



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2014 00055**

(22) Data de depozit: **20/01/2014**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29/04/2022** BOPI nr. **4/2022**

(41) Data publicării cererii:
30/10/2015 BOPI nr. **10/2015**

(73) Titular:
• **UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN
BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI
NR.313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **ENACHE ANDREEA IOANA, STR. BÂRCĂ
NR. 26, BL. M105, AP. 4, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **BONTOȘ MARIUS DANIEL,
STR. DUILIU ZAMFIRESCU NR. 8, BL. 15,
SC. C, AP. 49, TÂRGOVIȘTE, DB, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**DONG-JOO KIM, KEUN-TAIK LEE,
"DETERMINATION OF MONOMERS AND
OLIGOMERS IN POLYETHYLENE
TEREPHTHALATE TRAYS AND BOTTLES
FOR FOOD USE BY USING HIGH
PERFORMANCE LIQUID**

**CHROMATOGRAPHY- ELECTROSPRAY
IONIZATION-MASS SPECTROMETRY",
POLYMER TESTING, VOL. 31, PP. 490-499,
2012; ANDREEA IOANA ENACHE
(BONTOS), MARIUS DANIEL BONTOS,
DĂNUȚ IONEL VĂIREANU, "UN NOU
SISTEM INTERNAȚIONAL PENTRU
STUDIAREA INTERACȚIUNILOR DINTRE
ALIMENTE, ADITIVI ALIMENTARI ȘI
MATERIALE DE AMBALARE", REV. CHIM.,
NO. 10, VOL. 64, BUCHAREST, 2013;
ELISABETA CERETTI, CLAUDIA ZANI,
ILARIA ZERBINI, LICIA GUZZELLA,
MAURO SCAGLIA, VANDA BERNA,
FRANCESCO DONATO, SILVANO
MONARCA, DONATELLA FERETTI,
"COMPARATIVE ASSESSMENT OF
GENOTOXICITY OF MINERAL WATER
PACKED IN POLYETHYLENE
TEREPHTHALATE (PET) AND GLASS
BOTTLES", ARTICLE IN WATER
RESEARCH, 2009**

(54) **METODĂ PENTRU IDENTIFICAREA PROCESELOR
DE LEVIGARE/MIGRARE A ADITIVILOR/SUBSTANȚELOR
DIN MATERIALELE DE AMBALARE FABRICATE DIN
POLIETILENTEREFTALAT ÎN BĂUTURILE ALCOOLICE
CONȚINUTE**



Invenția se referă la un metodă de analiză pentru identificarea unor interacții dintre materialele de ambalare din polietilentereftalat (PET) și băuturile alcoolice cu o concentrație de cel puțin 30% volum alcool, conținute în aceste ambalaje.

Este cunoscută o metodă de analiză care permite evaluarea potențialului de migrare al compușilor genotoxici în apa minerală stocată în PET comparativ cu apa minerală stocată în sticlă, respectiv probele sunt analizate pentru identificarea ftalatului de dietilhexil (DEHP) și ftalatului de dibutil (DBP), folosind tehnica microextracției fazei solide SPME, cuplată cu gaz-cromatografia/spectrometria de masă GC/MS, în timp ce pentru identificarea acetaldehidei este folosită doar gaz-cromatografia/spectrometria de masă GC/MS. Această metodă prezintă dezavantajul că este limitată doar la identificarea anumitor aditivi/substanțe chimice și este costisitoare (E. Ceretti, C. Zani, I. Zerbini, L. Guzzella, M. Scaglia, V. Berna, F. Donato, S. Monarca, D. Feretti, ***“Comparative assessment of genotoxicity of mineral water packed in polyethylene terephthalate (PET) and glass bottles”***, Water research, Vol. 44, pp. 1462-1470, 2010).

Sunt cunoscute și alte metode analitice pentru determinarea nivelurilor specifice de migrare din polietilentereftalat a antranil amidei efectuată prin cromatografie de înaltă performanță cu fază inversă RP-HPLC cuplată cu un detector de fluorescență sau a altor monomeri și oligomeri folosind cromatografia lichidă de înaltă performanță cuplată cu spectrometria de masă HPLC/MS. Dezavantajul acestor metode este reprezentat de faptul că au aplicabilitate limitată (Y. Zhan, N. Li, Y. Yu, W. Han, H. Wang, ***“Development of HPLC analytical method for determination of anthranilamide into food simulants from polyethylene terephthalate”***, Polymer Testing, Vol. 31, pp. 876-879, 2012, D-J. Kim, K-T. Lee, ***“Determination of monomers and oligomers in polyethylene terephthalate trays and bottles for food use by using high performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry”***, Polymer Testing, Vol. 31, pp. 490-499, 2012).

Este cunoscută și o metodă pentru normalizarea ariilor picurilor, aceasta fiind o aproximare utilizată pentru eliminarea incertitudinilor asociate simplei injectări. Conform acestei metode, aria tuturor picurilor complet eluate este calculată, iar concentrația analitică este identificată ca raport al ariei unui pic la aria totală a tuturor picurilor [L. Jäntschi, ***“Chimie Fizică. Analize Chimice și Instrumentale”***, Ed. AcademicDirect, ISBN 973-86211-7-8, 2004 (<http://ph.academicdirect.ro>)].

Din literatura de specialitate investigată nu s-a relevat până în prezent existența unei metode facile care să se concentreze pe simpla identificare a faptului că există sau nu procese de migrare/levigare a aditivilor/substanțelor chimice din ambalaj în băutura conținută și care să permită cuantificarea compușilor de migrare prin compararea ariilor picurilor ulterior aplicării unei proceduri de normalizare menite să elimine erorile experimentale.

Problema pe care o rezolvă invenția este aceea că permite identificarea unor interacții dintre materialele de ambalare din polietilentereftalat și băuturile alcoolice conținute, având o concentrație de cel puțin 30% volum alcool, prin aplicarea unei metode ce constă în compararea ariilor picurilor rezultate în urma analizelor HPLC. De asemenea, este propusă o procedură de normalizare a picurilor, realizată inițial pe etanol, considerat ca substanță conținută în mod standard în băuturile alcoolice, care constă în calcularea unui factor de normalizare urmată de calcularea ariilor echivalente.

Metoda conform invenției elimină dezavantajele menționate mai sus prin aceea că permite cuantificarea facilă a interacțiilor dintre materialele de ambalare din PET și băuturile conținute prin introducerea directă a analitului (alcool) în valva de injecție, eluentul folosit

fiind apa distilată; datele rezultate sunt achiziționate de un sistem computerizat și folosite ulterior pentru calcularea ariilor picurilor, a factorului de normalizare și pentru compararea rezultatelor în vederea identificării compușilor de levigare. Așadar metoda prezentată mai sus poate furniza informații preliminare valoroase despre procesele de migrație, iar dacă este utilizată în combinație cu standardele pentru aditivii cunoscuți pot fi folosite, de asemenea, pentru speciația și identificarea cantitativă a compușilor levigați.	1
Invenția prezintă următoarele avantaje:	7
- metoda furnizează informații preliminare valoroase despre procesele de levigare;	
- metoda utilizată în combinație cu standardele pentru aditivii cunoscuți poate fi folosit și pentru speciația și identificarea cantitativă a compușilor levigați;	9
- este o metodă de testare rapidă ce permite identificarea facilă a eventualelor interacții dintre conținutul alcoolic și materialul de ambalare din polietilenă tereftalat PET;	11
- este o metodă economică, eluentul folosit fiind apa distilată;	13
- permite diminuarea erorilor experimentale prin aplicarea procesului de normalizare a ariilor picurilor.	15
Metoda permite pentru prima dată identificarea facilă a interacțiilor dintre ambalajele din PET și conținutul alcoolic, diminuarea și eliminarea erorilor experimentale, conducând la îmbunătățirea acurateții și preciziei în cazul identificării picurilor sau compușilor care au migrat din PET în băuturile alcoolice.	17
Se dă în continuare un exemplu de realizare a invenției, în legătură și cu fig. 1...3, care reprezintă:	19
- fig. 1, schema bloc de analiză asociată metodei, compusă din: valvă de injecție (1), echipamentul HPLC (2), detector UV/VIS (3), convertor analog digital CAD (4), înregistrator de date (5), computer COM (6);	21
- fig. 2, cromatograma semnalului de răspuns și variația lui în timp în funcție de substanțele adsorbite cu ilustrarea cromatografică a picului de etanol 1 și a rezultantei compușilor levigați 2;	23
- fig. 3, suprapunerea cromatogramelor corespunzătoare celor trei probe analizate, respectiv suprapunerea picurilor de etanol 3, 4, 5 și suprapunerea rezultatelor compușilor levigați 6, 7, 8, corespunzătoare testelor derulate pe cele trei probe supuse analizei (S1, S2, S3).	25
Legendă:	27
- S ₁ - prima probă de alcool, prelevată din recipientul de polietilenă tereftalat - ambalaj original;	29
- S ₂ - a doua probă de alcool, prelevată dintr-un vas din sticlă cu dop rodat din sticlă conținând bucăți de polietilenă tereftalat de dimensiuni cunoscute, rezultate din decuparea ambalajului original;	31
- S ₃ - a treia probă de alcool, prelevată din balonul cotelat de sticlă în care alcoolul este transferat și păstrat ca probă de referință;	33
1 - picul corespunzător etanolului;	35
2 - rezultanta compușilor levigați;	37
3, 4, 5 - suprapunerea picurilor de etanol corespunzătoare celor trei experimente derulate pe cele trei probe supuse analizei (alcoolul din sticla de PET - ambalaj original - S ₁ , alcoolul transferat într-un recipient din sticlă în care au fost imersate bucățile de PET rezultate din decuparea altui ambalaj original - S ₂ și alcoolul transferat într-un balon cotelat de sticlă, păstrat ca probă de referință, S ₃);	39
6, 7, 8 - suprapunerea rezultatelor compușilor levigați corespunzătoare celor trei experimente efectuate pe probele S ₁ , S ₂ , S ₃ .	41
	43
	45
	47

Metoda, conform invenției, este următoarea: proba de analizat, respectiv alcoolul este introdus în volum mic în fluxul fazei mobile prin valva de injecție **1**, ajunge în coloană unde trecerea este încetinită datorită interacțiilor ce au loc; pompa din cadrul instalației **HPLC 2** are rolul de a împinge faza mobilă din coloană către detectorul **UV/VIS 3** care lucrează la lungimi de undă cuprinse între 100-400 nm și care indică timpurile de retenție, generând un semnal analog care ulterior este convertit în semnal digital cu ajutorul unui convertor analog digital **CAD 4**. Valorile obținute în urma conversiei sunt stocate într-un înregistrator de date **5** și transmise mai departe în computer **COM 6** unde datele sunt prelucrate cu ajutorul software-ului aferent, rezultând cromatogramele corespunzătoare celor trei experimente derulate pe cele trei probe supuse analizei **S₁**, **S₂** și **S₃**.

Analizele sunt efectuate folosind trei probe de alcool cu o concentrație de minimum 30% volum alcool, ce au fost lăsate timp de câteva luni la aceeași temperatură (primul eșantion **S₁**, este prelevat din recipientul de polietilentereftalat - ambalajul original, a doua probă a este prelevată din balonul cotat din sticlă conținând bucăți de polietilentereftalat rezultate din decuparea ambalajului PET, **S₂**. În timp ce a treia, **S₃**, este prelevată dintr-un balon cotat din sticlă în care alcoolul este transferat și păstrat ca probă de referință).

Ideea principală este aceea de a observa dacă pe parcursul depozitării, alcool păstrat în recipientul original din PET și alcoolul păstrat în balonul cotat conținând bucăți de polietilentereftalat au extras sau nu aditivi/substanțe din materialul de ambalare. Există posibilitatea ca alcoolul să nu extragă aditivi/substanțe din materialul de ambalare, caz în care înălțimile/ariile picurilor din cromatogramele rezultate în urma testării celor trei probe ar trebui să fie identice și să se suprapună. Există însă și posibilitatea ca alcoolul să extragă aditivi/substanțe chimice, caz în care înălțimile/ariile picurilor ar trebui să difere, fapt vizibil prin suprapunerea cromatogramelor aferente celor trei probe testate (fig. 3). Astfel, picul cu aria/înălțimea cea mai mare corespunde probei **S₁**, prelevată din ambalajul original, în timp ce picul cu aria/înălțimea cea mai mică corespunde probei **S₃**, proba de referință, deoarece aceasta conține numai aditivii/substanțele extrase inițial, înainte ca alcoolul să fie transferat în recipientul din sticlă. Testele sunt replicate de trei ori pentru fiecare eșantion supus analizei utilizând cromatografia lichidă de înaltă performanță HPLC.

Calcularea ariilor picurilor se realizează în mod automat cu ajutorul software-ului aferent. Datorită erorilor experimentale inerente, există însă mici diferențe între ariile/înălțimile picurilor corespunzătoare etanolului, **1**, când, teoretic, ele ar trebui să fie la fel, deoarece concentrația alcoolului este identică în toate probele supuse analizei. De aceea este propusă o procedură de normalizare a ariilor picurilor. Astfel, normalizarea este realizată inițial pe etanol și constă în calcularea unui factor de normalizare aplicând formula: $f_{i,1} = A_{i,1} / A_{2,1}$, unde i reprezintă numărul probei, $f_{i,1}$ este factorul de normalizare al S_i , aflat în corelație cu **S₃** și $A_{i,1}$ reprezintă aria primului pic corespunzător probei **S₁**, în timp ce $A_{2,1}$ este aria primului pic corespunzător probei **S₃**.

După calcularea factorului de normalizare se poate calcula aria echivalentă folosind formula: $A_{i2C} = A_{i2} / f_{i,1}$, unde A_{i2} este aria celui de-al doilea pic ce corespunde probei **S₁** sau **S₂** iar $f_{i,1}$ este factorul de normalizare al S_i , în corelație cu proba **S₃**.

Conform suprapunerii cromatogramelor obținute în urma analizei HPLC, referitor la cel de-al doilea pic **6, 7, 8**, cel al rezultanței compușilor levigați, aria celui mai înalt pic, după aplicarea procedurii de normalizare, corespunde probei prelevate din băutura alcoolică păstrată în ambalajul original, în timp ce picul cu aria/înălțimea cea mai mică corespunde probei prelevate din recipientul cu proba de referință; proba prelevată din recipientul de sticlă cu fragmente de PET imersate situându-se între cele două. Diferențele dintre ariile probelor

RO 130649 B1

S₁ și S₃ (corespunzătoare picurilor 6 și 8) sunt notabile și nu pot fi explicate prin prisma erorilor experimentale, cu atât mai mult cu cât valorile experimentale obținute au fost supuse procedurii de normalizare, confirmând așadar migrarea/levigarea unor aditivi/substanțe din polietilentereftalt PET în mixtura apă-alcool.	1 3
Prin urmare, metoda propusă a demonstrat că picurile rezulate din analiza HPLC nu se suprapun și că există o diferență semnificativă între ariile acestora. În special în favoarea conținutului stocat în PET confirmând existența unor procese de levigare/migrare din materialul de ambalare în băutura alcoolică conținută.	5 7

Revendicări

1. Metodă pentru identificarea proceselor de levigare/migrare a aditivilor/substanțelor din materialele de ambalare fabricate din polietilentereftalat în băuturile alcoolice conținute, **caracterizată prin aceea că**, se realizează o comparare a ariilor picurilor rezultate în urma analizelor HPLC efectuate pe o probă de băutură alcoolică, (S_1), prelevată dintr-o sticlă din polietilenă tereftalat, o a doua probă, S_2 , prelevată dintr-un vas de sticlă cu dop rodat ce conține bucăți de polietilenă tereftalat rezultate din decuparea ambalajului din PET, cu o a treia probă, (S_3), probă de referință, în care alcoolul a fost transferat într-un balon cotat din sticlă, și apoi se realizează o normalizare a picurilor, realizată inițial pe etanol, considerat substanță conținută în mod standard în băuturile alcoolice, care constă în calcularea unui factor de normalizare aplicând formula: $f_{i,1} = A_{i,1}/A_{3,1}$, unde i reprezintă numărul probei, $f_{i,1}$ este factorul de normalizare al (S_i) aflat în corelație cu (S_3) și $A_{3,1}$ reprezintă aria primului pic corespunzător probei (S_1), în timp ce $A_{3,1}$ este aria primului pic corespunzător probei (S_3), urmată de calcularea ariilor echivalente, folosind formula: $A_{i2C} = A_i/f_{i,1}$, unde A_i este aria celui de-al doilea pic ce corespunde probei (S_1) sau (S_2), iar $f_{i,1}$ este factorul de normalizare al (S_1), în corelație cu proba (S_3).

2. Metodă, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că**, în urma suprapunerii cromatogramelor obținute în urma analizei HPLC, referitor la cel de-al doilea pic, cel al rezultantei compușilor levigați, aria celui mai înalt pic, după realizarea normalizării, corespunde probei prelevate din băutura alcoolică păstrată în ambalajul original, în timp ce picul cu aria/înălțimea cea mai mică corespunde probei prelevate din recipientul cu proba de referință; proba prelevată din recipientul de sticlă cu fragmente de PET imersate situându-se între cele două, iar diferențele dintre ariile probelor (S_1) și (S_3), sunt notabile, confirmând așadar migrarea/levigarea unor aditivi/substanțe din PET în mixtura apă-alcool.

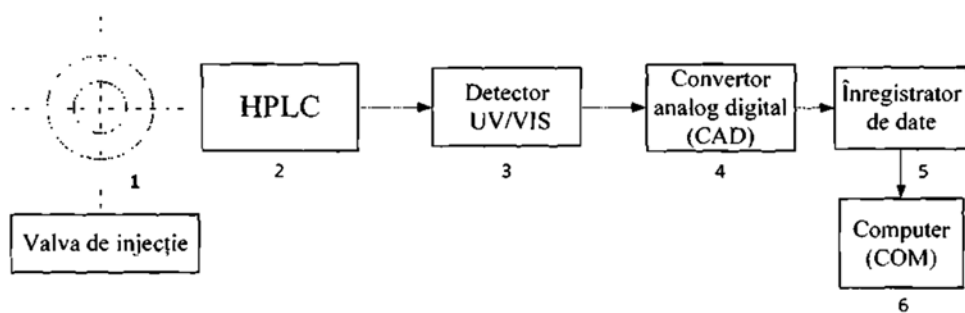


Fig. 1

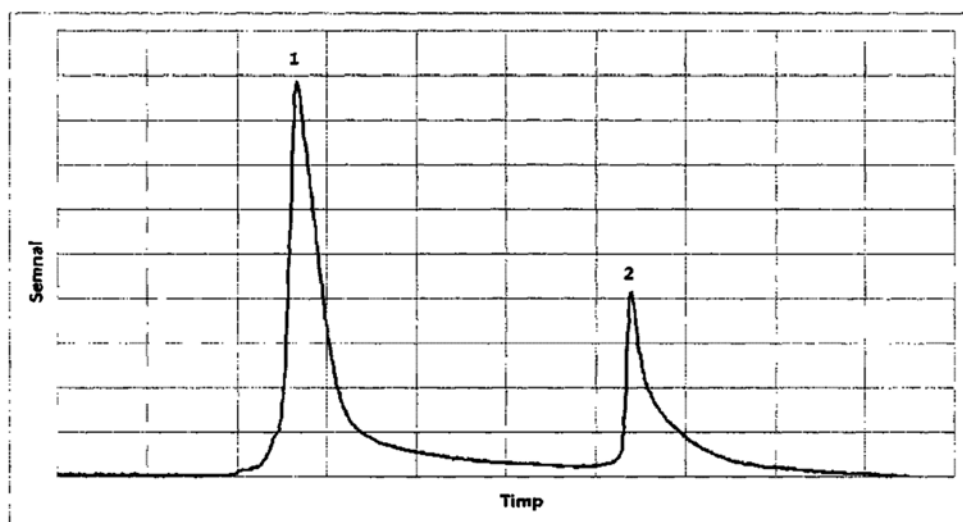


Fig. 2

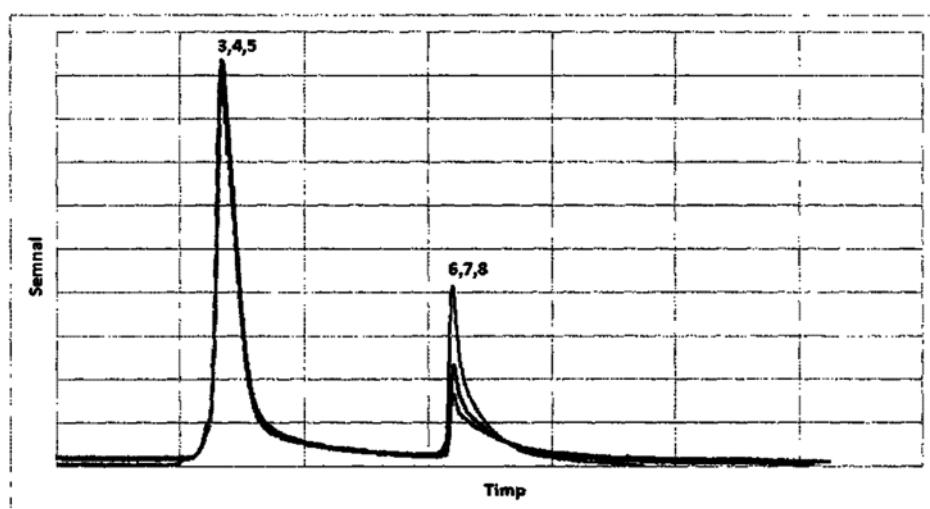


Fig. 3

