



(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2020 00322**

(22) Data de depozit: **09/06/2020**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/09/2022** BOPI nr. **9/2022**

(41) Data publicării cererii:  
**30/12/2020** BOPI nr. **12/2020**

(73) Titular:  
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU  
TEHNOLOGII IZOTOPICE ȘI  
MOLECULARE, STR.DONATH NR.65-103,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(72) Inventatori:  
• **ȘTEFAN MARIA VIORICA,  
STR. ONISIFOR GHIBU NR. 20A, AP. 29,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**  
• **RĂPĂ MARIA, ALEEA GORNEȘTI, NR.3,  
BL.52, SC.1, PARTER, AP.2, SECTOR 4,  
BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **PANĂ IOAN OVIDIU, STR.PORȚILE DE  
FIER, NR.2, ET.4, AP.33, CLUJ-NAPOCA,  
CJ, RO;**  
• **VODNAR DAN CRISTIAN,  
STR.REPUBLICII, NR.11A, AP.5,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**  
• **MATEI ECATERINA,  
BD.CONSTRUCTORILOR NR.3, BL.G3,  
SC.B, ET.2, AP.30, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **BARTA DANIEL GABRIEL, ALEEA IEZER,  
NR.2, SC.1, BL.J3, AP.10, CLUJ-NAPOCA,  
CJ, RO;**

• **POPA ADRIANA PAULA,  
STR. FÂNTÂNELE, NR.40, BL.V7, SC.1,  
ET.1, AP.5, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**  
• **TOLOMAN DANA AURICA,  
STR. VIDRARU, NR.1-3, BL.C6, SC.2, AP.76,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**  
• **LEOȘTEAN CRISTIAN, STR.1DECEMBRIE  
1918, NR.6, AP.9, BECLEAN, BN, RO;**  
• **MACAVEI GABRIEL SERGIU,  
STR. TRAIAN VUIA NR. 122, AP. 2,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:  
**A. DIEZ PASCUAL, A DIEZ-VINCENTE,  
"POLY (3-HYDROXYBUTYRATE)/ZnO  
NANOCOMPOSITES WITH IMPROVED  
MECHANICAL, BARRIER AND  
ANTIBACTERIAL PROPERTIES", INT. J.  
MOL. SCI., VOL. 15(6), 2014; INSOO KIM,  
KARTHIKA VISWANATHAN, GOPINATH  
KASI, KAMBIZ SADEGHI, SARINTHIP  
THANAKKASARANEE AND JONGCHUL  
SEO, "POLY(LACTIC ACID)/ZnO  
BIONANOCOMPOSITE FILMS WITH  
POSITIVELY CHARGED ZnO AS  
POTENTIAL ANTIMICROBIAL FOOD  
PACKAGING MATERIALS", POLYMERS  
VOL. 11(9), 2019; CN 104336069 A**

(54) **COMPOZIȚIE DE NANOSTRUCTURI PE BAZĂ  
DE NANOPARTICULE DE ZnO DOPATE CU Fe ȘI PHBV  
ȘI PROCEDEU DE OBTINERE DE FILME DE ACID  
POLILACTIC ACOPERITE CU ACEASTA**



# RO 134634 B1

1           Invenția se referă la o compoziție de nanostructuri pe bază de nanoparticule de ZnO  
dopate cu Fe înglobate în polihidroxibutirat-co-valerianat pentru acoperirea filmului de acid  
3 polilactic și la un procedeu de obținere de filme de acid polilactic acoperite cu aceste  
nanostructuri.

5           Materialele de ambalare a alimentelor obținute din resurse petroliere reprezintă o  
problemă majoră datorită limitării și persistenței în mediul înconjurător, după folosire. Un alt  
7 dezavantaj al ambalajelor alimentare convenționale este legat de durata scurtă de viață a  
acestora. Pe baza acestor abordări, în ultimii ani s-au depus eforturi serioase pentru dezvoltarea  
9 materialelor biodegradabile din resurse regenerabile pentru ambalajele alimentare care  
să asigure o calitate deplină a alimentelor. Biopolimerii obținuți din diferite resurse naturale  
11 sunt considerați o alternativă atractivă pentru materiale plastice nebiodegradabile pe bază  
de petrol, întrucât acestea sunt regenerabile, ecologice și biodegradabile. În același timp,  
13 materialele utilizate pentru ambalarea alimentelor trebuie să aibă activitate antibacteriană  
pentru o perioadă lungă de timp [**P. Appendini, J. H. Hotchkiss, Review of antimicrobial  
15 food packaging, Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 3(2002), 113-126; K. Hanusová, J. Dobiáš, K. Klaudivová, Effect of packaging films releasing antimicrobial agents on  
17 stability of food products, Czech. J. Food Sci. 27(2009), 347-349]** pentru a prelungi  
durata de păstrare a alimentului depozitat și a asigura siguranța consumatorului, să aibă  
19 proprietăți mecanice și termice adecvate și să dețină proprietăți anti-UV. Uniunea Europeană  
a stipulat ca ambalajele alimentare trebuie să respecte Regulamentul cadru 1935/2004 (CE)  
21 care stabilește cerințele pentru materialele și obiectele care sunt destinate să vină în contact  
cu produsele alimentare. Atunci când compozitele polimerice vin în contact cu alimentul,  
23 există posibilitatea ca substanțele chimice să migreze în alimente, acest fenomen fiind  
periculos pentru sănătatea umană. Cantitatea de substanțe transferate nu trebuie să  
25 depășească 60 mg/kg aliment, sau 10 mg/dm<sup>2</sup> raportat la aria suprafeței. Aceste limite nu  
se aplică pentru nanoparticule.

27           Deteriorarea alimentelor poate fi, de asemenea, cauzată de creșterea microbiană pe  
suprafața produselor alimentare. Filmele de ambalare care posedă proprietăți antimicrobiene  
29 pot preveni sau întârzia desfășurarea unor astfel de fenomene. O abordare a problemei  
aderenței microbiene implică pretratarea suprafeței sensibile cu un agent antimicrobian.  
31 Unele materiale, când sunt impregnate cu biocide sau antibiotice, pot rezista la colonizarea  
bacteriană atâta timp cât sunt eliberați agenții antibacterieni de pe suprafețele lor [**C. K.  
33 Bower, J. McGuire, M. A. Daeschel, The adhesion and detachment of bacteria and  
spores on food-contact surfaces, Trends în Food Sci. Technol. 7(5), (1996), 152-157].**

35           Multe studii raportează utilizarea nanoparticulelor anorganice, ca de exemplu, argint  
(Ag), oxid de fier (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>), oxid de titan (TiO<sub>2</sub>), oxid de cupru (CuO) și oxid de zinc (ZnO), atât  
37 ca agenți de ranforsare pentru îmbunătățirea proprietăților mecanice ale biocompozitelor  
polimerice cât și pentru adăugarea unor proprietăți funcționale, cum ar fi activitatea  
39 antimicrobiană [**N. Noshirvani, B. Ghanbarzadeh, R. R. Mokarram, M. Hashemi, Novel  
active packaging based on carboxymethyl cellulose-chitosan - ZnO NPs  
41 nanocomposite for increasing the shelf life of bread, Food Pack Shelf Life 11(2017),  
106-14; S. M.Syame, W. S. Mohamed, R. K. Mahmoud, S. T. Omara, Synthesis of  
43 copper-chitosan nanocomposites and its application în treatment of local pathogenic  
isolates bacteria, Orient J. Chem. 33, (2017), 2959-2969]. Metodele de încorporare a  
45 nanoparticulelor, inclusiv dimensiunea și compoziția lor chimică, cristalinitatea și forma pot  
fi controlate în scopul de ajustare a proprietăților materialelor de ambalare. Cu toate acestea,**

nanoparticulele pot să migreze la produsele alimentare ambalate [V. G. L.Souza, A. L. Fernando, *Nanoparticles în food packaging: Biodegradability and potential migration to food-A review*, Food Pack Shelf Life 8, (2016), 63-70]. 1 3

Nanoparticulele de ZnO prezintă absorbție ridicată în domeniul UV, activitate antimicrobiană în intervalul de pH 7-8 eV în absența luminii și prin urmare, se folosesc pentru aplicații diverse precum: fotocataliza [Y. G. Habba, M. Capochichi-Gnambodoe, Y. Leprince-Wang, *Enhanced Photocatalytic Activity of Iron-Doped ZnO Nanowires for Water Purification*, Appl. Sci. 7, (2017), 1185, (1-10)], medicamente, cosmetice, pansamente medicale [L. Sun, J. Han, Z.Liu, S. Wei, X. Su, G. Zhang, *The facile fabrication of wound compatible anti-microbial nanoparticles encapsulated collagenous chitosan matrices for effective inhibition of poly-microbial infections and wound repairing în bum injury care: Exhaustive in vivo evaluations*. J. Photochem. Photobiol. B: Biology, 197, (2019), 111539], dispozitive optoelectronice și de imagistică medicală [R. Naphade, J. Jog, *Electrospinning of PHBV/ZnO Membranes: Structure and Properties*, Fibers and Polymers 13(6)(2012) 692-697], acoperiri antibacteriene [A. L. Rivera-Briso, Á. Serrano-Aroca, *Poly(3-Hydroxybutyrate-co-3-Hydroxyvalerate): Enhancement Strategies for Advanced Applications*. Polymers (Basel), 10(7) (2018) 732(2-28)], ambalaje alimentare [A. M. Diez-Pascual, A. L. Diez-Vicente, *ZnO-Reinforced Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Bionanocomposites with Antimicrobial Function for Food Packaging*, ACS Appl. Mater. Interfaces 6(12), (2014), 9822-9834] etc. 5 7 9 11 13 15 17 19

Conform datelor din literatura de specialitate este bine cunoscut faptul că metoda de sinteză a nanoparticulelor de ZnO influențează morfologia și proprietățile acestora. Nanoparticulele de ZnO se pot sintetiza prin metoda precipitării, metoda hidrotermală, evaporare termică, descompunere electrochimică, metoda sono-chimică, sol-gel etc. Metoda precipitării prezintă unele avantaje față de alte metode de sinteză fizice sau chimice, printre care enumerăm necesitatea unei aparaturi simple și nesofisticate, posibilitatea de obținere la scară largă a nanoparticulelor cu formă și dimensiuni controlate. Mai mult, această metodă permite controlul riguros al nucleării și creșterii particulelor în soluție [A.S.H. Hameed, C. Karthikeyan, S. Sasikumar, V. Senthil Kumar, S. Kumaresan, G. Ravi, *Impact of Alkaline Metal Ions Mg<sup>2+</sup> Ca<sup>2+</sup> Sr<sup>2+</sup> and Ba<sup>2+</sup> on the Structural, Optical, Thermal and Antibacterial Properties of ZnO Nanoparticles Prepared by the Co-Precipitation Method*, J. Mater. Chem. B 1(2013) 5950-5962; S. Suwanboon, P. Amornpitoksuk, A. Sukolrat, *Dependence of optical properties on doping metal, crystallite size and defect concentration of M-doped ZnO nanopowders (M = Al, Mg, Ti)*, Ceram. Int. 37, (2011), 1359-1365; M. Li, J. Xu, X. Chem, X. Zhang, Y. Wu, P. Li, X. Niu, C. Luo, L. Li, *Structural and optical properties of cobalt doped ZnO nanocrystals*, Superlatt. Microstruct. 52 (2012) 824-833]. 21 23 25 27 29 31 33 35 37

Dopajul nanoparticulelor de ZnO cu ioni metalici contribuie la îmbunătățirea proprietăților acestuia, cum ar fi creșterea defectelor de rețea, generarea de perechi electron-gol și deplasarea răspunsului spectral spre lungimi de undă mai mari (domeniul vizibil). Doparea ZnO cu ioni de Fe modifică în mod eficient proprietățile structurale și morfologice, precum și proprietățile electrice, optice și magnetice, care pot conferi acestor nanomateriale aplicații în domenii diferite [K. Weidermaier, E. Carruthers, A. Curry, M. Kuroda, E. Fallows, J. Thomas, D. Sherman, M. Muldoon, *Real-time pathogen monitoring during enrichment: a novel nanotechnology-based approach to food safety testing*, Int. J. Food Microbio. 198, (2015), 19-27; P. K. Mishra H. Mishra A. Ekielski, S. Talegaonkar, B.Vaidya, *Zinc oxide nanoparticles: a promising nanomaterial for biomedical applications*, Drug Discovery Today, 22, (2017), 1825-1834]. 39 41 43 45 47

1 Datele raportate în literatură indică faptul că nanoparticulele de ZnO au o activitate  
mult îmbunătățită în comparație cu particulele micronice [K. R. Raghupathi, R. T. Koodali,  
3 **A. C. Mana, *Size dependent Bacterial Growth Inhibition and Mechanism of Antihacterial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles*, Langmuir, 27, (2011), 4020-4028**].  
5 Acest lucru poate fi ușor explicat deoarece particulele mai fine, având o suprafață specifică  
mai mare dezvoltă interacții mai puternice și implicit rezistență termică mai bună.

7 În plus, nanoparticulele de ZnO sunt considerate ca fiind netoxice și recunoscute de  
Food Drugs Administration(FDA) ca fiind substanțe sigure, iar studiile recente au raportat că  
9 nu provoacă daune ADN-ului celulelor umane. Mai multe studii au raportat utilizarea  
nanoparticulelor de ZnO în ambalajele alimentare pentru îmbunătățirea proprietăților de  
11 barieră și a activității antimicrobiene [M. Abbas, M. Buntinx , W. Deferme, R. Peeters,  
**(Bio)polymer/ZnO Nanocomposites for Packaging Applications: A Review of Gas  
13 Barrier and Mechanical Properties. Nanomater, 9, (2019), 1494, (1-14)**] prelungirea  
duratei de viață a sucului de fructe [A. M. Diez-Pascual, A. L. Diez-Vicente, **ZnO-  
15 Reinforced Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Bionanocomposites with  
Antimicrobial Function for Food Packaging, ACS Appl. Mater. Interfaces, 6, (12),  
17 (2014), 9822-9834**] și a feliiilor de fructe tăiate [W. Li, L. Li, Y. Cao, T. Lan , H. Chen, Y.e  
Qin, **Effects of PLA Film Incorporated with ZnO Nanoparticle on the Quality Attributes  
19 of Fresh-Cut Apple, Nanomater. 7, (2017), 207(2-14)**].

21 Pentru fabricarea de compozite polimerice care conțin nanoparticule de ZnO se  
folosesc metode, cum ar fi: casting, extrudare cu dublu snec, compoundare în topitură și  
extrudare, extrudare-suflare etc.

23 Se cunoaște din brevetul [RO 132483 (A2) **Compozit polimeric antibacterian pe  
bază de cauciuc siliconic și nanoparticule de ZnO și TiO<sub>2</sub>**] utilizarea nanoparticulelor de  
25 ZnO și TiO<sub>2</sub> în structura unui compozit polimeric antibacterian pe bază de elastomer siliconic,  
plastifiant și material de umplutură destinat realizării de produse pentru industria  
27 farmaceutică, medicală și alimentară, precum: forme siliconice pentru cofetării, jucării, vârfuri  
de pipete, pompe pentru pipete, branțuri etc.

29 Din brevetul [RO 125305 (B1) **Compoziție polimerică de tip nanocompozit cu  
proprietăți de barieră și procedeu de realizare a acestuia**] se cunoaște obținerea unui  
31 nanocompozit polimeric constituit din copolimer etilenă-acetat de vinil, silicat stratificat  
funcționalizat, agent de compatibilizare și stabilizator și extrudarea acestuia pentru fabricarea  
33 unor ambalaje alimentare. Dezavantajul acestui ambalaj constă în faptul că nu se folosesc  
polimeri biodegradabili și agenți antimicrobieni pentru creșterea duratei de viață a alimentului  
35 ambalat.

Dintre polimerii biodegradabili utilizați pentru obținerea ambalajelor alimentare, cei  
37 mai cunoscuți sunt acidului polilactic (PLA) și polihidroxiacanoații. Utilizarea (PLA) pentru  
realizarea ambalajelor alimentare este limitată deoarece acesta prezintă proprietăți mecanice  
39 și termice reduse, ductilitate scăzută, iar proprietățile sale de barieră la oxigen sunt destul  
de mici în comparație cu cele ale polimerilor convenționali.

41 S-au raportat filme nanocompozite pe bază de PLA și nanoparticule de ZnO fabricate  
prin compoundarea în topitură, cu proprietăți multifuncționale (barieră la vapori de apă,  
43 activitate antimicrobiană) ceea ce le recomandă pentru utilizarea ca ambalaje alimentare [R.  
Pantani, G. Gorrasia, G.Vigliotta, M. Murariu, P.e Dubois, **PLA-ZnO nanocomposite  
45 films: Water vapor barrier properties and specific end-use characteristics, Eur. Polym.  
J., 49, (2013), 3471-3482; C. Vasile, M. Râpă, M. Ștefan, M. Stan, S. Macavei, R. N. Darie-**

# RO 134634 B1

Niță, L. Barbu-Tudoran, D. C. Vodnar, E. E. Popa, R. Ștefan, G. Borodi, M. Brebu, *New PLA/ZnO:Cu/Ag bionanocomposites for food packaging*, eXPRESS Polym. Lett. 11(7), (2017), 531-544]. 1  
3

Se cunoaște din brevetul [RO 132659 (A2)/2018- Biocompozite active și degradabile, pe baza de PLA, pentru ambalaje alimentare] obținerea de biocompozite polimerice prin amestecarea în topitură, utilizate pentru realizarea unor ambalaje alimentare antimicrobiene rigide sau flexibile, pe bază de acid polilactic, plastifianti, chitosan modificat prin încapsularea uleiului de măceșe și aditivi cu efect de îmbunătățire a prelucrabilității, a activității antimicrobiene și a proprietăților de barieră. 5  
7  
9

Din brevetul [RO 128620 (B1) *Compoziție și procedeu pentru fabricarea de folii antimicrobiene de uz alimentar*] se cunoaște realizarea de ambalaje antimicrobiene tip pungi/punguțe prin extrudare pe baza unei soluții de 3...15% alcool polivinilic dizolvat în apă, amestecat cu o soluție de agent antimicrobian 1...7% constituită din cimbru, busuioc sau coriandru în etanol și, după caz, 0,05...2% polietilen glicol. 11  
13

Dezavantajul acestor compoziții constă în utilizarea de forțe de forfecare care pot reduce activitatea antimicrobiană a agenților antimicrobieni utilizați. 15

S-au raportat bionanocompozite obținute prin dispersarea nanoparticulelor de ZnO în PHBV prin metoda casting, fără ajutorul agenților de cuplare [A. M. Diez-Pascual, A. L. Diez-Vicente, *ZnO-Reinforced Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Bionanocomposites with Antimicrobial Function for Food Packaging*, ACS Appl. Mater. Interfaces, 6 (12), (2014), 9822-9834]. S-a constatat că nanoparticulele de ZnO acționează eficient ca agenți de nucleație, conducând la creșterea temperaturii de cristalizare și a gradului de cristalinitate al matricei polimerice, reducând în același timp dimensiunea cristalitei. De asemenea, creșterea concentrației de ZnO are ca efect creșterea stabilității termice a formulărilor de uz alimentar deoarece nanofilerul blochează difuzia produșilor volatili generați în timpul procesului de descompunere. 17  
19  
21  
23  
25

Dificultatea încorporării agentului antimicrobian în matrice polimerice prin procedeul de amestecare în topitură constă în aglomerarea acestuia, ceea ce conduce la deteriorarea proprietăților în ambalajele alimentare. Un alt dezavantaj constă în necesitatea încorporării unor cantități mari de agenți antimicrobieni pentru a-și exercita activitatea antimicrobiană, ceea ce conduce la creșterea migrării în simulanți alimentari. Soluția tehnică pentru înlăturarea acestor inconveniente, constă în încorporarea nanoparticulelor de oxid de metal/agenți antimicrobieni în nanofibre polimerice cu proprietăți de biodegradabilitate și biocompatibilitate, prin tehnologia de electrofilare/electrosprayere. 27  
29  
31  
33

Nanoparticulele anorganice încorporate în nanofibre polimerice prezintă proprietăți fizico-chimice unice, cum ar fi suprafața îmbunătățită, raportul dintre suprafață/volum ridicat, porozitatea și structura continuă și activitate antimicrobiană [A. D. Sekar, V. Kumar, H. Muthukumar, P. Gopinath, M. Matheswaran, *Electrospinning of Fe-doped ZnO nanoparticles incorporated polyvinyl alcohol nanofibers for its Antibacterial treatment and cytotoxic studies*. Eur. Polym. J., 118, (2019), 27-35]. 35  
37  
39

Electrofilarea este o tehnică nouă, aplicată polimerilor pentru obținerea nano și micro fibrelor. Principiul de funcționare constă în crearea unui câmp electric de înaltă tensiune între soluția de polimer și colectorul metalic pe care aceasta se depune sub formă de fibre. Nanofibrele obținute cu ajutorul electrospinning-ului prezintă proprietăți fizico-chimice îmbunătățite în comparație cu fibrele la nivel macro și, prin urmare, sunt studiate din ce în ce mai mult pentru utilizarea în noi sisteme de ambalare a alimentelor. Avantajele nanofirelor constă în raportul mare între suprafață și volum, de 1-3 ordine de mărime mai mare în 41  
43  
45  
47

1 comparație cu peliculele subțiri realizate din același material [A.Petropoulou, K.  
2 **Christodoulou, C. Polydorou, et al. *Cost-effective polymethacrylate-based electrospun***  
3 ***fluorescent fibers toward ammonia sensing. Macromol Mater Eng., 302, (2017),***  
4 ***1600453, (1-7)*]** ceea ce permite o flexibilitate mărită pentru modificarea suprafeței și datorită  
5 acestui fapt nu conțin solvent. Procesul de electrofilare nu este invaziv și nu necesită  
6 utilizarea substanțelor chimice sau a temperaturilor ridicate pentru obținerea de fibre. Prin  
7 tehnologia de electrofilare se pot utiliza soluții de polimeri sintetici sau naturali, amestecuri  
8 de polimeri, nanoparticule, agenți antimicrobieni etc. care prezintă o vâscozitate în soluție  
9 adecvată pentru obținerea nanofibrelor.

10 S-au raportat nanofibre pe bază de alcool polivinilic (PVA) care conțin cantități diferite  
11 de nanoparticule de ZnO dopate cu Fe cu proprietăți antibacteriene [A. D. Sekar, V. Kumar,  
12 **H. Muthukumar, P. Gopinath, M. Matheswaran, *Electrospinning of Fe-doped ZnO***  
13 ***nanoparticles incorporated polyvinyl alcohol nanofibers for its Antibacterial treatment***  
14 ***and cytotoxic studies. Eur. Polym. J. 118, (2019), 27-35]*, compoziții de etilceluloză/  
15 gelatină și ZnO cu excelentă hidrofobicitate, stabilitate la apă și activitate antimicrobiană  
16 adecvate pentru utilizarea potențială în ambalaje alimentare [Y. Liu, Y. Li, L. Deng, L. Zou,  
17 **F. Feng, H. Zhang, *Hydrophobic Ethylcellulose/Gelatin Nanofibers Containing Zinc***  
18 ***Oxide Nanoparticles for Antimicrobial Packaging. J. Agricultural Food Chem. 66(2018),***  
19 ***9498-9506]*, nanofibre de chitosan conținând ZnO pentru aplicații medicale [L.Sun, J. Han,  
20 **Z. Liu, S. Wei, X. Su, G. Zhang, *The facile fabrication of wound compatible anti-***  
21 ***microbial nanoparticles encapsulated collagenous chitosan matrices for effective***  
22 ***inhibition of poly-microbial infections and wound repairing in bum injury care:***  
23 ***Exhaustive in vivo evaluations. J. Photochem. Photobiol. B: Biology, 197, (2019),***  
24 ***111539]* etc.******

25 Din brevetul [RO 131883 (B1) - *Procedeu și compoziții de obținere a unor*  
26 ***compozite stratificate bioactive (antibacteriene/antifungice/antioxidante), destinate***  
27 ***ambalajelor alimentare]* se cunoaște încapsularea uleiurilor esențiale sau uleiuri vegetale  
28 de presă, având activitate antibacteriană, antifungică și antioxidantă îmbunătățită în nano-  
29 fibre de chitosan prin electrodepunere coaxială pe un substrat de poliesteri biodegradabili  
30 pretratați în plasmă, pentru obținerea ambalajelor alimentare.**

31 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția, o reprezintă obținerea unor compozitii  
32 de nanostructuri pe bază de PHBV și nanoparticule de oxid de zinc dopat cu Fe, cu pro-  
33 prietăți antibacteriene superioare, folosite pentru ambalaje alimentare, înlăturând posibilitatea  
34 migrării agenților microbieni în alimente.

35 Prezenta invenție înlătură dezavantajele datorate folosirii utilajelor convenționale  
36 pentru prelucrarea materialelor plastice, consum mare de agenți antimicrobieni, migrarea  
37 agenților antimicrobieni în aliment, soluția tehnică constând în obținerea unei compoziții de  
38 nanostructuri pe bază de nanoparticule de ZnO dopate cu Fe înglobate în polihidroxibutirat-  
39 co-valerianat pentru acoperirea filmului de acid polilactic, care este constituită dintr-o soluție  
40 care conține 8% polihidroxibutirat-co-valerianat, 91% amestec de solvenți de tip diclorometan  
41 și alcool etilic la un raport masic 6:1 și 0...1% agent antimicrobian de tip oxid de zinc nano-  
42 particule dopat cu un conținut de 0...0,3% Fe, care prezintă morfologie tip „granule”, pro-  
43 centele fiind gravimetrice.

44 Procedeu de obținere de filme de PLA acoperite cu nanostructuri pe bază de nano-  
45 particule de ZnO dopate cu Fe înglobate în polihidroxibutirat-co-valerianat, are următoarele  
46 etape: obținerea filmului de acid polilactic prin presare la o temperatura de 190°C, o presiune  
47 de 150 atm, un timp de preincălzire de 3 min, un timp de presare de 2 min, un timp de răcire

de 45 min, apoi sintetizarea nanoparticulelor de oxid de zinc dopate cu ioni de fier ZnO:Fe prin metoda precipitării, în care concentrația de componentă dopantă a variat între 0...0,3%, după care are loc acoperirea filmelor de acid polilactic prin electrofilare/electropulverizare cu o soluție de PHBV în care s-au încorporat nanoparticulele de ZnO dopate cu Fe, rezultând nanofibre antimicrobiene utilizate la obținerea ambalajelor alimentare antimicrobiene.

Prin aplicarea invenției se obțin acoperiri ale acidului polilactic sub formă de film cu grosimea de maximum 0,1 mm obținut prin presare cu nanostructuri constituite din înglobarea nanoparticulelor de ZnO dopate cu ioni de fier (ZnO:Fe) în nanofibre de PHBV obținute prin electrofilare. Nanostructurile sunt formate dintr-un amestec pe bază de 99% (procente gravimetrice) soluție de polihidroxi-butirat-co-valerianat formată din dizolvarea a 8 g PHBV granule într-un amestec de solvenți format din 85,7 g diclorometan și 14,3 g alcool etilic, și 0...1% (procente gravimetrice) agent antimicrobian de tip nanoparticule de ZnO:Fe, cu un conținut de Fe între 0...0,3%, obținut prin metoda precipitării.

Dopajul nanoparticulelor de ZnO cu ioni metalici contribuie la îmbunătățirea proprietăților acestuia, cum ar fi creșterea defectelor de rețea, generarea de perechi electron-gol și deplasarea răspunsului spectral spre lungimi de undă mai mari (domeniul vizibil). De asemenea, doparea ZnO cu ioni de Fe modifică în mod eficient proprietățile structurale și morfologice, precum și proprietățile electrice, optice și magnetice, care pot conferi acestor nanomateriale aplicații în domenii diferite [K. Weidermaier, E. Carruthers, A. Curry, M. Kuroda, E. Fallows, J. Thomas, D. Sherman, M. Muldoon, *Real-time pathogen monitoring during enrichment: a novel nanotechnology-based approach to food safety testing*, Int. J. Food Microbio., 198, (2015), 19-27; P. K. Mishra H. Mishra A. Ekielski, S. Talegaonkar B. Vaidya, *Zinc oxide nanoparticles: a promising nanomaterial for biomedical applications*, Drug Discovery Today, 22, (2017), 1825-1834].

Procedeele de obținere prin electrofilare/electropulverizare a unor acoperiri antimicrobiene conform invenției constă în trei etape:

- Obținerea filmului de acid polilactic prin presare în următoarele condiții tehnologice: temperatura de 190°C, presiune = 150 atm, timp de preîncălzire = 3 min, timp de presare = 2 min, timp de răcire = 45 min.

- Sinteza nanoparticulelor de oxid de zinc dopate cu ioni de fier (ZnO:Fe): Nanoparticulele de ZnO dopate cu ioni de Fe s-au obținut prin metoda precipitării în care concentrația de componentă dopantă a variat între 0...0,3%. Cantități stoichiometrice de azotat de zinc hexahidrat  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  (98%) (2,97-x g) și x g azotat de fier nonahidrat  $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$  (x = 0; 0,040; 0,012) s-au dizolvat în 100 ml apă distilată și s-au amestecat cu ajutorul unui agitator magnetic, până ce s-a obținut o soluție omogenă. Ulterior, acestui amestec s-a adăugat în picături și la o viteză de agitare constantă 100 ml soluție de hidroxid de sodiu Na(OH) 2M până la pH = 12, obținându-se un precipitat alb de hidroxid de zinc. După terminarea procesului de precipitare, acesta s-a mai agitat încă 1 h pentru a asigura transformarea completă a reactanților. Precipitatul obținut s-a spălat de mai multe ori cu apă bidistilată, până la pH neutru după care s-a uscat în etuvă la 70°C, timp de 24 h. După uscare s-a obținut o pulbere dispersă de culoare alb-gălbui insolubilă în apă sau solvenți organici uzuali: alcool, acetonă. Pentru a studia influența concentrației de dopant asupra proprietăților nanoparticulelor de ZnO:Fe s-au preparat trei probe în care variază concentrația de dopant, astfel ZnO:xFe (x = 0%, 0,1%, 0,3%).

Procedeele de acoperire a filmelor de acid polilactic prin electrofilare cu o soluție de PHBV în care s-au încorporat nanoparticulele de ZnO:Fe are loc într-un echipament de electrospinning, într-un mediu ambiant cu temperatura 27...30,2°C și umiditatea relativă 27...28%, și constă în prepararea unei soluții de lucru constituită din 8% (procente

# RO 134634 B1

1 gravimetrice) polihidroxi-butirat-co-valerianat (PHBV) sub formă de granule, dizolvat într-un  
amestec de solvenți de tip diclorometan și alcool etilic la un raport masic 6:1, prin agitare la  
3 temperatura de 60°C, timp de 30 min și 400 rpm, și 0...1% (procente gravimetrice) agent  
antimicrobian de tip ZnO:Fe, cu un conținut de Fe între 0...0,3%. Soluția astfel preparată se  
5 introduce într-o seringă fixată într-o pompă de seringă, având ca spinareță un ac de inox fără  
vârf, cu diametrul interior de 0,168 mm, care este legată la o sursă de înaltă tensiune de  
7 16,63...16,67 kV, și este alimentată cu soluție cu un debit de 0,4...3,6 mL/h, jetul instabil de  
soluție fiind proiectat către un film de PLA cu lungimea de 10 cm și lățimea 6 cm care se află  
9 pe un colector tip disc cilindric, legat la pământ, astfel încât distanța dintre capătul acului-  
colector este de 14 cm.

11 Invenția, conform descrierii de mai sus, prezintă următoarele avantaje:

- se obțin acoperiri ale filmelor de PLA cu nanoparticule de ZnO:Fe obținute prin  
13 metoda precipitării, înglobate în nanofibre de PHBV prin procedeul de electrofilare/electro-  
sprayere, având morfologie tip „beads” (granule), ceea ce le recomandă pentru realizarea  
15 de ambalaje alimentare antimicrobiene;

- procedeul de obținere a nanofibrelor antimicrobiene este simplu, versatil,  
17 reproductibil și are loc prin electrofilarea soluției de PHBV/ZnO:Fe la temperatura camerei,  
fără un consum energetic mare și fără solvenți cu potențial toxic;

19 - se utilizează cantități reduse de nanoparticule de ZnO:Fe și respectiv de soluție de  
PHBV pentru acoperirea filmului de PLA prin electrofilare;

21 - filmele acoperite cu nanostructuri de PHBV/ZnO:Fe prezintă aderența microbiană  
adecvată;

23 - cristalinitatea filmului de PLA acoperit cu nanostructuri de PHBV/ZnO:Fe crește ca  
urmare a creșterii concentrației de agent dopant;

25 - migrarea în simulanți alimentari se încadrează în limitele impuse de legislația în  
vigoare.

27 S-au utilizat următoarele materii prime:

- acid polilactic, granule tip 4032D (NatureWorks, US), se caracterizează prin  
29 proprietăți optice excelente, bariera la gaz și rezistența la ulei;

- polihidroxi-butirat-co-valerianat (PHBV) conținând 12% polihidroxi-valerianat (PHV)  
31 (GoodFellow, UK), granule; prezintă proprietăți similare cu poliolefinele, densitate 1,25 g/cm<sup>3</sup>  
alungire la rupere 35%, rezistența la tracțiune la rupere 23 MPa;

33 - nanoparticulele de ZnO:Fe sintetizate conform procedurii descris mai sus;

- solvenți (diclorometan și alcool etilic) și simulanți alimentari (acid acetic 3% (w/v),  
35 alcool etilic 10% (v/v)) și soluție de HNO<sub>3</sub> 3%. Filmul de PLA acoperit cu nanostructuri  
antimicrobiene pe bază de PHBV și ZnO:Fe a fost caracterizat prin microscopie electronică  
37 de baleiaj (SEM) - determinarea morfologiei suprafeței filmului, și a morfologiei și dimensiunii  
nanofibrelor, spectroscopia de raze X cu dispersie de energie (EDX) - analiza chimică  
39 elementală, difracție de raze X (XRD)-gradul de cristalinitate, migrarea în simulanți alimentari  
și aderența microbiană.

41 Microscopia electronică de baleiaj (SEM) s-a realizat cu ajutorul Microscopului  
Hihachi SU-8230 (Japon) Sursa de electroni „Cold Field Emission” (CFEG - Emisie în câmp  
43 rece), tensiunea de accelerare 30 kV. Înainte de examinare suprafața filmelor a fost  
acoperită cu un strat de Au de aproximativ 10 nm obținut prin evaporare în atmosferă de  
45 argon (Ar).

Spectroscopia de raze X cu dispersie de energie (EDX) s-a realizat cu ajutorul  
47 spectrometrului EDX (Oxford Instruments) și este o tehnică analitică cuplată cu microscopul  
Hitachi SU-8230.



Analiza structurală prin difracție de Raxe X. Caracterizarea structurală a filmelor de PLA acoperite cu nanostructuri pe bază de PHBV/ZnO:Fe de formă circulară cu diametrul de 2 cm a fost realizată cu un difractometru Bruker D8 Advance, în geometria Bragg Brentano. Difractometrul a fost echipat cu un monocromator de Ge (1 1 1) plasat în fasciculul incident pentru a obține numai radiația monocromatică Cu K $\alpha$ 1 ( $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ ) și un detector de poziție rapid de tipul LynxEye. Datele de difracție au fost colectate pe intervalul unghiular 3...70°, iar tensiunea și curentul pe tub au fost de 40 kV respectiv 40 mA. Gradul de cristalinitate, X<sub>c</sub>, a fost evaluat ca raportul dintre aria maximelor de difracție și aria totală de difracție care include atât ariile peak-urile de difracție datorită fazei cristaline cât și aria de difracție datorită haloului amorf [P. Pascuta, A. Vlădescu, G. Borodi, E. Culea, R. Tetean: *Structural and magnetic properties of zinc ferrite incorporated in amorphous matrix. Ceram. Int.* **37**, (2011), 3343-3349]. Pentru evaluarea gradului de cristalinitate, a fost utilizat programul de calcul "Reflex" din pachetul de programe "Material Studio" [Dassault Systemes BIOVIA, (2014). [Materials Studio], [v8.0.0.843], SanDiego: Dassault Systemes].

Migrarea în simulanți alimentari și HNO<sub>3</sub>. Testele specifice de migrare au fost efectuate pentru eșantioanele de probe circulare cu diametrul de 1 cm în 2 simulanți alimentari: acid acetic 3% (greutate/greutate) (simulant alimentar tip B), etanol 10% (v/v) (simulant alimentar tip A). De asemenea, s-a determinat conținutul de material anorganic prin testarea cenușii rezultate de la calcinarea probelor la temperatura de 550°C, timp de 1,30 h. Conținutul de cenușă al probelor a fost suspendat în aproximativ 50 mL HNO<sub>3</sub> 3% (v/v). Probele au fost depozitate la frigider până la momentul testării. Pentru migrarea în acid acetic 3% (greutate/v) și respectiv etanol 10% (v/v), probele au fost imersate în flacoane de plastic cu 20 ml simulanți alimentari, așa cum este indicat în legislația în vigoare (Standardul European EN 13130-1: 2004; Regulamentul Comisiei UE 10/2011) și menținute într-o atmosferă controlată la 70°C timp de 2 h. După perioada de incubație, filmele au fost îndepărtate și simulanții au fost testați pentru a analiza cantitatea de ZnO și Fe eliberate prin spectroscopie cuplată inductivă cu detectarea spectrometriei de masă (ICP-MS). Probele au fost analizate în triplicat.

Limita de detecție (LD) a migrației specifice în soluția 3% acid acetic a fost de 6 ng/ml pentru Fe și 3 ng/ml pentru Zn. LD a migrației specifice în soluția 10% etanol a fost de 35 ng/ml pentru Fe și 8 ng/ml pentru Zn. LD pentru migrarea specifică a cenușii calcinate în acid azotic 3% a fost de 3 mg/ml pentru Fe și 1 ng/ml pentru Zn.

Aderența bacteriană. Pentru exercitarea activității antimicrobiene aderența microorganismului la suprafața de contact (material) este foarte importantă. Prin urmare în cadrul prezentei invenții s-a testat capacitatea lui *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-27853) de a adera la suprafața materialului. Bacteria a fost menținută la 4°C pe mediu de cultură agar Muller-Hinton. Aderența bacteriană a fost testată pentru determinarea afinității acestuia la suprafața de material dezvoltată. Bacteria a fost precultivată dintr-un mediu cu glicerol și inoculată în 45 ml de bulion din soia timp de 16 h, la 37°C. După cultivare și centrifugare (4 000 rpm, + 4°C, 10 min) biomasa de bacterii a fost spălată cu ser fiziologic steril. Bacteriile au fost resuspendate în ser fiziologic steril la concentrația de ~ 0,035 la A550, corespunzând cu o concentrație bacteriană de ~ 1 x 10<sup>7</sup> unități formatoare de colonii (UFC). Suspensia bacteriană a fost ușor omogenizată, iar eșantioanele circulare cu diametrul de 1 cm dezvoltate în cadrul acestui brevet au fost adăugate în tuburi de 15 ml cu 5 ml suspensie bacteriană. Apoi, eșantioanele au fost păstrate la temperatura camerei timp de 30 min, spălate în triplicat cu ser fiziologic steril. Această succesiune de etape a fost urmată de colectarea bacteriilor și testarea viabilității bacteriene. Bacteriile au fost detașate cu ajutorul unor

# RO 134634 B1

1 microperii care au fost adăugate în tuburi de 2 ml cu mediu bulion din soia (900 µl cu 10%  
glicerol). După cultivarea pe plăci cu mediu Muller Hinton (24 h, la 37°C) coloniile au fost  
3 numărate și raportate ca bacterii care se atașează de suprafața filmelor de PLA acoperite  
cu nanostructuri pe bază de PHBV/ZnO:Fe dezvoltate în cadrul acestui brevet. Rezultatele  
5 sunt discutate comparativ cu amestecul de referință și anume film de PLA acoperit cu  
nanofibre de PHBV(PLA/PHBV).

7 Exemplele descrise în continuare se bazează pe rezultatele prezentate în fig. 1...3  
și în tabelele 1 și 2:

- 9 - fig. 1, reprezintă imagini SEM (a)...(d);
- fig. 2, reprezintă imagini EDS (a)...(d) ale probelor;
- 11 - fig. 3, reprezintă imaginea XRD a probelor;
- tabelul 1, reprezintă migrarea specifică în simulanți alimentari și soluție de HNO<sub>3</sub>;
- 13 - tabelul 2, reprezintă aderența bacteriană.

Se prezintă în continuare 3 exemple de realizare a invenției.

## 15 **Exemplul 1**

PLA acoperit cu nanostructuri pe bază de PHBV/ZnO:FeO.

17 Se prepară 18 g soluție constituită din 8% PHBV care se dizolvă într-un amestec de  
solvenți de tip diclorometan și alcool etilic la un raport masic 6:1, prin agitare la temperatura  
19 de 60°C, timp de 30 min și 400 rpm, și 0,1818 g agent antimicrobian de tip oxid de zinc  
nanoparticule.

21 Aceasta se introduce într-o seringă fixată într-o pompă de seringă, având ca  
spinetă un ac de inox fără vârf, cu diametrul interior de 0,168 mm, care este legată la o  
23 sursă de înaltă tensiune de 16,77 kV, și este alimentată cu soluție polimerică cu un debit de  
3,2 ml/h, jetul instabil de soluție fiind proiectat către un film de PLA care se află pe un  
25 colector tip disc cilindric, legat la pământ, astfel încât distanța dintre capătul acului-colector  
este de 14 cm. Proba de referință, PLA/PHBV se prepară prin depunerea a 20 g soluție 8%  
27 PHBV pe un film de PLA, cu un debit de 0,4 ml/h, tensiune 16,63 kV, timp de 2 h.

29 Proba PLA/PHBV/ZnO:FeO prezintă un conținut de cenușă de 0,0097%, în timp ce  
proba de referință înregistrează un conținut de cenușă de 0,0079%.

31 Gradul de cristalinitate este de 8,34%. Imaginea SEM evidențiază o morfologie de  
tip nanofibre/"beads". Se constată ca introducerea nanoparticulelor de ZnO conduce la  
creșterea migrării Fe și Zn în comparație cu proba martor, însă valorile sunt în limitele  
33 impuse de legislația în vigoare.

## 35 **Exemplul 2**

PLA acoperit cu nanostructuri pe bază de PHBV/ZnO:Fe 0,1.

37 Conform procedurii descris la exemplul 1) se amestecă 20 g soluție 8% PHBV cu  
0,2020 g nanoparticule de ZnO:Fe conținând 0,2 mg Fe. Această soluție se introduce într-o  
seringă fixată într-o pompă de seringă, având ca spinetă un ac de inox fără vârf, cu  
39 diametrul interior de 0,168 mm, care este legată la o sursă de înaltă tensiune de 16,77 kV,  
și este alimentată cu soluție polimerică cu un debit de 3,6 ml/h, jetul instabil de soluție fiind  
41 proiectat către un film de PLA care se află pe un colector tip disc cilindric, legat la pământ,  
astfel încât distanța dintre capătul acului-colector este de 14 cm.

43 Grad de cristalinitate = 9,12%.

45 Proba PLA/PHBV/ZnO:Fe 0,1%) prezintă un conținut de cenușă de 0,0099%, valori  
ale migrării în simulanți alimentari mai mari față de proba fără, însă, nu se depășesc limitele  
impuse de legislația în vigoare.

## 47 **Exemplul 3**

PLA acoperit cu nanostructuri pe bază de PHBV/ZnO:Fe 0,3.

# RO 134634 B1

Conform procedurii descris la exemplul 1) se amestecă 17,3 g soluție 8% PHBV cu 0,1747 g nanoparticule de ZnO:Fe conținând 0,5 mg Fe. Aceasta se introduce într-o seringă fixată într-o pompă de seringă, având ca spinaretă un ac de inox fără vârf, cu diametrul interior de 0,168 mm, care este legată la o sursă de înaltă tensiune de 16,77 kV, și este alimentată cu soluție polimerică cu un debit de 2 ml/h, jetul instabil de soluție fiind proiectat către un film de PLA care se afla pe un colector tip disc cilindric, legat la pământ, astfel încât distanța dintre capătul acului-colector este de 14 cm.

Grad de cristalinitate = 10,44%.

Creșterea cantității de ioni de Fe la 0,3% în nanoparticulele de ZnO are ca efect creșterea conținutului de cenușă la 0,0102%, o reducere a migrării Zn în soluție de alcool etilic și a Fe în soluția de acid acetic, precum și o creștere a Fe în soluția de HNO<sub>3</sub> și respectiv a Zn în soluția de acid acetic, comparativ cu probele de la exemplele 1) și 2) cu respectarea limitelor admise pentru migrarea în simulanți alimentari.

Microscopia Electronică de Baleiaj (SEM). Imaginile SEM evidențiază morfologia filiformă cu o dispersie relativ uniformă a compozitelor PHBV având înglobate nanostructuri pe bază de nanoparticule de ZnO:Fe. De asemenea, se observă prezența unor clusteri PHBV/ZnO probabil din soluția de electrofilare.

Analiza de raze X cu dispersie de energie (EDX) a permis determinarea compoziției elementare a structurilor PLA/PHBV/ZnO. Se observă prezența elementelor constituente C, Zn, O precum și prezența unor cantități reduse din elementele constituente ale suportului de depunere. Datorită concentrației foarte mici de ion dopant, prezența Fe nu este evidențiată fiind sub limita de detecție al aparatului.

## *Difracția de Raze X(XRD)*

Difractograma de raze X pentru proba PLA/PHBV arată că aceasta are doar o fază amorfă în timp ce probele PLA/PHBV/ZnO:Fe prezintă atât faza amorfă cât și o fază cristalină datorată ZnO. Difractograma pentru faza amorfă prezintă două halouri de difracție; unul dintre halouri are maximum la aproximativ  $2\theta = 16^\circ$ , iar celălalt halou de intensitate mult mai mică și ecranat de liniile de difracție pentru ZnO se găsește la aproximativ  $32^\circ$ . De asemenea, primul halou de difracție de la  $2\theta = 16^\circ$  pare a fi despicat. Distanța interplanară,  $d$  corespunzând la  $2\theta = 16^\circ$  este 5,6Å iar pentru  $2\theta = 32^\circ$  este 2,8Å. Acest lucru sugerează că PLA și PHBV sunt polimeri stratificați, distanța dintre straturi fiind 5,6Å și unghiurile de difracție corespunzătoare pentru cele două halouri sunt ordinul unu și respectiv ordinul doi de difracție din relația Bragg. Peakurile de difracție de la unghiurile  $2\theta = 31,75^\circ$ ,  $34,40^\circ$ ,  $36,24^\circ$ ,  $47,51^\circ$ ,  $56,60^\circ$ ,  $62,80^\circ$  și  $67,90^\circ$  atestă prezența fazei cristaline a ZnO în probele pe bază de PHBV și ZnO:Fe. Deși cantitatea de ZnO este de maximum 1%, maximele de difracție sunt proeminente datorită faptului că faza ZnO este uniform distribuită pe suprafața probelor, iar informațiile de difracție sunt colectate de pe suprafața (de obicei 0,1 mm).

Cantitatea mică de ZnO:Fe încorporată în nanofibre de PHBV conduce la creșterea gradului de cristalinitate a matricei polimerice, așa cum se confirmă prin rezultatele XRD, ceea ce are ca efect creșterea proprietăților de barieră ale ambalajului alimentar.

Doparea cu Fe a nanoparticulelor de ZnO folosite pentru acoperirea filmelor de PLA, scade dimensiunea cristalitelor, acestea variind de la 13 nm în cazul ZnO, până la 9 nm în cazul PLA/PHBV/ZnO:Fe 0,1% și, respectiv 11,5 nm în cazul PLA/PHBV:ZnO:Fe 0,3%.

Migrarea în simulanți alimentari. Conform Anexa II din Regulamentul Comisiei UE 10/2011, compoziția pe bază de PLA acoperit cu nanostructuri pe bază de PHBV/ZnO:Fe nu trebuie să elibereze substanțe în cantități care să depășească limitele de migrare specifice pentru Fe = 48 mg/kg aliment sau simulant alimentar și Zn = 5 mg/kg aliment sau simulant alimentar. Datele prezentate în tabelul 1 confirmă faptul că migrarea specifică a Zn

# RO 134634 B1

și Fe din probele prezentate în exemplele 1...3 în soluție de HNO<sub>3</sub>, simulat alimentar tip A și respectiv tip B respectă limitele impuse de legislația în vigoare, unele valori fiind sub limita de detecție a aparatului. Dintre cele trei teste de migrare efectuate se constată că testul de migrare a Fe în soluție de HNO<sub>3</sub> este cel mai sever, în timp ce soluția de acid acetic 3% este cea mai severă pentru migrarea Zn. Această comportare se datorează tendinței puternice de ionizare a Zn [N. Bumbudsanpharoke, J. Choi, H. J. Park, S. Ko, *Zinc migration and its effect on the functionality of a low density polyethylene-ZnO nanocomposite film. Food Packaging and Shelf Life*, 20, (2019), 100301]. Conținutul de Fe înregistrat în cazul utilizării soluției de HNO<sub>3</sub> se corelează cu conținutul de cenușă al probelor.

*Migrarea specifică a Zn și Fe din probele de PLA acoperite cu nanostructuri de PHBV/ZnO:Fe prin tratarea în simulanți alimentari*

Tabelul 1

Probe	HNO <sub>3</sub> 3%		Acid acetic 3%		Alcool etilic 10%	
	Zn, mg/kg	Fe, mg/kg	Zn, mg/kg	Fe, mg/kg	Zn, mg/kg	Fe, mg/kg
PLA/PHVB	< LD	49	< LD	< LD	< LD	< LD
PLA7PHBV/ZnO	< LD	538	1009	35	48	< LD
PLA/PHBV/ZnO:Fe 0,1%	< LD	542	1830	22	70	< LD
PLA/PHBV/ZnO:Fe 0,3%	< LD	1143	1884	< LD	< LD	< LD

Activitatea antibacteriană. În general, efectul antibacterian al nanoparticulelor se datorează încărcării electronice, dimensiunii reduse și raportului mare suprafața-volum care permite interacții cu bacteriile [L. Kiran Babu, E. Sarala, O. Audisshaiah, K. M. Reddy, V. Rami Reddy, *Synthesis, characterisation of nanocrystalline ZnO via two different chemical methods and its antibacterial activity*, Surf. Interf. 16, (2019), 93-100].

Capacitatea ZnO de a inhiba creșterea bacteriană se datorează capacității acestor tipuri de nanoparticule de a genera specii reactive de oxigen (ROS), cum ar fi: radicali hidroxil (OH<sup>-</sup>), anion superoxid (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hidrogen peroxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) [B. L Da Silva, B. L. Caetano, B. G. Chiari-Andreo, R. C. Linhari Rodrigues Pietro, L. A. Chiavacci, *Increased antibacterial activity of ZnO nanoparticles: influence of size and surface modification*, Col. Surf A: Biointerfaces. 177, (2019), 420-427]. Ionii de dopant facilitează generarea ROS care au un efect toxic asupra bacteriilor datorită reactivității ridicate și proprietăților puternic oxidante [A. Sirelkhatim, M. Shahrom, A. Seenii, N.H.M. Kaus, L.C. Ann, S.K.M. Bakhori, H. Hasan, D. Mohamad, *Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism*, Nano-Micro Lett. 7, (3) (2015), 219-242].

*Unități formatoare de colonii (UFC) la diluții successive diferite pentru probele de PLA acoperite cu nanostructuri de PHBV/ZnO:Fe*

Tabelul 2

Probe	1:10	1:100	1:1000
PLA/PHVB	10	7	1
PLA/PHBV/ZnO	3	3	0
PLA/PHBV/ZnO:Fe 0,1%	12	9	1
PLA/PHBV/ZnO:Fe 0,3%	0	0	0

## RO 134634 B1

În urma determinării aderenței bacteriene, în vederea exercitării activității anti- 1  
microbiene a nanostructurilor, s-a demonstrat că toate cele trei variante studiate se pretează 3  
pentru ambalajele alimentare antimicrobiene, având în vedere gradul mic de aderență 5  
bacteriană. Din tabelul 2 se poate ușor observa că pentru toate probele testate gradul mic  
de aderență scade invers proporțional cu valoarea diluției folosite. De asemenea aceste  
nanostructuri pot avea potențial aplicativ în domenii din industria alimentară, sănătate etc.

# RO 134634 B1

## Revendicări

1

3

1. Compoziție de nanostructuri pe bază de nanoparticule de ZnO dopate cu Fe înglobate în polihidroxi-butirat-co-valerianat pentru acoperirea filmului de acid polilactic, **caracterizată prin aceea că**, este constituită dintr-o soluție care conține 8% polihidroxi-butirat-co-valerianat, 91% amestec de solvenți de tip diclorometan și alcool etilic la un raport masic 6:1 și 0...1% agent antimicrobian de tip oxid de zinc nanoparticule dopat cu un conținut de 0...0,3% Fe, care prezintă morfologie tip „granule”, procentele fiind gravimetrice.

9

2. Compoziție de nanostructuri conform cu revendicarea 1, **caracterizată prin aceea că**, are un grad de cristalinitate de 0...10,44%, migrare specifică a Zn și Fe în soluție de HNO<sub>3</sub>, și aderența bacteriană față de *Pseudomonas aeruginosa* timp de 24 h la 37°C.

11

13

3. Procedeu de obținere de filme de PLA acoperite cu nanostructuri pe bază de nanoparticule de ZnO dopate cu Fe înglobate în polihidroxi-butirat-co-valerianat, definite în revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că**, într-o primă etapă, are loc obținerea filmului de acid polilactic prin presare la o temperatură de 190°C, o presiune de 150 atm, un timp de preîncălzire de 3 min, un timp de presare de 2 min, un timp de răcire de 45 min, apoi sintetizarea nanoparticulelor de oxid de zinc dopate cu ioni de fier ZnO:Fe prin metoda precipitării, în care concentrația de componentă dopantă a variat între 0...0,3%, după care are loc acoperirea filmelor de acid polilactic prin electrofilare/electropulverizare cu o soluție de PHBV în care s-au încorporat nanoparticulele de ZnO dopate cu Fe, rezultând nanofibre antimicrobiene utilizate la obținerea ambalajelor alimentare antimicrobiene.

15

17

19

21

(51) Int.Cl.

**C08J 7/04** (2006.01);

**B65B 25/02** (2006.01)

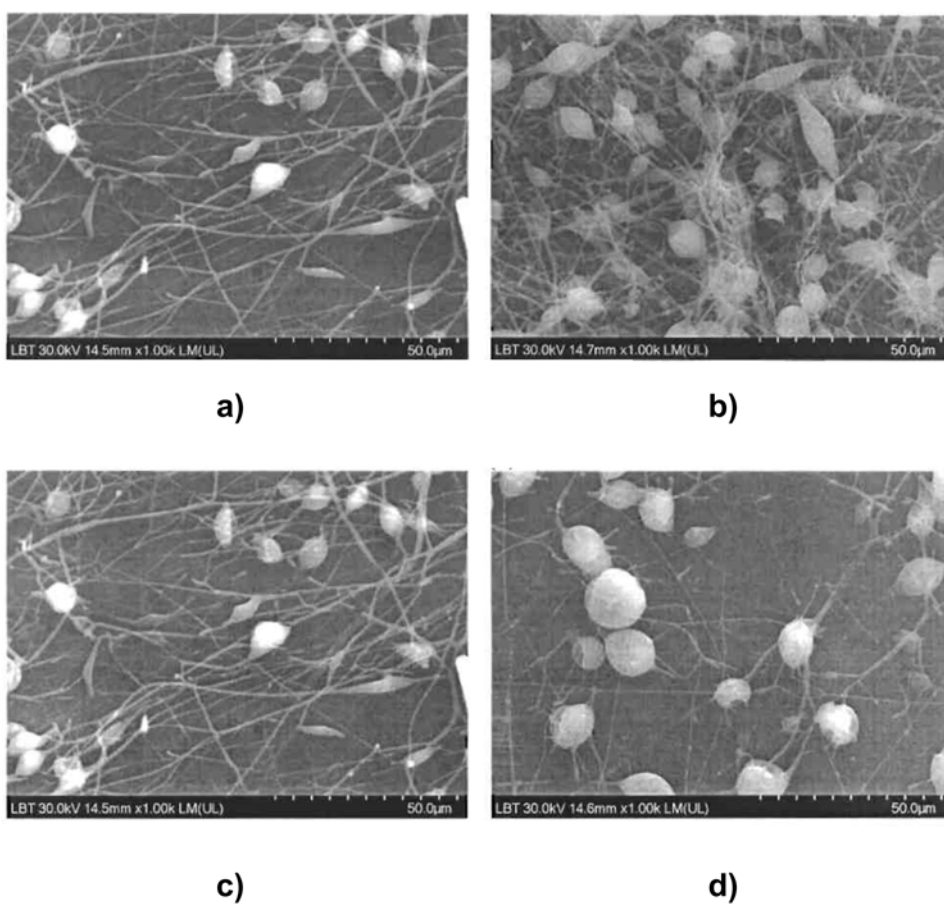
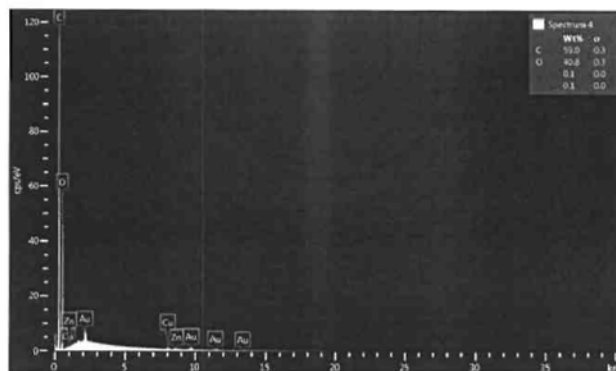


Fig. 1

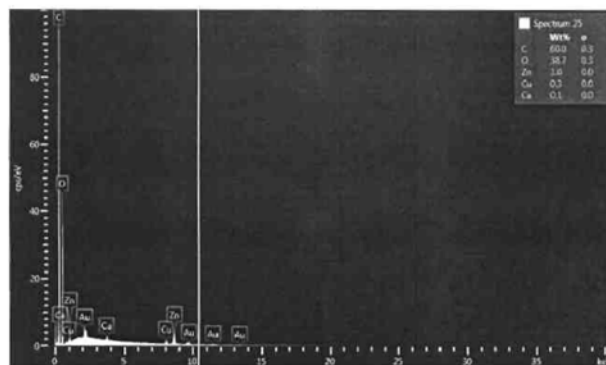
(51) Int.Cl.

**C08J 7/04** (2006.01),

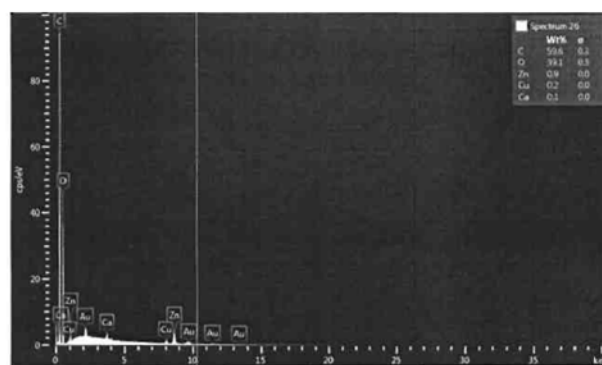
**B65B 25/02** (2006.01)



a)



b)



c)

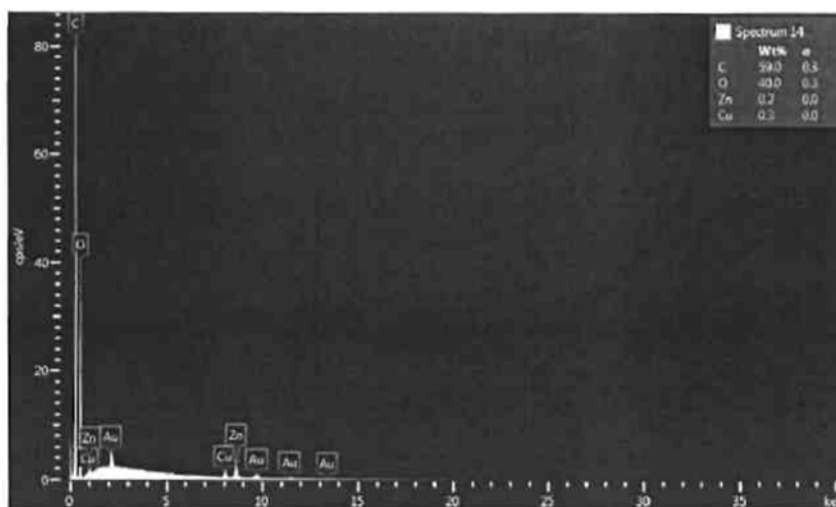
Fig. 2



(51) Int.Cl.

C08J 7/04 (2006.01);

B65B 25/02 (2006.01)



d)

Fig. 2

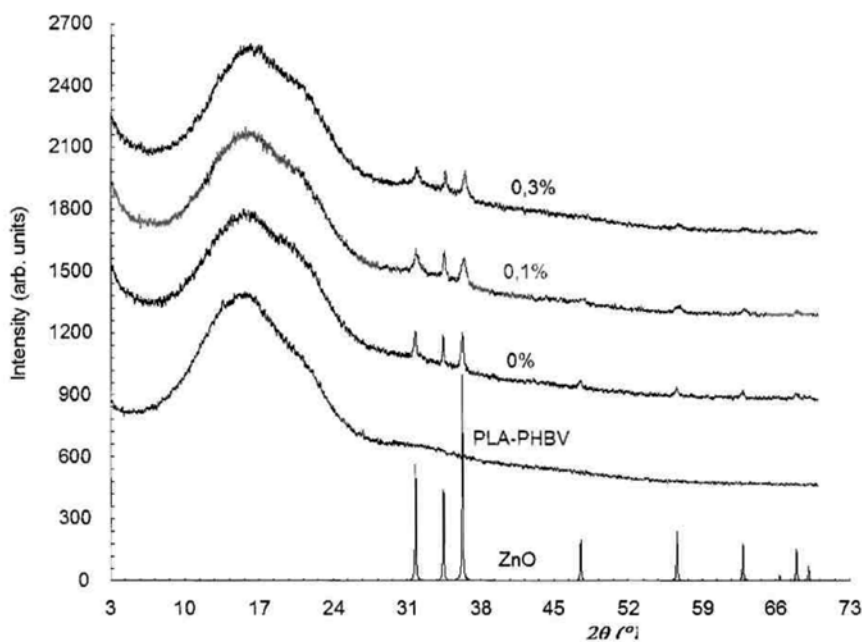


Fig. 3



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM  
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci  
sub comanda nr. 435/2022