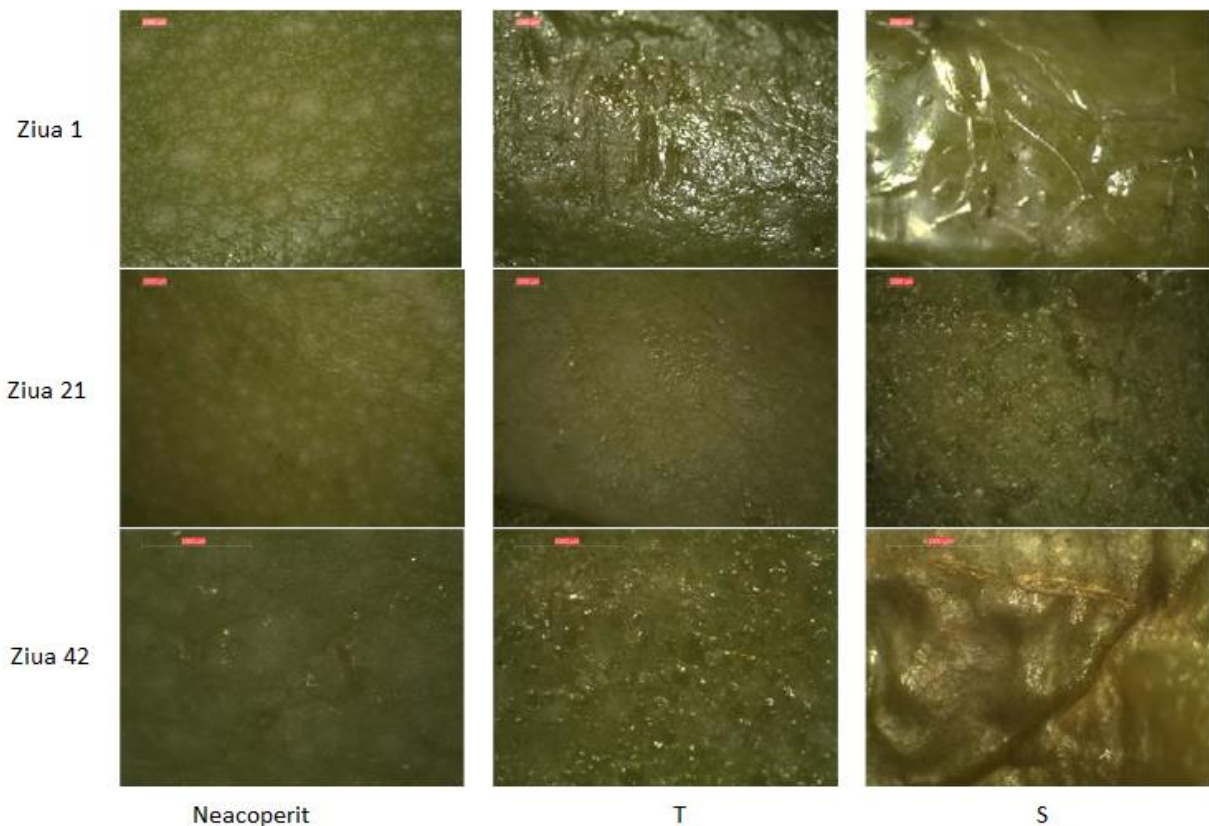
### Evaluarea senzorială a dovlecelilor

Toți parametrii de calitate au scăzut în timpul depozitării pentru toate probele, deși dovleceii cu acoperire cu peliculă comestibilă S au prezentat o deteriorare mai rapidă față de cei cu acoperire cu peliculă comestibilă T, pe toată perioada de depozitare.

Scorurile scăzute ale probelor control s-au datorat culorii cojii și pulpei, mirosului neplăcut și impresiei generale slabe. Dovleceii cu acoperire cu peliculă comestibilă T au obținut cele mai mari scoruri dintre toate probele, care au fost mai mari decât acceptabilitatea comercială până în a 21-a zi. Opinia paneliștilor indică faptul că acoperirea cu peliculă comestibilă T a dovlecelilor poate extinde termenul de valabilitate al dovlecelilor între 21- 42 zile, ceea ce corespunde unei prelungiri de 50–200 % a termenului de valabilitate.

### Evaluarea microscopică a acoperirilor cu pelicule comestibile ale dovlecelilor

**Figura 9.9.** arată că la începutul depozitării coaja tuturor dovlecelilor este netedă iar stratul S este vizibil și mai strălucitor în comparație cu stratul T. Pe măsură ce perioada de stocare crește, pierderea apei este vizibilă în proba neacoperită după 21 de zile și mai puțin vizibilă în dovleceii cu acoperire cu peliculă comestibilă. În timp ce acoperirea cu peliculă comestibilă T este netedă și a asigurat o întârziere a senescentei, acoperirea cu peliculă comestibilă S prezintă fisuri de suprafață, care sunt cel mai probabil legate de zbâncirea dovlecelilor. După 42 de zile de păstrare, dovlecelul de control are o culoare care și-a pierdut din intensitate și a devenit neatrăgătoare, cel cu acoperire cu peliculă comestibilă S a prezentat senescentă accelerată, în timp ce acoperirea cu peliculă comestibilă T a permis menținerea texturii ferme și a culorii vibrante, naturale.



**Figura 9.9.** Coaja de dovlecel evaluată la stereomicroscop pentru dovlecelul neacoperit, acoperit cu peliculă comestibilă T (T) și acoperit cu peliculă comestibilă S (S)

## 9.5. Concluzii

Acest studiu arată că tratamentul cu ultrasunete la 35 % amplitudine timp de 3 min asigură formarea de nanoemulsii de proteine din zer și ulei esențial de cimbru stabilizate printr-un amestec de guar și gumă arabică (S) sau prin polisorbit (T).

Nanoemulsiile cu S au prezentat o consistență mai mare decât controlul și probele cu T, în timp ce nanoemulsiile cu T nu au putut fi diferențiate reologic de martor din cauza vâscozității lor slabe.

Analiza SEM a indicat că acoperirea cu peliculă comestibilă S poate forma structuri mai compacte și cu picături de ulei mai mici decât T. Capacitatea diferită de reținere a substanțelor volatile ale acoperirilor cu peliculă comestibilă T și S evidențiată de amprenta gazcromatografică reflectă, de asemenea, capacitatea de conservare realizată de acoperirea cu peliculă comestibilă. Mai multe substanțe volatile, cum ar fi  $\alpha$ -pinenul, guaienul și cariofilenul migrează rapid din acoperirea cu peliculă comestibilă din stratul exterior spre pulpă încă din prima zi de depozitare. La sfârșitul depozitării, profilul VOC al cojii și pulpei dovlecelilor este semnificativ redus.

În timp ce reologia, SEM și GC au indicat că acoperirea cu peliculă comestibilă S este superioară acoperirii cu peliculă comestibilă T, când s-a aplicat pe dovlecel caracteristicile de calitate au favorizat proba T. Astfel pierderea mai mică de apă, fermitatea mai mare, profilul senzorial mai bun și culoarea cojii mai plăcută au fost asigurate prin acoperirea cu peliculă comestibilă T. Aceste constatări sugerează că, atunci când se aplicată pe dovlecel, acoperirea cu peliculă comestibilă T este mai eficientă pentru a acționa ca o membrană dinamică, permițând respirația dovlecelilor.

În plus, acoperirea cu peliculă comestibilă T are potențialul de a crește durata de valabilitate a dovlecelilor până la 21-42 de zile, corespunzătoare prelungirii termenului de valabilitate cu 50–200 %.

## 10. Obținerea filmelor compozite, active, din concentrat proteic din zer și zeină, destinate ambalării intermediare și aromatizării unui produs tip pudră instant cu cacao și conținut scăzut de lactoză

### 10.1. Introducere

În acest studiu, proteinele din zer și zeina, proteina din porumb, au stat la baza dezvoltării filmelor compozite, obținându-se prin solubilizarea lor în solvenți diferiți două soluții filmogene care au fost ulterior combinate.

Produsele tip pudră instant (cafea, ciocolată caldă) sunt de obicei comercializate în ambalaje individuale tip pliculețe din materiale nebiodegradabile, conținând fiecare câte o porție pentru prepararea unei băuturi calde. Aceste pliculețe pot fi înlocuite cu filme compozite din materiale biodegradabile. Filmele compozite ce conțin uleiuri esențiale (EO) pot îmbunătăți aroma produsului prin migrarea benefică a compușilor volatili din EO în film și apoi în produs, în timpul depozitării acestuia. Lavanda și scorțișoara se întâlnesc deseori în băuturile calde, sunt recomandate ambele pentru crearea unei stări de relaxare, acestea două fiind foarte compatibile utilizate atât separat cât și împreună.

### 10.2. Obiectivele studiului

- Obținerea filmelor compozite active pe bază de concentrat proteic din zer și zeină, caracterizarea fizico-chimică a acestora și evaluarea potențialului antimicrobian al uleiurilor volatile;
- Obținerea unui produs tip pudră instant cu cacao și conținut scăzut de lactoză și caracterizarea acestuia;
- Utilizarea filmelor compozite active ca material de ambalare pentru produsul obținut și analiza acestuia din punct de vedere al migrării compușilor volatili prezenți în uleiurile esențiale din film în produs, prin metoda GC-MS.

### 10.3.2. Procesul de obținere al filmelor compozite și al produsului tip pudră instant cu cacao și conținut scăzut de lactoză

Pentru început, a fost obținută o soluție proteică din zer (WPC) din concentrat proteic din zer și apă ultrapură, utilizând un raport de 1,8:33,0. Soluția a fost agitată 25 min/200-250 rpm pe un agitator mecanic și hidratată timp de 24 h, la temperatura de 4 °C. Aceasta a fost ulterior supusă unui tratament termic, pe baie de apă, la temperatura 82 °C, timp de 35 min pentru denaturarea proteinelor și eliberarea grupărilor SH reactive și formarea punților disulfurice în soluția polimerică, care ulterior a fost răcită în apă rece pentru oprirea efectului termic.

Separat, a fost preparată o soluție proteică din zeină (Z) utilizând un raport de 5,3:55,0 zeină:histoalcool 95 %. Soluția a fost încălzită la temperatura de 65 °C, într-un pahar Erlenmayer, pe un agitator mecanic la 200-250 rpm, timp de 10 min, urmând un proces de denaturare termică similar celui de mai sus.

Ulterior cele două soluții (WPC și Z) au fost amestecate în raport de 34,8:60,3, cele două fiind omogenizate pe un agitator mecanic sub agitare continuă la 200 rpm, timp de 5 minute, obținându-se un mix proteic din concentrat proteic din zer și zeină WPC-Z.

În soluția obținută WPC-Z, s-au adăugat 1,8 % acid citric, 1,3 % glicerol, și 1,8 % mix de uleiuri esențiale de scorțișoară:lavandă în raport de 1:1 (EO). Amestecul a fost supus ultrasonării, pe baie de gheață, timp de 2 min, la o amplitudine de 35 %, urmată de o degazare pe baie de apă timp de 3 min. Soluția a fost turnată în forme de silicon și uscată la 4 °C, timp de 48 h. Filmele obținute (EF/WPC-Z/EO) au fost ulterior echilibrate la RH 52 % timp de 24 h. S-au obținut totodată filme martor fără EO, respectând același procedeu de mai sus (EF/WPC-Z).

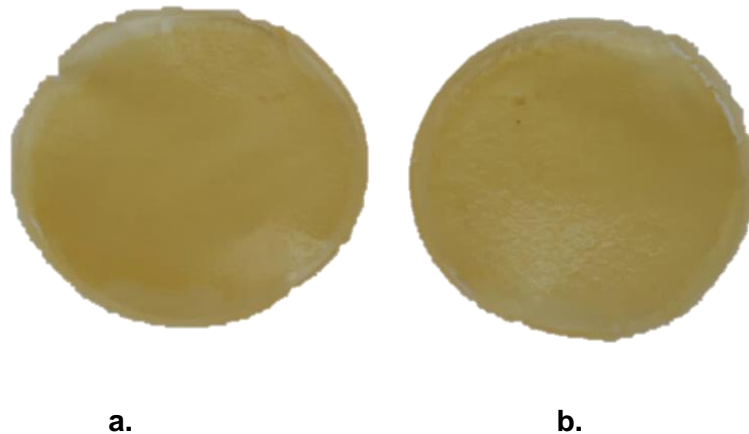
Uscarea zerului concentrat cu un conținut scăzut de lactoză (1,5 %) a fost realizată cu prin pulverizare respectând următorii parametri: temperatura aerului de intrare 185 °C, temperatura aerului cald la ieșire 98 °C, aspirație 100 %.

Pentru instantizarea băuturii pe bază de cacao s-au mixat 64,1 % pură de zer cu un conținut scăzut de lactoză obținut anterior prin uscarea prin pulverizare, cu 32,1 % cacao și 3,8 % lecitină din soia. După o umectare prealabilă până la 10 % a amestecului, pulberea a fost supusă operației de uscare în strat fluidizat până la 96 % s.u. în amestecul final.

Amestecul instant a fost ambalat în filmele compozite prin termosigare cu presarea între două lamele încălzite la temperatura de 90 °C.

### 10.4. Rezultate și discuții

Fimele compozite obținute au aspect uniform, fără bule de aer, sunt flexibile și au culoarea galben pai, caracteristică zeinei. Din punct de vedere vizual nu sunt diferențe între EF/WPC-Z/EO și filmul martor fără ulei esențial EF/WPC-Z, prezentate în **Figura 10.2**.



**Figura 10.2.** Film compozit zeină: WPC, cu mix de uleiuri esențiale lavandă: scorțișoară 1:1 EF/WPC-Z/EO (a) și film martor fără ulei esențial EF/WPC-Z (b)

A fost obținut un produs instant, tip pudră, cu cacao și conținut scăzut de lactoză are aspect uniform, fără aglomerări, culoare specifică pudrei de cacao și miros caracteristic plăcut (**Figura 10.3.**).



**Figura 10.3.** Produsul tip pudră instant cu cacao și conținut scăzut de lactoză înainte de instantizare (a) și după instantizare (b).

Pudra instant cu cacao și conținut scăzut de lactoză a fost ambalată în filmele compozite formând ambalaje individuale, tip plic, potrivite pentru o porție de băutură caldă (**Figura 10.4.**).



**Figura 10.4.** Produs tip pudră instant cu cacao și conținut scăzut de lactoză ambalat în filme compozite

Produsul tip pudră instant cu cacao și conținut scăzut de lactoză a fost solubilizat în apă caldă (60 °C) atât înainte cât și după o perioadă de 4 săptămâni de la ambalarea acestuia în filmul compozit. Rezultatul a fost o băutură cu un aspect plăcut, culoare specifică pudrei de cacao, precum și o solubilizare completă a produsului tip pudră instant, fără aglomerări (**Figura 10.5.**)



**Figura 10.5.** Produsul tip pudră instant cu cacao și conținut scăzut de lactoză solubilizat în apă pentru obținerea unei băuturi calde

### Determinarea grosimii filmelor compozite

Grosimile filmelor EF/WPC-Z și EF/WPC-Z/EO sunt prezentate în **Tabelul 10.1.**, între ele nefiind diferențe semnificative ( $p > 0,05$ ). *Oh și colab. (2004)* au studiat filme cu proteine din zer și zeină hidrolizată și au obținut filme cu grosimi între 0,2 și 0,3 mm, similare cu cele obținute în acest studiu.

**Tabelul 10.1.** Grosimea filmelor compozite

Filme	Grosime (mm)
EF/WPC-Z	0,20 ± 0,02 <sup>a*</sup>
EF/WPC-Z/EO	0,21 ± 0,02 <sup>a</sup>

*\*) Datele sunt media ±SD a trei repetări. Litera indică lipsa unor diferențe semnificative cu ANOVA și testul post-hoc Tuckey la  $p > 0,05$ .*

### Determinarea culorii și opacității filmelor compozite

Martorul pentru această analiză a fost ales un film pe bază de concentrat proteic din zer, pentru a observa cum influențează adăugarea zeinei în film culoarea acestuia. În filmul compozit, zeina adăugată a crescut valoarea  $L^*$ , indicând o creștere a luminozității (**Tabel 10.2.**). Valorile indicilor  $a^*$  și  $b^*$  indică nuanțe de verde și galben în filmul EF/WPC-Z/EO, față de filmul EF/WPC, unde valorile indicilor  $a^*$  și  $b^*$  indică nuanțe de roșu și albastru.

**Tabelul 10.2.** Parametrii de culoare ai filmelor compozite

Parametru de culoare	Film	
	EF/WPC	EF/WPC-Z/EO
$L^*$	45,05 ± 4,45 <sup>a*</sup>	50,83 ± 4,05 <sup>a</sup>
$a^*$	0,11 ± 0,15 <sup>a</sup>	-1,03 ± 0,15 <sup>b</sup>
$b^*$	-0,16 ± 0,20 <sup>b</sup>	7,99 ± 0,75 <sup>a</sup>
Chroma ( $C^*$ )	0,18 ± 0,01 <sup>a</sup>	8,06 ± 0,85 <sup>b</sup>
Opacitatea (%)	60,00 ± 0,60 <sup>b</sup>	74,09 ± 4,50 <sup>a</sup>

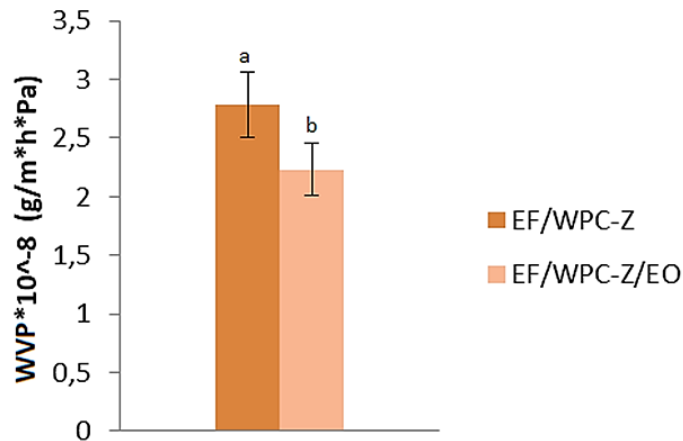
*\*) Datele sunt media ±SD a trei repetări. Literale diferite indică diferențe semnificative cu ANOVA și testul post-hoc Tuckey la  $p < 0,05$  pentru fiecare rând.*



**Figura 10.6.** Opacitatea filmelor compozite

### Determinarea permeabilității la vaporii de apă a filmelor compozite

Permeabilitatea la vaporii de apă a filmelor compozite este prezentată în **Figura 10.7.** În comparație cu EF/WPC-Z, EF/WPC-Z/EO are o permeabilitate mai mică la vaporii de apă cu 19,83 %, deci prin adăugarea EO în film, WVP a scăzut. Natura hidrofobă a uleiurilor esențiale conduce la o scădere a WVP a filmelor analizate (*Vahedikia și colab., 2019*).

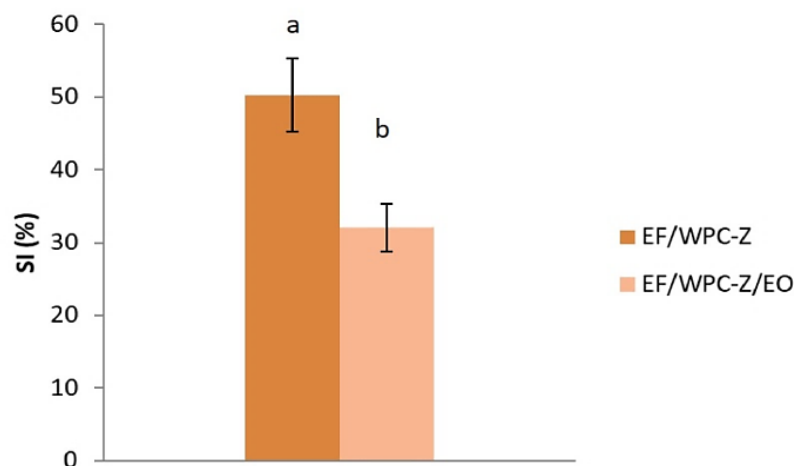


**Figura 10.7.** Efectul adăugării EO în filmul compozit asupra permeabilității vaporilor de apă

Se observă că aceste filme au același ordin de mărime, dar o permeabilitate de aproximativ două mai redusă decât cele acoperite cu strat de PLA (WF/G4).

### Determinarea indicelui de umflare

Adăugarea mixului de uleiuri esențiale de lavandă și scorțișoară în filmul compozit EF/WPC-Z/EO, scade indicele de umflare al filmului față de EF/WPC-Z cu 31,7 % (**Figura 10.8.**). Filmele cu SI mai mare, au proprietăți de absorbție a apei mai bune.



**Figura 10.8.** Efectul adăugării EO în filmul compozit asupra indicelui de umflare (SI)

### Determinarea activității antimicrobiene

S-a observat că filmul cu EO de lavandă și scorțișoară introdus în filmul compozit în raport de 1:1 a inhibat dezvoltarea microorganismelor, prezentând zone de inhibiție diferite în funcție de microorganismul testat. Rezultatele pentru activitatea antimicrobiană a filmelor compozite sunt prezentate în **Tabelul 10.3.**



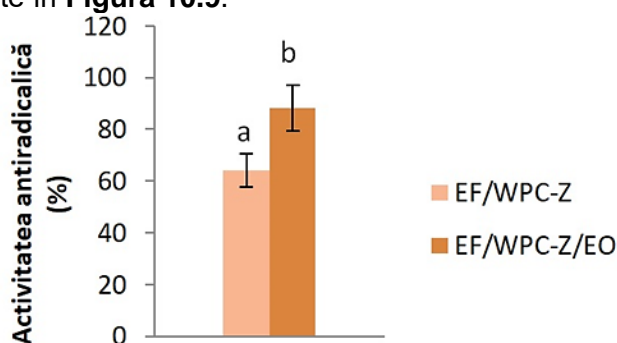
**Tabelul 10.3.** Zone de inhibiție ale filmelor compozite

Microorganism test	Zona de inhibiție a filmelor compozite (mm)	
	EF/WPC-Z	EF/WPC-Z/EO
<i>G. candidum</i>	0,00	77,6 ± 7,50
<i>R. glutinis</i>	4,89 ± 0,45 <sup>a</sup>	77,6 ± 7,50 <sup>b</sup>
<i>B. cereus</i>	16,21 ± 1,50 <sup>a</sup>	77,6 ± 7,50 <sup>b</sup>

Datele sunt media ±SD a trei repetări. Literele diferite indică diferențe semnificative între probele EF/WPC-Z și EF/WPC-Z/EO cu ANOVA și testul post-hoc Tuckey la  $p < 0,05$ .

#### Determinarea activității antiradicalice

Activitatea antiradicalică a filmului cu EO de 88,33 ± 8,70 %, este mai mare față de cea a filmului compozit care nu conține uleiuri esențiale cu 27,54 %, ceea ce înseamnă că filmul cu EO va asigura o protecție față de radicalii liberi care pot afecta negativ caracteristicile filmului. Rezultatele sunt prezentate în **Figura 10.9**.



**Figura 10.9.** Efectul adăugării EO în filmul compozit asupra activității antiradicalice

#### Amprenta volatilă a mixului de EO de lavandă și scorțișoară, a filmelor compozite și a produsului tip pudră instant ambalat în filme compozite

Câțiva dintre compușii volatili din EO scorțișoară și lavandă în raport de 1:1 au fost identificați utilizând biblioteca NIST, aceștia fiind prezentați în **Tabelul 10.4**.

Componentul major din EO este compusul aldehida cinamică. Procentul de migrare al compusului camfen în film este cel mai mare, ceea ce înseamnă că a rămas încorporat în matricea filmului. Cu toate acestea, procentul de migrare al compusului aldehida cinamică din film în produs este cel mai mare, ceea ce înseamnă că se va regăsi în pudra depozitată conferindu-i acesteia proprietăți funcționale dar și senzoriale.

**Tabel 10.4.** Migrarea procentuală a compușilor volatili determinată prin amprenta volatilă a filmelor compozite cu EO respectiv a produsului pudră pe bază de cacao și lapte delactozat ambalat în filme compozite cu EO față de mixul de lavandă și scorțișoară EO.

Probă	Migrarea compușilor volatili din EO în film și în produs (%)			
	O-cimen	Camfen	Aldehida cinamică	Eugenol
Film EF/WPC-Z/EO	1,58 ± 0,16	61,33 ± 0,63	40,12 ± 0,38	51,86 ± 0,54
Pudră instant depozitată în filmul EF/WPC-Z/EO	0,62 ± 0,68	18,34 ± 0,22	25,58 ± 0,30	11,35 ± 0,14

Se observă că s-a produs migrarea compușilor volatili în film și a fost identificată prezența acestora în matricea filmului. Spre exemplu, aria o-cimen din film este de  $1,58 \pm 0,16$  % din aria acestuia din EO, aria compusului camfen din film este de  $61,33 \pm 0,63$  % din aria acestuia din EO, aria compusului aldehida cinamică din film este de  $40,12 \pm 0,38$  % din aria acestuia în EO iar, aria compusului eugenol din film este de  $51,86 \pm 0,54$  % din aria acestuia din EO.

Produsul tip pudră instant a fost depozitat în filmul compozit o perioadă de patru săptămâni pentru a-i îmbunătăți stabilitatea și proprietățile senzoriale prin preluarea aromei și migrarea compușilor volatili, din film. Prin urmare, rezultatele analizei GS-MS denotă migrarea compușilor volatili din EO în produsul tip pudră instant, într-o proporție mai mică, deoarece o parte din aceștia s-au volatilizat în timp iar o altă parte a rămas în filmul compozit.

## 10.5. Concluzii

Proteinele din zer, zeina și mixul de uleiuri esențiale de lavandă și scorțișoară au fost utilizate pentru a obține o formulă de film comestibil compozit cu proprietăți funcționale.

Adăugarea EO în matricea filmului compozit a demonstrat o îmbunătățire semnificativă în ceea ce privește WVP, indicele de umflare, activitatea antiradicalică și antimicrobiană.

A fost elaborată tehnologia de obținere și a fost obținut un produs de tip pudră instant pe bază de cacao cu conținut scăzut de lactoză din zer pudră și pudră de cacao.

Produsul ambalat în filmele compozite nu a devenit lipicios în urma depozitării, pulberea nu aderă la ambalaj și prezintă o solubilitate bună în apă.

S-a demonstrat o migrare benefică a compușilor volatili, transferați din matricea filmului compozit în produsul tip pudră instant, demonstrată de concentrația compușilor volatili cheie identificați în produs, ceea ce asigură o activitate antiradicalică și antimicrobiană puternică dar și o aromatzare și implicit proprietăți senzoriale îmbunătățite.

## 11. Concluziile generale ale tezei de doctorat

- ✚ În contextul actual, este manifestat un interes din ce în ce mai mare al oamenilor de știință dar și al consumatorilor asupra înlocuirii plasticului utilizat în ambalarea alimentelor, cu materiale biodegradabile, ce au un impact minim asupra mediului înconjurător, iar teza de doctorat, prin tematica abordată și-a propus să răspundă acestor îngrijorări. O altă direcție de interes prezentată în acest studiu, a fost valorificarea subproduselor din industria alimentară, în acest caz zerul, un subprodus valoros din industria produselor lactate, care de multe ori este considerat un deșeu, el reprezentând de fapt o sursă valoroasă de proteine, și un material excelent în obținerea filmelor și a peliculelor care pot înlocui ambalajele convenționale utilizate în prezent. Nu în ultimul rând înlocuirea aditivilor de sinteză din alimente, utilizați pentru prelungirea duratei de valabilitate a produselor alimentare, cu alte ingrediente, naturale, precum uleiurile esențiale obținute din plante, care au câștigat încrederea consumatorilor, necesită cercetări aprofundate pentru a stabili concentrația adecvată, pentru a proteja și a elibera substanța activă în mediu, pentru a găsi matricea alimentară compatibilă senzorial cu acestea dar studierea interacțiunilor dintre EO și sistemul alimentar aliment-ambalaj.
- ✚ Această lucrare a debutat cu efectuarea unui *screening* al unor uleiuri esențiale și selectarea uleiului cu cel mai ridicat potențial antimicrobian față de un microorganism ubicuu, care pune probleme serioase și recurente în industria alimentară, *Listeria monocytogenes*.
- ✚ În urma acestui studiu, a fost selectat uleiul esențial de cimbru cu timol (TEO) pentru funcționalizarea filmelor și acoperirilor cu peliculă comestibilă, acesta având activitate antilisterială mai mare decât celelalte uleiuri esențiale analizate, o caracteristică importantă pentru siguranța consumatorilor.

## Dezvoltarea unor soluții de ambalare, biodegradabile, cu rol bioactiv, pentru produsele alimentare

- ✦ Pentru a proteja compușii volatili din uleiul esențial de cimbru selectat, au fost realizate complexe de incluziune  $\beta$ -CD/TEO (IC), prin metoda de co-precipitare, care au prezentat un mecanism competitiv de ocupare al situsurilor libere ale materialului încapsulant. Acest mecanism a fost explicat printr-o afinitate diferită de legare la cavitatea interioară și la grupările OH exterioare ale  $\beta$ -CD, a timolului și a altor compuși volatili majori din TEO.
- ✦ Studiul *in silico* a relevat potențiale mecanisme de asociere între compușii volatili și  $\beta$ -CD, în timp ce analiza GC/MS a pus în evidență concentrația principalilor compuși volatili din TEO, ambele determinări confirmând mecanismul de competiție între compușii volatili.
- ✦ Au fost dezvoltate filme comestibile în care s-au introdus IC-urile cu TEO care protejează principalii compuși volatili, cu activitate antimicrobiană dar care prezintă și o bună activitate antioxidantă.
- ✦ A fost îmbunătățită permeabilitatea la vaporii de apă pentru filmele cu TEO încapsulat în  $\beta$ -CD față de filmele cu TEO neîncapsulat.
- ✦ S-a studiat, de asemenea, cinetica eliberării compușilor activi încapsulați din complexe de incluziune introduse în filmele obținute, folosind doi simulanți alimentari, apă și etanol 95%, rezultatele arătând o viteză de eliberare mai lentă a compușilor activi în apă.
- ✦ Pentru a îmbunătăți în special proprietățile de barieră și caracteristicile mecanice ale filmelor, în această cercetare s-au obținut filme biocompozite din proteine din zer cu TEO și fibre din PLA rezultate din procesul de electrofilare.
- ✦ Opacitatea filmelor biocompozite a crescut concomitent cu creșterea grosimii stratului nanofibros de PLA. Filmele cu cea mai mare opacitate ar putea proteja mai bine produsele alimentare de modificări ușoare ale aspectului și de oxidarea lipidelor conținute de brânză, spre exemplu.
- ✦ WVP a scăzut atunci când grosimea stratului de PLA a crescut ceea ce înseamnă că s-au îmbunătățit proprietățile de barieră ale filmelor față de vaporii de apă, prin procesul de electrofilare. Permeabilitatea la CO<sub>2</sub> a scăzut și în cazul filmelor cu un strat mai gros de PLA.
- ✦ Filmele biocompozite prezintă o rigiditate și o rezistență la tracțiune din ce în ce mai mare, ca urmare a creșterii grosimii stratului nanofibros PLA. Se observă o îmbunătățire considerabilă a proprietăților mecanice ale filmelor prin adăugarea unei a doua pompe, oferind filme cu cel mai mare modul Young (de 5,16 ori mai mare decât în filmul neacoperit) și rezistență la tracțiune (2,71 ori mai mare decât în filmul neacoperit), ca urmare a creșterii grosimii stratului nanofibros PLA.
- ✦ Terpenele volatile (timol, carvacrol, camfen,  $\alpha$ -pinen, etc.) ale cimbrului EO au activitate antimicrobiană împotriva *L. monocytogenes* Scott A., *R. glutinis*, *B. cereus* și *G. Candidum*.
- ✦ Prima aplicație a acestui studiu asupra unui produs alimentar a fost acoperirea alunelor cu peliculă comestibilă pe bază de zeină, funcționalizată cu ulei esențial de dafin. Astfel a fost valorificat un subprodus din industria alimentară, zeina, și totodată am obținut o asociere inedită între alunele de pădure și uleiul esențial de dafin, aplicație apreciată de echipa de degustători. Alunele au beneficiat de stabilitate oxidativă îmbunătățită și acceptabilitate bună a consumatorilor precum și de protecție antimicrobiană furnizată de uleiul esențial de dafin. Uleiul esențial de dafin a prezentat un efect antimicrobian bun împotriva *G. candidum*, *R. glutinis* și *B. cereus*, care fac parte din microbiota comună a alunei.
- ✦ Amprenta volatilă a alunelor cu acoperire cu peliculă comestibilă a fost determinată prin cromatografie de gaze, metodă care a indicat o-cimenu drept cel mai abundent compus prezent în uleiul esențial de dafin, responsabil de efectul întârziere a proceselor de

râncezire oxidativă.

- Altă aplicație a acestui studiu asupra unui produs alimentar a fost acoperirea cu peliculă comestibilă, pe bază de guar și gumă arabică (S) și polisorbit (T), ca aplicație pentru protecția dovleceilor. Acoperirea cu peliculă comestibilă S aplicată dovleceilor este superioară față de acoperirea cu peliculă comestibilă T din punct de vedere reologic, SEM și GC, însă atunci când este aplicată pe dovlecel, pierderi mai mici de apă, fermitate mai mare, profil senzorial mai bun și culoarea cojii mai plăcute sunt asigurate prin acoperirea cu peliculă comestibilă T. Aceste constatări sugerează că, atunci când sunt aplicate pe dovlecel, acoperirile cu peliculă comestibilă T sunt mai eficiente pentru a acționa ca o membrană dinamică permițând respirația dovleceilor. În plus, acoperirile cu peliculă comestibilă T au potențialul de a crește durata de valabilitate a dovleceilor între 21-42 de zile, corespunzătoare prelungirii termenului de valabilitate cu 50–200%, ceea ce reprezintă un avantaj considerabil pentru conservarea acestora.
- De asemenea, o altă aplicație a acestui studiu asupra unui produs alimentar a fost obținerea unei formule de film comestibil compozit cu proprietăți funcționale, din proteinele din zer, zeină și mix de uleiuri esențiale de lavandă și scorțișoară, destinată ambalării unui produs de tip pudră instant pe bază de cacao cu conținut scăzut de lactoză din zer pudră și pudră de cacao. A fost dezvoltată o tehnologie de obținere a produsului de la materie primă până la produs finit și ambalare inedită de ambalaj biodegradabil, obținut din asocierea a două subproduse din industria alimentară, zerul și zeina. Adăugarea EO în matricea fimului compozit a demonstrat o îmbunătățire semnificativă în ceea ce privește WVP, indicele de umflare, activitatea antiradicalică și antimicrobiană.
- S-a demonstrat o migrare benefică a compușilor volatili demonstrată de concentrația compușilor volatili cheie identificați în produs, ceea ce asigură o activitate antiradicalică și antimicrobiană puternică dar a asigurat și proprietăți senzoriale îmbunătățite produsului.

## 12. Contribuții originale și perspective de continuare a cercetărilor

Contribuțiile originale ale acestei teze constau în elaborarea și caracterizarea unor filme și acoperiri cu pelicule comestibile biodegradabile, biocompozite, cu proprietăți fizico-chimice și microbiologice îmbunătățite, pentru ambalarea produselor alimentare. De asemenea, au fost dezvoltate produse noi.

Perspectivile de continuare ale cercetărilor constau în aplicarea filmelor și acoperirilor cu pelicule comestibile și altor categorii de produse alimentare, exploatarea altor resurse de subproduse din industria alimentară din care se pot obține filme și acoperiri cu pelicule comestibile precum și transferul rezultatelor cercetării în mediul tehnologic.

## 13. Diseminarea rezultatelor obținute

Publicații pe tema tezei de doctorat în reviste ISI

- Mechanism of  $\beta$ -cyclodextrin-thyme nanocomplex formation and release: In silico behavior, structural and functional properties, **Lanciu Dorofte A.**, Dima C., Bleoanca I., Aprodu I., Alexe P., Kharazmi M., Jafari S. M., Dima Ș., Borda D., *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2024, <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2024.100422>, **Q1, IF 6,2.**
- Controlled Release of  $\beta$ -CD-Encapsulated Thyme Essential Oil from Whey Protein Edible Packaging, *Coatings*, 2079-6412, **Lanciu Dorofte A.**, Dima C., Ceoromila A., Botezatu A., Dinica R., Bleoanca I., Borda D., 2023, <https://www.mdpi.com/2079-6412/13/3/508>; **Q2, IF 2,9.**
- Efficacy of Two Stabilizers in Nanoemulsions with Whey Proteins

	<p>and Thyme Essential Oil as Edible Coatings for Zucchini, <i>Membranes</i>, 2077-0375, Bleoanca, I., <b>Lanciu, A.</b>, Patrașcu, L., Ceoromila, A., Borda, D., 2022, <a href="https://www.mdpi.com/2077-0375/12/3/326">https://www.mdpi.com/2077-0375/12/3/326</a>; <b>Q1, IF 3,3.</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Manuscris</i>. Biocomposite active whey protein films with thyme and electrospun PLA fibers mat, <b>Lanciu Dorofte A.</b>, Bleoancă I., Bucur F., Stan F., Fetecău C., Mustățea G., Borda D., <i>Food Packaging and Shelf Life</i>, 2024; <b>IF 8,5.</b></li> </ul>
Alte publicații în reviste ISI	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proteases as Tools for Modulating the Antioxidant Activity and Functionality of the Spent Brewer's Yeast Proteins, <i>Molecules</i>, 1420-3049, Dumitrașcu L., <b>Lanciu Dorofte A.</b>, Grigore-Gurgu L., Aprodu I., 2023; <a href="https://www.mdpi.com/1420-3049/28/9/3763">https://www.mdpi.com/1420-3049/28/9/3763</a>; <b>Q1</b></li> <li>• A preliminary study on using ultrasounds for the valorization of spent brewer's yeast, <i>The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI-Food Technology</i>, 1843-5157, Dumitrașcu, L., <b>Lanciu Dorofte A.</b>, Aprodu I., Galati University Press, 2022, <a href="https://www.gup.ugal.ro/ugaljournals/index.php/food/article/view/5927">https://www.gup.ugal.ro/ugaljournals/index.php/food/article/view/5927</a></li> </ul>
Indici Web of Science Core Collection	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>H-Index: 3</b> (<a href="https://0h10qpkyy-y-https-www-webofscience-com.z-e-nformation.ro/wos/author/record/55016504">https://0h10qpkyy-y-https-www-webofscience-com.z-e-nformation.ro/wos/author/record/55016504</a>)</li> </ul>
Participare cu comunicări la conferințe internaționale	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bionanocomposite films based on whey, thyme essential oil and electrospun polylactic acid fibers, 7th International ISEKI-Food conference AgroParisTech, <b>Andreea Dorofte (Lanciu)</b>, Iulia Bleoancă, Florentina Bucur, Felicia Stan, Cătălin Fetecău, Gabriel Mustățea, Daniela Borda, Paris, Franța, 2023;</li> </ul>
Participare la conferințe naționale Comunicări	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ongoing new generation of functionalized biodegradable dairy packaging, Conferința Științifică a Scolilor Doctorale, Dunărea de Jos, <b>Lanciu Andreea (Dorofte)</b>, Iulia Bleoancă, Daniela Borda, 2020;</li> <li>• Characterisation of whey proteins and polylactic acid films with poly-composite structure, functionalized with thyme essential oil, Conferința Științifică a Școlilor Doctorale, Dunărea de Jos, <b>Lanciu Andreea (Dorofte)</b>, Iulia Bleoancă, Florentina Bucur, Felicia Stan, Cătălin Fetecău, Daniela Borda, 2022;</li> <li>• New bioactive whey - based packaging solutions for the food industry, Conferința Științifică a Școlilor Doctorale, Dunărea de Jos, <b>Andreea (Lanciu) Dorofte</b>, Iulia Bleoanca, Florentina Bucur, Gabriel Mustatea, Felicia Stan, Catalin Fetecau, Daniela Borda, 2023;</li> <li>• Sustainable whey valorization in poly-composite bioactive films with whey proteins concentrate and zein, designed for an instant hot drink, with cocoa and delactosed whey powder, Sesiunea de comunicări științifice studentești, Dunărea de Jos, <b>Lanciu (Dorofte) Andreea</b>, Borda Daniela, 2023;</li> <li>• Antimicrobial edible packaging based on yeast proteins, Sesiunea de comunicări științifice studentești, 2023;</li> <li>• Functionalized zein coatings with Laurel essential oil for hazelnuts shelf-life extension, Sesiunea de comunicări Științifice studentești, 2023;</li> <li>• Characterization of whey protein edible films functionalized with thyme essential oil with thujanol, Sesiunea de comunicări științifice</li> </ul>

	<p>studentești, 2023;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Învelișuri funcționale pentru prelungirea duratei de păstrare a alunelor de pădure descojite, Ugal Invent, <b>Andreea (Dorofte) Lanciu</b>, Fatima Elhiba, Iulia Bleoanca, Daniela Borda, 2023;</li> <li>• Poly-composite films based on whey proteins concentrate, zein, cinnamon and lavender EO's, designed for an instant hot drink with low lactose content, Conferința Științifică a Școlilor Doctorale, Dunărea de Jos, <b>Andreea (Lanciu) Dorofte</b>, Daniela Tiuleanu, Iulia Bleoanca, Daniela Borda, 2024</li> <li>• Development and characterization of yeast protein films, Euroaliment, Iulia Bleoancă, Rachid Nigrou, <b>Andreea Lanciu Dorofte</b>, Loredana Dumitrașcu, Iuliana Aprodu, Daniela Borda, Felicia Stan, Cătălin Fetecău, 2023;</li> <li>• Functionalized zein edible coating for hazelnuts shelf-life extension, Euroaliment, <b>Andreea Lanciu Dorofte</b>, Fatima Elhiba, Iulia Bleoanca, Daniela Borda, 2023</li> <li>• Electrospinning method used for obtaining of sustainable and edible packaging from poly-composite structure films based on whey protein and nanofiber of polylactic acid functionalized with thyme essential oil and their characterization, Euroaliment, <b>Andreea (Lanciu) Dorofte</b>, Iulia Bleoancă, Florentina Bucur, Felicia Stan, Cătălin Fetecău, Gabriel Mustățea, Daniela Borda, 2023, Galați, România.</li> </ul>
<p>Recunoaștere a rezultatelor cercetării: Premii obținute</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>MENTIUNE</b>, Conferința Științifică a Școlilor Doctorale, Dunărea de Jos, 2021;</li> <li>• <b>MENTIUNE</b>, Conferința Științifică a Școlilor Doctorale, Dunărea de Jos, 2022;</li> <li>• <b>PREMIUL I</b>, Conferința Științifică a Școlilor Doctorale, Dunărea de Jos, 2023;</li> <li>• <b>PREMIUL PROF. G.M. COSTIN</b>, Conferința Științifică a Școlilor Doctorale, Dunărea de Jos, 2023;</li> <li>• <b>BEST POSTER AWARD</b>, Euroaliment 2023;</li> <li>• <b>MEDALIA DE AUR</b>, Ugal Invent, 2023.</li> <li>• <b>MENTIUNE</b>, Conferința Științifică a Școlilor Doctorale, Dunărea de Jos, 2024.</li> <li>• <b>Premiul UEFISCDI</b>.</li> </ul>
<p>Participarea la stagii de pregătire în străinătate</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 24-28.10.2022, Varșovia, Polonia.</li> </ul>
<p>Participarea la alte activități: școli de vară, manifestări științifice</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Conferința UGAL – Dialoguri culturale și științifice, 24.10 – 03.11.2022, Organizată prin Proiectul <i>Academic and social internationalization of students at "Dunărea de Jos" University of Galati</i> – IDEI (UGAL)22, proiect code CNFIS-FDI-2022-0369, participant.</li> <li>• Competiția Națională de Idei și Planuri de Afaceri - Portul Antreprenorial, desfășurată online, 2020.</li> </ul>
<p>Proiect</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Strategii emergente de îmbunătățire a potențialului proteinelor din drojdia de bere în vederea obținerii de noi alimente funcționale, Fun Yeast, Asistent de cercetare în biotehnologie pentru agricultură, mai - august 2022.</li> </ul>