



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2010 00235

(22) Data de depozit: 15.03.2010

(41) Data publicării cererii:
30.09.2011 BOPI nr. 9/2011

(71) Solicitant:

- DOBRE TĂNASE, BD. IULIU MANIU NR.94-100, BL.18, ET.2, AP.49, BUCUREȘTI, B, RO;
- STOICA ANICUȚA, STR. BOBÂLNA NR.3, PLOIEȘTI, PH, RO;
- STROESCU MARTA CĂTĂLINA, ȘOS. IANULUI NR.29, BL.105B, SC.B, AP.65, BUCUREȘTI, B, RO;
- CHICIUDEAN TEODOR GELU, BD. DECEBAL NR.35, SC.B, AP.14, BISTRIȚA NĂSĂUD, BN, RO;
- MICHEL VAN TORREN, NIEUWALAAN 134, 261 SB, DELFT, 261, NETHERLANDS, NL, NL

(72) Inventatori:

- DOBRE TĂNASE, BD. IULIU MANIU NR. 94-100, BL.18, ET. 2, AP. 49, BUCUREȘTI, B, RO;
- STOICA ANICUȚA, STR. BOBÂLNA NR.3, PLOIEȘTI, PH, RO;
- STROESCU MARTA CĂTĂLINA, ȘOS. IANULUI NR.29, BL.105B, SC.B, AP.65, BUCUREȘTI, B, RO;
- CHICIUDEAN TEODOR GELU, BD. DECEBAL NR.35, SC.B, AP.14, BISTRIȚA NĂSĂUD, BN, RO;
- MICHEL VAN TORREN, NIEUWALAAN 134, 261 SB, DELFT, 261, NETHERLANDS, NL, NL

(54) NOI COMPOZITE PE BAZĂ DE BIOCELULOZĂ

(57) Rezumat:

Prezenta invenție se referă la un procedeu de obținere a unor compozite pe bază de bioceluloză, în care membranele rezultate în urma cultivării *Acetobacter xylinum* pe un mediu adecvat, impregnate cu argint, prin sorbția repetată a unei soluții de dextroză și a unei soluții Tollens modificată, care duce la dezvoltarea de centruri de Ag metalic cu dimensiuni micro- și nano-metrice, sau impregnate cu nichel, prin sorbția repetată

a unei soluții de hipofosfit de sodiu și a unei soluții de clorură de nichel în mediu de hidroxiacetat de sodiu. Compozitele obținute au multiple aplicări și li se pot aplica diverse moduri de condiționare.

Revendicări: 20

Figuri: 12



Noi compozite pe baza de bioceluloza

Inventia a carei descriere se da in cele prezentate mai jos se refera la obtinerea unor sorturi de membrane din bioceluloza care sunt valorificate prin sinteza de noi materiale compozite cu continut ridicat de bioceluloza. Pentru fiecare caz de compozit ce este revendicat ca solutie de obtinere se precizeaza care sunt aplicatiile practice de interes imediat.

Consideratii privind elementele inventiei

Pentru aplicatii practice care utilizeza celuloza ca material de baza, inclusiv pentru sinteza unor compozite cu celuloza, sunt cunoscute 4 solutii tehnologice de obtinere a acesteia [1]. Cea mai frecventa este solutia ce apeleaza la izolarea acesteia din materialul lemnos, ca urmare a indepartarii din acesta a hemicelulozei si ligninei. O alta solutie importanta de obtinerea celulozei o constituie biosinteza acesteia cu ajutorul microorganismelor asa cum este cazul algelor (*Vallonia*), fungilor (*Saprolegnia*, *Dictyostelium discoideum*), respectiv bacteriilor (*Acetobacter-xylinum*, *Acetobacter-aceti*, *Acetobacter-acetigenum*, *Acetobacter-pasteurianum*, *Acetobacter-hansenii*, *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Zoogloea*). In cazul producerii de bioceluloza prin utilizarea bacteriilor specia *Acetobacter xylinum* este singura specie capabila sa genereze acest produs in cantitati de importanta comerciala. Acest fapt este posibil daca, in afara conditiilor impuse de compozitia mediului de cultura, se respecta cerinta de a lucra la un pH in domeniul 4-7 si respectiv la o temperatura intre 25 si 35°C [2,8]. Sinteza biocelulozei cu ajutorul culturilor de *Acetobacter xylinum* se bucura de o atentie deosebita in ultimul timp datorita proprietatilor unice ale acesteia, intre care se mentioneaza puritatea, transparenta, capacitatea de inglobarea a apei, excelenta comportare mecanica la intindere a fasiilor uscate, structura sa alcatuita din fibre ultrafine cat si cristalinitatea sa deosebita [6-9]. Proprietatile fizice si mecanice ale acestui sort de bioceluloza au fost valorificate cu succes in unele aplicatii, intre care se mentioneaza cele din domeniul medical al bandajelor de protectie speciala, al vaselor artificiale de sange pentru microchirurgie sau al structurilor de reconstructie a unor tesuturi [1,10-25]. Mai este de amintit ca bioceluloza constituie un aditiv alimentar cu continut scazut de calorii, dar bogat in fibre [1,26,27]. De asemenea, proprietatile sale o recomanda pentru multe aplicatii de interes industrial, intre care se mentioneaza obtinerea hartiei de mare rezistenta [27], fabricarea diaframelor pentru microfoane si aparate de redare a sunetului [28], manufacturarea unor sorturi de membrane pentru procese de pervaporatie sau ultrafiltrare [29-31], sinteza unor membrane pentru celule de combustie de temperatura mica [32]. In multe din aplicatiile mai sus mentionate bioceluloza apare sub forma unui compozit mai mult sau mai putin prelucrat. Dupa continutul de bioceluloza sunt de interes compozitele cu continut redus de bioceluloza (0.1-3% bioceluloza ca substanta uscata) [33] precum si cele cu continut ridicat de bioceluloza (peste 50% bioceluloza ca substanta uscata). In raport cu starea fizica a compozitelor cu bioceluloza, acestea se prezinta frecvent fie sub forma compozitelor tip gel [33-36], fie drept compozite tari (rigide). Dupa forma in care apare bioceluloza in compozit se intalnesc cazuri in care ea este folosita in forma sa naturala, respectiv este modificata chimic [37]. In ceea ce priveste sinteza biocelulozei, care este componentul de baza al compozitelor ce fac obiectul inventiei, se arata ca cele mai utilizate metode de lucru sunt cele ce utilizeaza bioreactoare statice ce furnizeaza bioceluloza, sub forma de pelicule ce cresc la interfata aer - mediu de cultura [38,39]. De interes sunt si reactoarele cu mediu agitat, in special cele ce lucreaza prin aerarea mediului de reactie in sistemul gaz-lift [33]. In acest caz, bioceluloza se produce sub forma de microfibrile de diferite forme, in functie de gradul de aerare si de agitare, dispersate, ca material floconar, in mediul de cultura, fapt ce impune centrifugarea ca solutie de separare a sa de mediul de cultura. Sunt cunoscute studii care, urmarind cresterea productivitatii in bioceluloza a mediului de cultura, cu pastrarea obtinerii biocelulozei ca pelicule, au propus utilaje specifice, asa cum este cazul bioreactorului cu discuri rotative, respective cu cilindru rotativ [39]. Atunci cand mediul de cultura are o compozitie apropiata celei propuse de Schram si Hestrin [40], se constata ca pelicula obtinuta are o retea structurala ultrafina formata din riboane de aproximativ 500 nm in latime si 10 nm in grosime. Riboanele constau din microfibrile cu o latime in jurul a 3 nm si un diametru al fibrei sub 130 nm [41, 42]. Celuloza bacteriana sau bioceluloza (BC), atat cea peliculara cat si cea

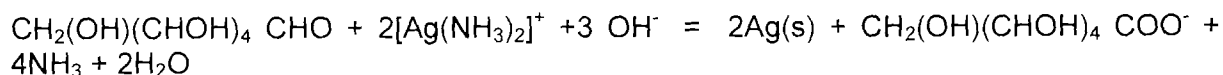
fibrilară (provenită din reactoarele cu agitare), posedă o extraordinară de mare capacitate de retenție a apei deoarece diametrul fibrei foarte mic (de o mie de ori mai mic decât cel al fibrei de celuloză din plante) și asta îi conferă acesteia, la contactul cu apa, o suprafață specifică foarte mare. Determinări de laborator au arătat că ea poate îngloba, în faza de sinteză, peste 97% apă [43]. O astfel de capacitate de reținere a apei este cu mult peste cea a celulozei din plante. Retenția de apă se modifică drastic după uscarea cu aer a biocelulozei, astfel că valoarea coeficientului de gonflare în apă a biocelulozei uscate este ușor inferior celui specific celulozei din plante.

În ce privește compoziția mediului în care *Acetobacter xylinum* sintetizează bioceluloza, sunt de remarcat multe încercări în care se urmărește înlocuirea parțială a fructozei, ca substrat fundamental, cu alte zahăruri și chiar cu unii intermediari din ciclul biochimic al acidului citric [44]. Dintre compozitele cu conținut redus de bioceluloză o atenție deosebită a fost acordată sistemului gel de alcool polivinilic- bioceluloză microfibrilată, a cărui reticulare poate fi realizată prin cicluri de îngheț - deîngheț (criogel compozit PVA-BC), respectiv prin adăos în amestecul PVA-BC de agent chimic de reticulare precum glutaraldehida sau formaldehida [45-47]. În aceste compozite este preferat alcoolul polivinilic (PVA) întrucât el este un polimer hidrofilic cu o serie de caracteristici interesante pentru aplicațiile biomedicale, între care se menționează gradul sau ridicat de gonflare, formula chimică simplă, natura sa elastică și absența toxicității. Dintre cele două metode de reticulare mai sus menționate, cea fizică, bazată pe cicluri de îngheț-deîngheț, este avantajoasă pentru cazurile în care compozitul se folosește în aplicații biomedicale, întrucât acesta nu este impurificat cu reticulant sau derivați ai acestuia. Proprietățile mecanice ale hidrogelurilor cu BC sunt similare celor ale țesuturilor umane, inclusiv în ceea ce privește elasticitatea și efortul de rupere. S-a constatat, de asemenea, că aceste proprietăți pot fi controlate prin schimbarea condițiilor și a numărului de cicluri de îngheț - deîngheț prin care se realizează reticularea compozitului. Reticularea fizică prin înghețare-deînghețare face ca hidrogelurile de PVA să-și conserve forma originală în care au fost turnate. Forma turnată se poate apoi deforma prin solicitare ajungând să fie de până la 6 ori mai mare decât forma inițială. Acest fapt arată, în primul rând, natura elastică a compozitului respectiv, iar în al doilea rând țaria mecanică a acestuia [48,49]. Au fost propuse multe teorii care să explice cum ciclurile termice repetate fac să crească modulul elastic al compozitelor PVA-BC. Între acestea se distinge teoria conform căreia dezvoltarea reticularii, ca urmare a repetării ciclurilor de îngheț - deîngheț, este în fapt un fenomen de reorientare entropică a structurii lanțurilor polimerice din compozit. Astfel se știe că apa este legată de polimer prin legături de hidrogen, ceea ce face ca, atunci când gelul compozit îngheață, cristalele de gheață să forțeze lanțurile polimerice să se strângă unul spre altul, formând concentrații locale mari de polimer ce pot fi considerate ca nuclee. Odată cu deînghețarea, aceste nuclee acționează ca situri de reticulare pentru moleculele de polimer, deoarece ele tind să se realinieze și să se lege cu apa, prin legături de hidrogen, cu rezultatul unei largiri a lanțurilor polimerice. În criogelurile compozite PVA-BC apar regiuni cristaline, unele datorate unor zone bogate în polimer, altele determinate de prezența BC. La nivel molecular zonele cu cristalite de PVA pot fi descrise ca o structură de straturi duble de molecule cu legături de hidrogen în fiecare strat, respectiv cu legături de tip van der Waals între straturi. Așa cum s-a mai arătat, proprietățile mecanice ale criogelurilor PVA-BC, prin comparație cu cele ale altor compozite polimerice, sunt deosebite. În acest sens se arată că, pentru criogelurile PVA-BC dependența tensiune de deformare - deformare (diagrama Hooke) este de tip exponențial, similară cu cea care caracterizează țesuturile biologice. Alte aspecte ce susțin promovarea criogelurilor PVA-BC drept candidate ideale pentru biomateriale sunt datorate faptului că ele prezintă un grad ridicat de saturatie cu lichide, au o structură chimică simplă, sunt netoxice și necancerigene și prezintă importante caracteristici de biodegradabilitate.

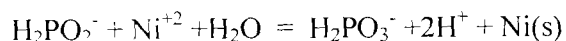
În ceea ce privește descrierile referitoare la compozite moi sau tari, în care bioceluloza este componentul principal, se face precizarea că acestea, chiar dacă probabil nu lipsesc, ele nu sunt încă suficiente de sistematizate.

Descrierea solicitării de brevet

Intr-o prima alcatuire, inventia de fata se raporteaza la noi compozite ce pornesc de la bioceluloza ca atare sau usor modificata chimic. In orice start de compozit, bioceluloza se obtine pornind de la culturi de *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, or *Sphaerotilus*. S-a preferat obtinerea biocelulozei prin cultivarea adecvata a speciei bacteriene *Acetobacter xylinum*. Procesul de obtinere a peliculelor de bioceluloza este, in cea mai mare parte, cunoscut tehnologic, asa cum noi aratam aici prin referinta bibliografica [43], care este incorporata prezentei inventii, prin referire, in totalitate. In corpul descrierii solicitarii de brevet se arata ca sunt, in fapt, trei cai de procesare a biocelulozei peliculare obtinuta din cultivarea adecvata a speciei *Acetobacter xylinum*. Prima cale cuprinde eliminarea excesului de apa din folia de bioceluloza prin tamponare si presare moderata. A doua cale repeta prima cale pe care o completeaza cu oxidarea superficiala a biocelulozei prin imersarea acesteia intr-o solutie de clorura de sodiu si apoi, pentru oxidare superficiala, intr-o solutie 0.1 M de NaIO_4 timp de 5 ore; bioceluloza oxidata se spala, se tamponeaza astfel ca excesul de apa sa fie eliminat. A treia cale porneste fie de la bioceluloza procesata conform primei cai si consta in eliminarea avansata a umiditatii din folii, urmata de uscarea acestora. Pentru realizarea compozitului bioceluloza impregnata cu argint, respectiv a compozitului bioceluloza impregnata cu nichel se porneste de la folii de bioceluloza procesate dupa prima, sau dupa a doua cale. Astfel, pentru compozitul bioceluloza impregnata cu argint, o folie cu diametrul de 100 mm, ce a urmat prima sau a doua cale, este mentinuta timp de 1.5 ore in 200 ml solutie dextroza 45 g/l si apoi, dupa scurgere si tamponare, in 200 ml solutie cu $\text{Ag}(\text{NH}_3)^+$, care rezulta din amestecarea a 120 ml solutie AgNO_3 17 g/l cu 60 ml solutie NaOH 45 g/l, respectiv cu 20 ml solutie NH_4OH 20%. In timpul mentinerii sub usoara agitare a foliei de bioceluloza in solutia cu $\text{Ag}(\text{NH}_3)^+$ se constata innegrirea acesteia ca urmare a desfasurarii, in interior si pe suprafata, a reactiei de reducere a ionului de argint si de oxidare a dextrozei:



Cresterea concentratiei de Ag in folia de bioceluloza se obtine prin repetarea, pentru aceeasi folie, a procedurii de tratare cu solutie de dextroza si de $\text{Ag}(\text{NH}_3)^+$. Foliile din compozitul de bioceluloza cu argint, ce porneste de la folii de bioceluloza procesate dupa cea de a doua cale, cand sunt folosite pentru tratarea sau repararea tesuturilor vii, par sa fie mai bine suportate de sistemul de celule epidermale pentru ca in acest caz sunt favorizate legaturile cu celulele biologic active din tesutul tratat. Pentru compozitul bioceluloza impregnat cu nichel, o folie cu diametrul de 100 mm, ce a urmat prima sau a doua cale, este mentinuta timp de 1.5 ore in 200 ml solutie hipofosfit de sodiu 10 g/l si apoi, dupa scurgere si tamponare, in 200 ml solutie cu Ni^{+2} , avand urmatoarea compozitie: clorura de nichel - 30 g/l, hidroxiacetat de sodiu - 50 g/l si NaOH - pana la atingerea unui pH = 6.5. In timpul mentinerii, sub usoara agitare, a foliei de bioceluloza in solutia cu Ni^{+2} , se constata innegrirea acesteia ca urmare a desfasurarii, in interior si pe suprafata, a reactiei de reducere a ionului de nichel si de oxidare a ionului hipofosfit:



Compozitul cu bioceluloza pentru filme antimicrobiene porneste de la compozitul bioceluloza cu argint impregnat, in oricare din cele doua forme ale sale, care mai intai este maruntit la scara micrometrica intr-un dezintegrator, in care concentratia de bioceluloza cu argint impregnat este de 30% greutate. In microsuspensia obtinuta se adauga pulbere de alcool polivinilic (PVA 100-98) la nivelul de concentratie de 10% greutate si se procedeaza la agitarea si incalzirea lenta a sistemului pana la 80°C, unde se mentine sub agitare timp de 4 ore. Prin racire lenta pana la temperatura camerei se obtine compozitul pentru filme antimicrobiene. Pentru a trage filme, se ia o cantitate din acest compozit, in care se adauga epiclorhidrina, la nivelul de concentratie de 1% greutate si 0.1% greutate acid sulfuric, solutie 0.5M. Amestecul astfel obtinut se poate trage in filme pe un suport, utilizand o sita serigrafica din panza de poliester, cu fir de 20 microni si cu densitatea ochiurilor de

140-160 mesh. Compozitele tip sandwich pornesc de la folii de bioceluloza prelucrate conform celei de a treia cai de procesare. Placatul sandwich din bioceluloza si alcool polivinilic se obtine prin formarea unui pachet prin suprapunerea de (folii) pelicule de BC acoperite pe una din fete cu o solutie de alcool polivinilic (PVA 100-98) 10% g/g, epichlorhidrina 1% g/g si 0.1% acid sulfuric 0.5 M. Pachetul astfel obtinut se plaseaza intr-o presa plana de laborator, care se strange la presiunea de 2 bari si se aduce in etuva la 80°C. Dupa 4 ore se scoate presa si, dupa racire, placatul. Placatul sandwich din bioceluloza si rasina epoxidica se obtine conform procedurii de mai sus, cu observatia ca solutia de alcool polivinilic se inlocuieste cu un amestec rasina epoxidica-intaritor.

Exemplul 1. Obținerea biocelulozei în culturi de *Acetobacter Xylinium*.

Acest exemplu descrie solutia tehnologica de obtinere a membranelor de bioceluloza pornind de la medii sterile ce sunt inoculate cu *Acetobacter xylinum*. Pentru aceasta se utilizeaza o instalatie experimentală ca cea din figura 1, sterilizată termic, în care se încarcă mediul de sinteză, fiert pentru a fi sterilizat, format dintr-o soluție apoasă ce conține 15 g/l miere, peptonă din carne 15 g/l, extract de drojdie 15 g/l, fosfat acid disodic 1.5 g/l, glucoza 5 g/l, niacin (vitamină B₃) 0.5 g/l, acid acetic 15 g/l.

Figura 1. Schema instalatiei de obtinere a peliculei de bioceluloza

Intrucat pH-ul initial al mediului de cultura nu este constant deoarece el depinde de pH-ul apei utilizate la preparare (apa distilata, apa demineralizata, apa potabila cu sub 0.2 g/l saruri), se procedeaza la aducerea sa la valoarea de 4.7 prin adaos de NaOH. Odata mediul preparat si sterilizat, se procedeaza la alimentarea acestuia in bioreactorul de obtinere a biocelulozei (figura 1), dupa care se realizeaza inocularea compartimentul din stanga al bioreactorului cu o cultura sterila de *Acetobacter xylinum* (un inocul este mediu steril, ce contine *Acetobacter Xylinum*). Bioreactorul functioneaza intr-o camera bine luminata, la o temperatura, in jur, de 20-22°C. Aerul vehiculat este filtrat printr-un strat inalt de carbune activ astfel ca mediul de biosinteza sa nu fie infectat. Urmare a inocularii are loc propagarea inoculului in masa de biosinteza ceea ce face ca procesul biochimic sa inceapa constatandu-se astfel ca, la 24-30 de ore de la inoculare, pe suprafata mediului de cultura, din compartimentul aerat al bioreactorului, apare o pelicula de bioceluloza. Bioreactorul a fost construit din doua vase cilindrice din Plexiglas, avand diametrul de 160 mm si inaltimea de 150 mm, cu fund plat si capace aproape etanse, cuplate intre ele, la partea inferioara, prin doua jonctiuni, pe una montandu-se un robinet simplu iar pe cea de a doua o pompa dozatoare. Sistemul de bioreactor prezentat, impreuna cu compozitia aleasa si cu modul de operare descris, este capabil sa elimine cele mai multe dintre efectele nedorite ale procedurilor clasice de obtinere a biocelulozei in reactoare fara agitare si fara elemente mobile. Dupa 8 zile de lucru/cultura, membranele de bioceluloza tip gel ajung la o grosime de 5 mm (figura 2), in care continutul de fibre uscate este de 1.65-1.75%. Membrana cruda se fierbe minim o ora intr-o solutie de NaOH 5%, in vederea indepartarii bacteriilor acumulate in aceasta. Se obtine astfel o membrana clara, cu tente usoare de alb, cu o grosime medie de 0.3-0.5 mm, care se pastreaza in vas Petri sub apa distilata in vederea procesarii sale ulterioare.

Figura 2. Bioceluloza formata in bioreactorul static

Exemplul 2. Influenta pH-ului asupra vitezei de producerea Biocelulozei.

Pentru a evidentia efectul pH-ului asupra vitezei de producere si a calitatii biocelulozei obtinute s-a procedat la cultivarea biocelulozei in reactorul static modificand pH-ul mediului de cultura, asa cum rezulta din tabelul 1. In toate cazurile, mediul de cultura a fost format din adaos de zahar brun si otet din vin (6% acid acetic) in apa. Retetele de lucru sunt prezentate in tabelul 1. Rezultatul urmarit a constat in determinarea grosimii membranei si a calitatii suprafetei acesteia dupa 80 de ore de la inoculare, in conditiile in care temperatura de lucru a fost mentinuta la 23±0.5 °C.

Tabel 1. Compozitia mediului de cultura si pH-ul acestuia la investigarea efectului pH-ului asupra vitezei de productie si a calitatii biocelulozei (bioreactor cu diametrul de 80mm)

Componentii mediului de cultura	Cantitati pentru 1 l mediu de cultura					
	Proba 1	Proba 2	Proba 3	Proba 4	Proba 5	Proba 6
Zahar brun	16 g	16 g	16 g	16 g	16 g	16 g
Otet din vin (6% acid acetic)	500ml	333ml	250ml	200ml	166ml	100ml
Apa	500ml	667ml	750ml	800ml	834ml	900ml
pH	3.3	3.6	3.7	4	4.7	5.2

In toate cazurile s-a respectat procedura de lucru descrisa in exemplul 1. In fiecare experiment compartimentul aerat al bioreactorului static a fost luminat cu o lampa de halogen de 150 W, plasata deasupra capacului transparent al acestuia, astfel incat distanta de la aceasta la membrana in crestere a fost de 380 mm.

Figura 3. Eficacitatea producerii biocelulozei la diferite valori de pH

Rezultatele prezentate in figura 3 arata ca valoarea recomandata a pH-ului mediului de cultura este in intervalul 4.7-5.2. In ceea ce priveste aprecierea calitatii membranei se fac precizarile: proba 1 (pH = 3.3) conduce la membrane cu grad mare de hidratare, cu rezistenta scazuta si cu goluri pe suprafata (figura 4); proba 2 (pH = 3.6) a dat membrane cu grad de hidratare mare si cu o suprafata ce arata faptul ca bacteriile cresc in colonii (figura 4); proba 3 (pH = 3.7) a dus la membrane cu hidratare acceptabila dar cu suprafata ce arata ca bacteriile cresc inca in colonii; probele 4, 5 si 6 (pH = 4 - 5.2) au dat membrane rezistente cu suprafata acceptabila.

Figura 4. Imagini ale suprafetei membranei de bioceluloza la cultivarea acesteia in medii cu pH < 3.7

Rezultate foarte apropiate cu cele raportate in exemplul 2 s-au obtinut si atunci cand compozitia mediului de cultura a fost cea specificata prin exemplul 1, pH-ul fiecarei probe obtinandu-se prin corectie cu NaOH.

Exemplul 3. Influenta temperaturii asupra vitezei de productie a biocelulozei

Pentru a evidentia efectul temperaturii asupra vitezei de productie si a calitatii biocelulozei obtinute, s-a procedat la cultivarea biocelulozei in reactorul static utilizand mediul de cultura din exemplul 2, ce avea pH= 4.7. Culturile au fost realizate la temperaturile de 20, 22, 24, 26, respectiv 28 °C. Procedand in toate cazurile ca pentru un experiment din exemplul 2, dupa 80 de ore de la inoculare, s-au obtinut membrane de aceeasi grosime (2.5 mm) si cu aceeasi structura. Reprezentarea masei de membrane functie de temperatura, data in figura 5, arata, pentru intervalul de temperatura considerat, o influenta slaba a acestui parametru asupra productivitatii reactorului.

Figura 5. Influenta temperaturii asupra productivitatii de bioceluloza a bioreactorului static

Este insa de apreciat ca cea mai buna temperatura de lucru a bioreactorului static este in jurul valorii de 24°C.

Exemplul 4. Membrana din bioceluloza impregnata cu Argint (Compozitul bioceluloza impregnata cu Ag)

Se obtin, conform exemplului 1, membrane din bioceluloza cu diametrul de 80 sau 160 mm, ce se pastreaza sterile, in apa distilata, intr-un vas Petri. Intr-un alt vas Petri suficient de mare, astfel incat diametrul sau sa depaseasca diametrul membranei de bioceluloza, se introduce sau se prepara 400

ml de reactiv Tollens modificat (in cazul preparii instant se amesteca in ordinea precizata 240 ml solutie AgNO_3 17 g/l cu 120 ml solutie NaOH 45 g/l, respectiv cu 40 ml sol NH_4OH 20 %). In paralel, intr-un alt vas Petri, de aceleasi dimensiuni cu cel pentru reactivul Tollens, se introduc 400 ml solutie dextroza, cu concentratia de 45 g/l. Intr-un al treilea vas Petri, avand aceeaasi dimensiune cu cele anterioare, se introduc 150 ml de solutie de clorhexidina cu concentratia de 3g/l. In vasul Petri cu solutia de clorhexidina se introduc rondele de hartie de filtru, cu dimensiunea egala cu cea a membranelor de bioceluloza, pana cand intreaga solutie este absorbita. O baie mare ce contine minimum 2 l de apa distilata, fiarta si racita, va fi folosita pentru spalarea finala. Avand solutiile pregatite se procedeaza la impregnarea cu argint, parcurgand urmatoarele etape de lucru:

- 1) se ia o folie de bioceluloza din vasul Petri de pastrare si se tamponeaza pe ambele fete cu hartie de filtru, sterilizata termic, astfel ca excesul de apa sa fie indepartat;
- 2) folia de la secventa 1 se trece la saturarea in reducător prin imersarea acesteia in vasul Petri ce contine solutia de dextroza si mentinerea acesteia, timp de o ora, sub usoara agitare a vasului cu ajutorul unui shaker;
- 3) folia de bioceluloza saturata in reducător se tamponeaza cu hartie de filtru sterila, ca la secventa 1, astfel ca sa se indeparteze excesul superficial de solutie de dextroza;
- 4) prin trecerea foliei de la secventa 3 in vasul Petri ce contine solutia Tollens, incepe difuzia complexului $\text{Ag}(\text{NH}_3)^+$ in membrane, urmata de reducerea lui la Ag de catre dextroza adsorbita anterior in membrana; pentru membranele ce au o grosime de 0.3-0.5 mm o durata de mentinere de o ora sub usoara agitare pe un shaker a vasului cu reactiv Tollens este suficienta pentru consumarea dextrozei sorbite;
- 5) membrana cu Ag redus, ce are o culoare gri, este tamponata, pentru a indeparta excesul superficial de reactiv Tollens si este trecuta la spalare in baia de apa, unde se mentine o jumatate de ora;
- 6) dupa spalare, membrana este tamponata spre a indeparta excesul de apa si depozitata, prin asezarea ei intre doua rondele de hartie de filtru saturate in solutia de clorhexidina, in vasul Petri de stocare.

Se obtin astfel folii sterile de compozit din bioceluloza cu Ag, ce pot fi utilizate pentru tratarea tesuturilor arse, sau deteriorate de insuficienta venoasa. O folie de bioceluloza impregnata cu Ag poate repeta, odata sau de mai multe ori, ciclul de procesare mai sus prezentat, daca scopul urmarit este cresterea concentratiei de Ag in membrana. O reducere a marimii granulonilor nanometrici de Ag din compozit poate fi obtinuta daca secventele de saturare cu dextroza si (mai ales) de difuziune si reducere a complexului $\text{Ag}(\text{NH}_3)^+$ au loc intr-o baie vibrata ultrasonor. Figura 6, unde se dau imagini de microscopie electronica a doua probe de bioceluloza cu argint, evidentiaza dimensiunea nanometrica a Ag din structura compozitului, precum si efectul utilizarii campului de ultrasunte, in faza de tratare cu reactiv Tollens, asupra acesteia. Totodata, se evidentiaza ca prin tratarea cu reactiv Tollens in camp de ultrasunete concentratia de Ag in structura compozitului creste fata de o tratare normala.

Figura 6. Fibrile si nanoparticule de Ag in structura compozitului bioceluloza - Ag
a) - tratare normala cu reactiv Tollens; b) - tratare cu reactiv Tollens in baie cu camp ultrasonor

Exemplul 5. Membrana din oxibioceluloza impregnata cu Argint (Compozitul oxibioceluloza impregnata cu Ag)

Membrana din oxibioceluloza impregnata cu argint se obtine dupa aceeaasi procedura ca membrana cu bioceluloza impregnata cu argint, cu deosebirea ca se porneste de la o membrana din bioceluloza oxidata inaintea introducerii ei in lantul de procesare.

Pentru a obtine oxidarea de suprafata a membranei de bioceluloza se procedeaza la imersarea si mentinerea membranei de bioceluloza intr-o solutie de iodat de sodiu (NaIO_4) de concentratie 0.08-0.12 M pe o durata de timp de 20-24 ore. Contactarea se face in vas inchis, de culoare inchisa pentru a evita degradarea solutiei prin iluminare. Dupa contactare, probele de membrane sunt spalate cu apa distilata fiarta si depozitate in vas Petri sub apa distilata. Membranele oxidate sunt apoi procesate conform procedurii descrise in exemplul 4. Membranele din compozitul oxibioceluloza – argint au, in cazul utilizarii lor la refacerea tesuturilor externe, o foarte buna

absortie ca urmare a mai bune legarii biochimice de tesuturile tratate.

Exemplul 6. Membrana din bioceluloza respectiv oxibioceluloza impregnata cu Nichel (Compozitul bioceluloza impregnata cu Ni, Compozitul oxibioceluloza impregnata cu Ni)

Pentru a obtine membrane din bioceluloza impregnate cu Ni, sau din oxibioceluloza impregnate cu Ni, se lucraza ca in exemplul 5, respectiv exemplul 6, cu urmatoarele observatii: a) solutia de dextroza se inlocuieste cu o solutie hipofosfit de sodiu de concentratie 10 g/l; b) solutia de reactiv Tollens modificat se inlocuieste cu o solutie ce contine Ni^{+2} , formata din clorura de nichel 30 g/l, hidroxiacetat de sodiu 50 g/l, adusa, cu NaOH, la pH =6.5; c) durata saturarii cu hipofosfit de sodiu, ca si durata de tratare in solutia cu Ni^{+2} este de 1.5 ore; d) in timpul lucrului solutia ce contine ionii Ni^{+2} se incalzeste la 60 °C. Membranele compozite bioceluloza-Ni, respectiv oxibioceluloza-Ni pot fi utilizate cu succes in unele tipuri de pile de combustie.

Exemplul 7. Gel compozit pentru obtinerea filmelor antimicrobiene

Pentru obtinerea gelului compozit, folosit la tragerea pe suport a filmelor compozite, se porneste de la membrane compozit bioceluloza – argint, respectiv membrane compozit oxibioceluloza – argint. In ambele cazuri se recomanda ca faza de depunere a argintului in membrane sa se faca de cel putin 2 ori, caz in care concentratia argintului in membrana gel (neuscata) depaseste nivelul de 0.008 g Ag/g membrana. Pentru inceput se obtine o solutie de alcool polivinilic 100 g/l alcool polivinilic (PVA 100-98) procedind dupa cum urmeaza: a) se adauga, sub agitare magnetica si la temperatura camerei, in 900 grame de apa cantitatea corespunzatoare de pulbere de PVA (100-98); b) dupa adaugarea intregii cantitati de polimer, temperatura sistemului se ridica la 80 °C si se mentine la aceasta valoare, sub agitare mecanica continua, timp de 3h; c) solutia fierbinte se filtreaza si se mentine in repaos pana cand ajunge la temperatura camerei, dupa care se trece intr-un vas de stocare acoperit. In paralel cu obtinerea solutiei de alcool polivinilic se procedeaza la obtinerea unui micronizat mecanic din membrane cu argint (bioceluloza – Ag, respectiv oxibioceluloza – Ag) conform urmatoarei proceduri: O cantitate de 200 grame de membrane cu argint, obtinuta conform exemplului 4 sau 5, se taie in bucati de aproximativ 1cm × 1cm, dupa care se spala pentru indepartarea urmelor de clorhexidina. Bucatile obtinute se aduc intr-un microdezintegrator cu doua randuri de cutite, ce are turatia rotorului de peste 1000 rpm, adaugand peste acestea 100 ml apa distilata si 10 ml etanol absolut. Se porneste si se mentine dezintegrarea pana la obtinerea unei paste uniforme, de culoare gri. Amestecarea intima a pastei de membrane cu solutia de alcool polivinilic duce la pasta de baza pentru tragerea filmelor antimicrobiene. Tragerea de filme se realizeaza utilizand metoda serigrafica. Pentru aceasta, se ia o cantitate din pasta de baza, in care se adauga epiclorhidrina la nivelul de concentratie de 1% g/g si 0.1% acid sulfuric solutie 0.5M. Dupa amestecare, se poate proceda la tragerea de filme pe suport, utilizand o sita serigrafica din panza de polyester cu fir de 20 microni si cu densitatea ochiurilor de 140-160 mesh.

Exemplul 8. Placat sandwich din bioceluloza si alcool polivinilic.

Pentru o obtine compozitul numit placat sandwich din bioceluloza si alcool polivinilic se porneste de la o solutie de alcool polivinilic 90 g/l si de la membrane de bioceluloza complet uscate. Solutia de alcool polivinilic (PVA (100-98)) de 90 g/l se prepara dupa modelul solutiei de 100 g/l, prezentat in exemplul 7.

Figura 7. Instalatie pentru eliberarea primara a apei din membrana tip gel

Pentru obtinerea placatului sandwich din bioceluloza si alcool polivinilic, membranele de bioceluloza trebuie sa fie complet uscate. Avand in vedere problemele ce apar la uscarea membranei, solutia utilizata a constat in eliberarea apei din membrana din bioceluloza in doua trepte.

Figura 8. Uscarea avansata a membranei din bioceluloza cu un uscator tambur

Prima treapta de eliberare se materializeaza printr-o presare speciala astfel incat membrana sa-si pastreze forma si totodata sa-si uniformizeze grosimea. Instalatia din figura 7, in care presiunea se transmite membranei prin intermediul unui piston separat de membrana printr-o folie de latex, arata ca aceasta lasa apa indepartata sa iasa prin corpul poros ce imbraca incinta membranei. Se asigura astfel foarte bine, prin presiunea mare aplicata, cerintele de indepartare avansata a apei din membrana gel si de uniformizarea a grosimii sale. A doua treapta de eliminare a apei, care porneste de la membrana presata, consta in uscarea membranei pe un uscator tambur, in care aceasta este foarte bine fixata cu ajutorul unor rulouri (figura 8). Caldura necesara evaporarii apei din membrana este furnizata de doua radiatoare montate in plan diametral in raport cu tamburul de uscare. Pentru obtinerea placatului sandwich din bioceluloza si alcool polivinilic s-au utilizat trei variante de lucru, functie de membrana de la care s-a pornit, respectiv functie de faptul daca alcoolul polivinilic a fost sau nu tratat in vederea reticularii. **Prima varianta** a pornit de la membrane de bioceluloza ce au suportat doar eliberarea primara de apa. Astfel aceste membrane, avand o grosime medie de 100 μm , au fost imersate in solutia de alcool polivinilic de 90 g/l pentru o durata de 24 h, dupa care s-a procedat la formarea pachetului sandwich prin asezarea acestora una peste alta. In mod concret s-a construit pachete sandwich brute, fiecare avand cate 6 straturi. Pachetul sandwich brut a fost trecut la indepartarea excesului de apa prin procesarea acestuia cu ajutorul instalatiei din figura 7. Proba rezultata, ce are o grosime medie de 0.08 mm, este supusa uscarii la temperatura camerei, pentru o durata de 48 de ore. Dupa uscare, proba ajunge sa aiba grosimea medie de 0.04 mm. In vederea ridicarii diagramei tensiune de solicitare (σ) - alungire ($\epsilon = (l-l_0)/l_0 \cdot 100$), proba a fost taiata in piese/bucati mai mici (tabelul 2) care au fost supuse incercarii pe masina de tractiune. Rezultatul comportarii la intindere a acestui sort de placat sandwich bioceluloza - alcool polivinilic este prezentat in figura 9. Din reprezentare si din observatiile vizuale (figura 10) se constata ca ruperea epruvetei are loc datorita fortelor de intindere (compresiune) si forfecare si se produce gradual, strat dupa strat, pina cand peste 50% din strat cade; spre exemplu, epruveta 2 prezinta prima cadere de strat la 95 MPa, urmata de caderea celui de al doilea strat la 125 MPa. Aceasta comportare se datoreaza fie unor mici imperfectiuni de structura a placatului, fie datorita faptului ca nu toate straturile compozitului au fost egal solicitate. Figura 9 mai arata ca, pana la o solicitare de 25 MPa, placatul se comporta ca un compozit, prezentand o asa numita regiune plastica datorata prezentei alcoolului polivinilic in structura. Dupa 25 MPa materialul se comporta, pana la atingerea solicitarii de rupere, ca un material tare similar materialelor ceramice.

Tabelul 2. Probe si conditii de testare la solicitarea la intindere a unor epruvete din primul sort de placat sandwich din bioceluloza - alcool polivinilic

Nr crt	Marimea caracteristica	Epruveta 1	Epruveta 2	Epruveta 3
1	Grosimea epruvetei (mm)	0.04	0.04	0.04
2	Lungimea epruvetei (mm)	200	150	150
3	Latimea epruvetei (mm)	9	20	18
4	Forta de preincarcare (N)	10	10	10
5	Forta maxima (N)	393.9	984.9	973.6
6	Alungire la forta maxima (mm)	1.525	2.565	2.365

Figura 9. Diagrama tensiune (σ) vs. alungire (ϵ) pentru sortul 1 de placat sandwich bioceluloza - alcool polivinilic (negru - epruveta 1, magenta - epruveta 2, galben - epruveta 3)

Figura 10. Imagini ale epruvetelor din primul sort de placat sandwich bioceluloza - alcool polivinilic; (a) - lateral, (b) - fata, (c) - microscopie optica

A doua varianta de a produce placat compozit din bioceluloza si alcool polivinilic urmeaza o cale apropiata celei descrise pentru prima varianta, diferentiindu-se insa puternic de aceasta prin aceea ca, in acest caz, se porneste de la membrane de bioceluloza complet uscate. Urmand aceasta procedura, au fost preparate 6 probe pentru ridicarea diagramei de solicitare σ vs. ϵ . Inainte de testare, epruvetele 5 si 6, din cele prezentate in tabelul 3, au fost imersate in apa pentru o durata de

15 minute astfel ca, urmare a sorbtiei de apa in structura, acestea au capatat o foarte buna flexibilitate. In timpul testelor de tractiune toate epruvetele au aratat un comportament deosebit in sensul ca, ruperea foliilor de bioceluloza nu este localizabila intr-o anumita zona a epruvetei. Diagrama σ vs. ϵ a acestor probe arata valori ale efortului de rupere de aproape 3 ori mai mari decat cel caracteristic primului sort de placat. Epruvetele 5 si 6, urmare a absorbtiei de apa, prezinta o alungire la tractiune cu aproape 50% mai mare decat probele ce nu au fost supuse sorbtiei finale de apa.

Tabel 3 Probe si conditii de testare la solicitarea la intindere a unor epruvete din cel de al doilea sort de placat sandwich din bioceluloza –alcool polivinilic

Nr crt	Marimea caracteristica/ Epruveta Nr →	1	2	3	4	5	6
1	Grosimea epruvetei (mm)	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024
2	Lungimea epruvetei (mm)	170	170	170	170	170	170
3	Latimea epruvetei (mm)	9	7.2	10	9.3	6.5	9.2
4	Fora de preincarcare (N)	10	10	10	10	10	10
5	Fora maxima (N)	738.2	501.5	814.6	854.3	559.2	854.3
6	Alungire la fora maxima (mm)	1.615	1.615	1.924	1.925	2.971	1.925

Figura 11 Diagrama tensiune (σ) vs alungire (ϵ) pentru sortul 2 de placat sandwich bioceluloza – alcool polivinilic (negru – epruveta 1, magenta – epruveta 2, galben – epruveta 3, bleau- epruveta 4, maro1- epruveta 5, maro2- epruveta 6)

In ceea ce priveste existenta in diagrama σ vs. ϵ a unei comportari plastice a materialului testat este de precizat ca ea este observabila pana la valori ale solicitarii de 50 MPa. Dupa aceea comportarea de material ceramic se mentine pana la ruperea epruvetelor. Cea de **a treia varianta** de a obtine placat compozit tip sandwich din bioceluloza si alcool polivinilic urmeaza cea de a doua solutie de care se diferentiaza prin aceea ca in solutia de alcool polivinilic se dozeaza solutia de reticulare, format din epichlorhidrina si solutie acid sulfuric 0.5 M, la nivelele de concentratie de 1%, respectiv 0.1%. In plus, durata de mentinere in solutia de alcool polivinilic a foliilor uscate de bioceluloza se reduce de la 24 h la 4-5 h, astfel incat sa nu se ajunga la gelifierea solutiei datorata sistemului reticulant. In ceea ce priveste comportamentul la intindere a acestui sort de placat, el este aproape identic cu cel al sortului tip 2. Diferentierea intre cele doua sorturi de placat este determinata de sorbtia de apa, mult mai reduca la placatul sandwich in care alcoolul polivinilic a fost reticulat.

Exemplul 9. Placat sandwich din bioceluloza si rasina epoxidica.

Pentru a obtine placate sandwich din bioceluloza si rasina epoxidica s-a pornit de la folii de bioceluloza uscate, obtinute conform procesarii descrise la exemplul 8, si de la sistemul de rasina epoxidica Epiphen (Epiphen RE 6512 - rasina, Epiphen DE 7513 - intaritor, raport de dozare 10/1). La modul practic, se prepara o cantitate suficient de mare de amestec din rasina si intaritor. Apoi fiecare membrana de bioceluloza este acoperita, prin pensulare, cu amestecul rasina-intaritor si pozitionata pe presa de formare a compozitului, dupa ce aceasta a fost tratata cu agent de decofrare. Un pachet de 6-10 membrane, suficient pentru obtinerea compozitului, este strans in presa astfel ca presiunea sa treaca de 2,5 atm, dupa care presa este introdusa intr-o etuva in care temperatura de incalzire se limiteaza la 100°C. Dupa 8 ore se inchide incalzirea etuvei si presa se lasa sa se raceasca lent pana la temperatura camerei. Figura 12 prezinta imaginea de microscopie electronica a suprafetei acestui compozit, imagine ce evidentiaza foarte bine dimensiunea nanometrica a fibrilelor de bioceluloza fixate in lacul epoxidic.

Figura 12. Imagine SEM a placatului sandwich bioceluloza - rasina epoxidica

Este interesat de remarcat ca acest compozit, in structura sa cu 8-16 membrane de bioceluloza in material, este superior ca proprietati multor tipuri de materiale de baza sau de prepreguri folosite in fabricarea circuitelor imprimate[50-52], nu doar prin continutul redus de rasina cat mai ales prin

valoarea marimilor de caracterizare a comportamentului in camp electric si al sorbliei de apa. In acest sens se dau, in tabelul 4, cateva din caracteristicile ce exprima utilizarea acestui compozit ca placat pentru circuite imprimate, dubla fata sau multistrat.

Tabel 4. Unele proprietati ale placatului sandwich din folii de bioceluloza si rasina epoxi

Efortul de rupere	Constanta dielectrica la frecventa curentului de 1000 Hz	Tensiunea de strapungere (V/mm)	Factorul de disipare electrica	Coeeficientul de dilatare termica (mm/mm ⁰ C)	Conductivitatea termica (w/m grd)	Saturarea cu apa (g apa/g mat ×100)
>370 MPa	> 4.4	1500	0.037	1.12	0.87	0.58

Referinte bibliografice

- 1.KLEMM, D., SCHUMANN, D., UDHARDT, U., MARSH, S., Prog. Polym.Sci., 26, 2001, p. 1561
- 2.BAE, S., SUGANO, Y., SHODA, M., J. Biosci. Bioeng., 97, 2004, p. 33
- 3.GEORGE, J., RAMANA, K. V., SABAPATHY, S. N., JAGANNATH, J. H., BAVA, A. S., International Journal of Biological Macromolecules, 37, 2005, p. 189
- 4.ISHIHARA, M., MATSUNAGA, M., HAYASHI, N., TISLER, V., Enzyme and Microb. Technol., 31, 2002, p. 986
- 5.SON, H. J., HEO, M. S., KIM, Y. G., LEE, S.J., Biotechnol. Appl. Biochem.,33, 2001, p.1
- 6.SON, H. J., KIM, H. G., KIM, K. K., KIM, H. S., KIM, Y. G., LEE, S.J., Bioresource Technology, 86, 2003, p. 215
- 7.TAYLOR, M. A., Ph D Thesis, University of Western Ontario, Canada, 1999
- 8.ZUO, K., CHENG, H. P., WU, S. C., WU, W. T., Biochem. Eng. J., 29, 2006, p. 81
- 9.GUHADOS, G., WAN, W., HUTTER, J. L., Langmuir, 21, 2005, p. 6642
- 10.FONTANA, J. D., DESOUZA, A. M., FONTANA, C. K., TORIANI, I. L., MORESCHI, B. J., GALLOTTI, DESOUZA, S. J., NARCISCO, G. P., BICHARA, J. A., FARAH, L.F.X., Applied Biochemistry and Biotechnology, 24/25, 1990, p. 253
- 11.CZAJA, W., KRYSTYNOWICZ, S., BROWN R. M. Jr., Biomaterials, 27, 2006, p.145
- 12.GEYER, U. T., HEINZE, A., STEIN, A., KLEMM, D., MARCH, S., SCHUMANN, D., SCHMAUDER, H. P., International Journal of Biological Macromolecules, 16, 1994, p. 343
- 13.HONG, L., WANG, Y. L., JIA, S. R., HUANG, Y., GAO, C., WAN, Y. Z., Materials Letters, 60, 2006, p. 1710
- 14.SVENSSON, A., NICKLASSON, E., HARRAH, T., PANILAITIS, B., KAPLAN, D. L., BRITTBERG, M., GATENHOLM, P., Biomaterials, 26, 2005, p. 419
- 15.WAN, Y. Z., HONG, L., JIA, S. R., HUANG, Y., ZHU, Y., WANG, Y. L., JIANG, H. J., Composite Science and Technology, 66, 2006, p. 1825
16. G. OTTAVIANI, S. MARTEL, P.A. CARRUPT, J. Med. Chem. 49, 2006, p.3948
17. ALBREKTSSON T. In: BLACK JHG (Ed.), Hard tissue response. London, UK: Chapman & Hall; 1998.
18. HOLLINGER J, MCALLISTER B. In: WILSON J, HENCH LL, GREENSPON D (Eds.), Bone and its repair. FL, USA, Pergamon Press, 1995.
19. CZAJA W, KAWECKI M, KRYSTYNOWICZ A, WYSOTA K, SAKIEL S, WROBLEWSKI P, et al. Application of bacterial cellulose in treatment of second and third degree burns. In: The 227th ACS National Meeting, Anaheim, CA, USA, 28 March–1 April 2004.
20. ALVAREZ OM, PATEL M, BOOKER J, MARKOWITZ L., Wounds 16,7,2004,p. 224.
21. HENCH LL., J. Biomed Mater Res., 41, 1998 p.511

22. VLOEMANS AFPM, SOESMAN AM, KREIS RW, MIDDELKOOP E. A., Burns 27, 2001, p.167
23. MAYALL RC, MAYALL AC, MAYALL LC, ROCHA HC, MARQUES LC., Rev Bras Cir., 80, 4, 1990. p. 257.
24. Brevet RU 2186797 C2, 2002
25. Brevet TR 199901328 T2, 2001
26. KOUDA. T., NARITOMI, T., YANO, H., YOSHINAGA, F., EU 0792935, 1997
27. YAMANAKA, S., WATANABE, K., KITAMURA, N., IGUCHI, M., MITSUHASHI, S., NISHI, Y., URYU, M., J. Mater. Sci., 24, 1989, p. 3141
28. NISHI, Y., URYU, M., YAMANAKA, S., WATANABE, K., KITAMURA, N., IGUCHI, M., MITSUHASHI, S., J. Mater. Sci., 25, 1990, p. 2997
29. DUBEY. V., SAXENA, C., SINGH, L., RAMANA, K. V., CHAUHAN, R. S., Separation and Purification Technology, 27, 2002, p. 163
30. DUBEY, V., PANDEY, L. K., SAXENA, C., J. Membr. Sci., 251, 2005, p. 131
31. TAKAI, M., Cellulose Polymers, Blends and Composites, Ed. By Richard D. Gilbert, Hanser/Gardner Publications, Cincinnati, 1994, p. 233
32. EVANS B, O'NEILL H, MALYVANHV, LEE I, WOODWARD J., Biosens Bioelectron, 18, 2003, p. 917.
33. USPTO Patent Application 20090028927
34. HOFFMAN, A. S. Advanced Drug Delivery Reviews 54,1, 2002, p.3
35. Park, H. N., Park, K., Hydrogels in Bioapplications in Hydrogels and Biodegradable Polymers for Bioapplications., R. M. OTTENBRITE, S. J. HUANG, KINAM PARK (Eds) Washington, D.C., ACS Symposium Series 627, 1994, p.2
36. GORDON, M. J., Controlling the Mechanical Properties of PVA Hydrogels For Biomedical Applications, Thesis Western Ontario University, 1999
- 37 Brevet USPA 20070213522
38. DOBRE.T., STOICA.A., PARVULESCU,O., STROESCU,M., IAVORSCHI,G., Rev.Chim., 59,5, 2007, p.591
39. NARITOMI, T., KOUDA, T., YANO, H., YOSHINAGA, F., SHIGEMATSU, T., MORIMURA, S., KIDA. K., Process Biochemistry, 38, 2002, p.41
40. SCHRAMM, M., HESTRIN, S., J.Gen Microbiol., 11, 1954, p. 123
41. CHISUZU, T., KEIJI, T., MINORU, F., HIROSHI, S., Cellulose, 5, 1998, p.249
- 42 TETSUO, K., MASANOBU, N., YUKAKO, H., EIJI, T., DWIGHT, R., MALCOLM BROWN. JR., PNAS, 99, 22, 2002, p.14008 (www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.212238399)
43. DOBRE.T., STOICA.A., PARVULESCU,O., STROESCU,M., IAVORSCHI,G., Rev. Chim., 59, 5, 2008 p.591
44. GROMET-ELHANAN, Z., HESTRIN,S., J. Bacteriol., 85, 1963, p.284
45. GORDON, M. J. Controlling the Mechanical Properties of PVA Hydrogels For Biomedical Applications. PhD Thesis Western Ontario University, 1999.
46. HASSAN. C. M., PEPPAS N. A., Advances in Polymer Science 153 , 2000, p. 37
47. LOZINSKY, V. I., PLIEVA F. M., Enzyme and Microbial Technology 23,3-4, 1998, p. 227
48. STAUFFER, S. R., PEPPAS, N. A., Polymer 33,18, 1992, p. 3932
49. PEPPAS, N. A., STAUFFER, S. R., Journal of Controlled Release 16 ,1991,p. 305
- 50 T.DOBRE, O. FLOAREA, Elemente de ingineria prelucrarii chimice a suprafetelor, Cap IV, Ed. MatrixRom, Bucuresti, 1998
- 51 CLYDE F. COOMBS JR. (Ed), Printed Circuits Handbook, Mc Graw Hill, NY, 1976
- 52 ZALDIVAR R., CASTANEDA R., Evaluation of Cyanate Ester Prepreg Material, Aerospace Report No TR-2009(8550)-5, September 2009, Aerospace, USA

Noi compozite pe baza de bioceluloza - Revendicari:

1. Procedeu de obtinere a membranelor din bioceluloza, caracterizat prin aceea ca *Acetobacter xylinum*, ca microorganism producator, este cultivat pe un mediu avand compozitia specificata in exemplul 1;
2. Solutie tehnica de obtinere a membranelor de bioceluloza care utilizeaza un reactor static bicompartimentat, in care spatiul de lucru, asa cu rezulta din figura 1, este continuu aerat;
3. Procedeu de obtinere a membranelor din bioceluloza, caracterizat prin aceea ca *Acetobacter xylinum*, ca microorganism producator, este cultivat pe un mediu in care elementele dozate, asa cum arata exemplele 2 si 3, sunt zaharul brun si otetul din vin, cu 6% acid acetic;
4. Solutie tehnica de procesare a membranelor brute din bioceluloza, cand pentru indepartarea bacteriilor se utilizeaza fierberea acestora in solutie de hidroxid de sodiu 5%;
5. Procedeu de oxidare superficiala a membranelor din bioceluloza, caracterizat prin aceea ca membranele sunt tratate, pe o durata de pana la 24 ore, cu o solutie NaIO_4 de concentratie 0.08-0.12 M;
6. Tehnologie de realizare a compozitului membrana din bioceluloza impregnata cu argint, caracterizata de faptul ca membrana este supusa succesiv, asa cum arata exemplul 4, ciclurilor de saturare cu dextroza, respectiv difuziune si reducere a complexului $\text{Ag}(\text{NH}_3)^+$ care se dezvolta la tratarea prin imersie in reactiv Tollens modificat;
7. Procedeu conform revendicarii 6 in care, in vederea cresterii continutului de argint nanometric impregnat, sorbtia dextrozei in membrana si difuziunea cu reducere a complexului $\text{Ag}(\text{NH}_3)^+$ se realizeaza intr-o baie cu ultrasunete;
8. Tehnologie de realizare a compozitului membrana din oxibioceluloza impregnata cu argint, caracterizata de faptul ca membrana din bioceluloza oxidata, conform revendicarii 5, este supusa succesiv, asa cum arata exemplul 4, ciclurilor de saturare cu dextroza, respectiv difuziune si reducere a complexului $\text{Ag}(\text{NH}_3)^+$ care se dezvolta la tratarea prin imersie in reactiv Tollens modificat;
9. Procedeu conform revendicarii 8 in care, in vederea cresterii continutului de argint nanometric impregnat, sorbtia dextrozei in membranele din bioceluloza oxidata si difuziunea cu reducere a complexului $\text{Ag}(\text{NH}_3)^+$ se realizeaza intr-o baie cu ultrasunete;
10. Tehnologie de realizare a compozitului membrana din bioceluloza, respectiv oxibioceluloza impregnata cu Nichel, caracterizata de faptul ca membrana din bioceluloza sau din bioceluloza oxidata este supusa, odata sau succesiv, asa cum arata exemplul 6, ciclurilor de saturare cu hipofosfit de sodiu, respectiv difuziune si reducere Ni^{+2} , ca urmare a tratarii acesteia prin imersie in solutia de clorura de nichel-hidroxiacetat de sodiu;
11. Procedeu de obtinere a gelului compozit pentru fabricarea filmelor antimicrobiene in care, asa cum se arata in exemplul 7, intr-o solutie de 10% PVA se dozeaza, in stare micronizata, biocompozitul bioceluloza - argint;
12. Solutie de aplicare pe suport a gelului compozit din PVA, bioceluloza si Argint exprimata prin aceea ca in gel se dozeaza reticulantul de PVA, iar aplicarea pe suport se face prin serigrafie;

13. Tehnologie de uscare avansata a membranelor de bioceluloza, in care pentru pastrarea stabilitatii dimensionale se lucreaza in doua trepte, utilizand in acest sens indepartarea apei prin presare si uscarea prin incalzire cu radiator;
14. Solutie tehnologica pentru uscarea avansata a biocelulozei, in care apa se indeparteaza prin presare si incalzire cu radiator si care pentru presare utilizeaza o incinta in care pistonul de comprimare, actionat cu aer comprimat de 6 bari, este separat de membrana din bioceluloza printr-o membrana impermeabila din latex (figura 7), in timp ce uscarea prin incalzire cu radiator se realizeaza prin pozitionarea membranei pe un tambur rotativ (figura 8)
15. Procedeu de obtinere a unui placat sandwich din bioceluloza si alcool polivinilic in care suportul din bioceluloza este format din folii de bioceluloza din care apa este indepartata doar prin presare si a caror lipire/compactare se realizeaza urmare a imersarii lor in solutie PVA 10%, urmata de presarea si uscarea pachetului;
16. Procedeu conform revendicarii 15, in care, in scopul obtinerii a unui placat sandwich din bioceluloza si alcool polivinilic cu efort de rupere de peste 350MPa, se porneste de la folii de bioceluloza uscate avansat;
17. Procedeu conform revendicarii 15, in care, in scopul obtinerii unui placat sandwich din bioceluloza si alcool polivinilic cu efort de rupere de peste 350MPa, se porneste de la folii de bioceluloza uscate avansat, iar solutia de alcool polivinilic este tratata in vederea reticularii, asa cum arata exemplul 8, prin dozare de epiclorhidrina si solutie de acid sulfuric 0.5 M, la nivelele de concentratie de 1%, respectiv 0.1%;
18. Procedeu conform revedincarilor 15, 16 si 17 in care suportul de baza este din oxibioceluloza obtinuta in acord cu revendicarea 5;
19. Procedeu de obtinere a unui placat sandwich din bioceluloza si rasini epoxidice, cu proprietati de placat pentru circuite imprimate, in care foliile din bioceluloza uscate sunt acoperite superficial cu sistemul de rasina epoxidica Epiphen (Epiphen RE 6512 - rasina, Epiphen DE 7513 - intaritor, raport de dozare 10/1), dupa care sunt impachetate, presate si supuse unui regim termic favorizant reticularii rasilii;
20. Procedeu conform revendicarii 19, in care foliile din bioceluloza sunt aduse in forma oxidata de oxibioceluloza.

Noi compozite pe baza de bioceluloza – Figuri din continutul cererii de brevet

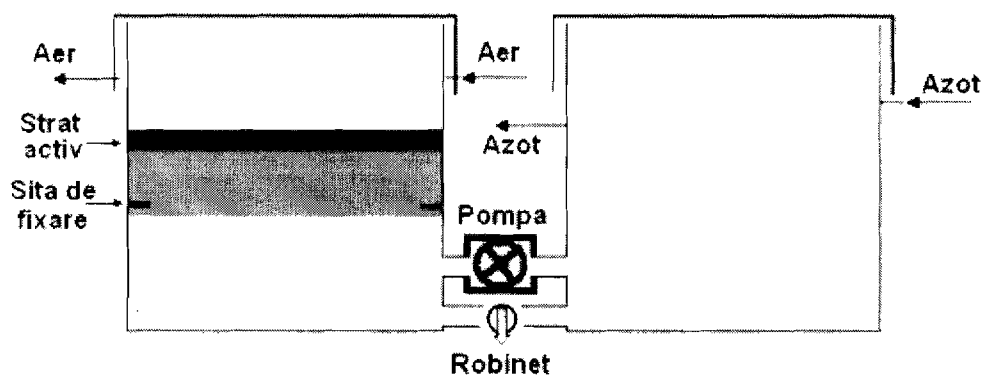


Figura 1. Schema instalatiei de obtinere a peliculei de bioceluloza



Figura 2. Bioceluloza formata in bioreactorul static

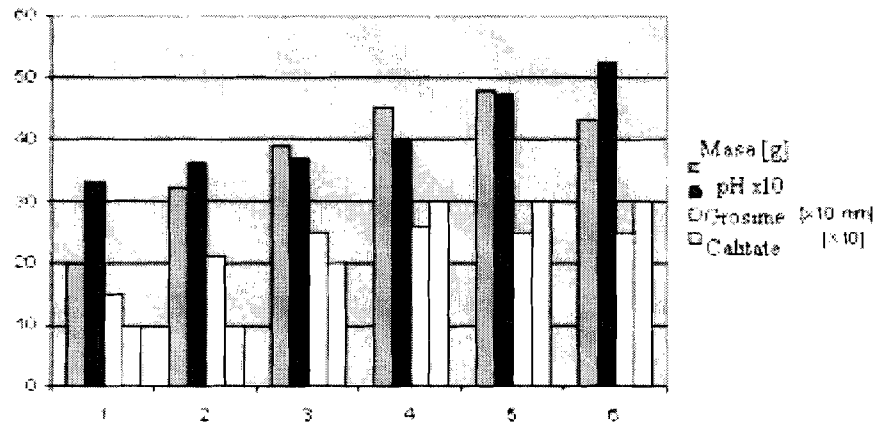


Figura 3. Eficacitatea producerii biocelulozei la diferite valori de pH

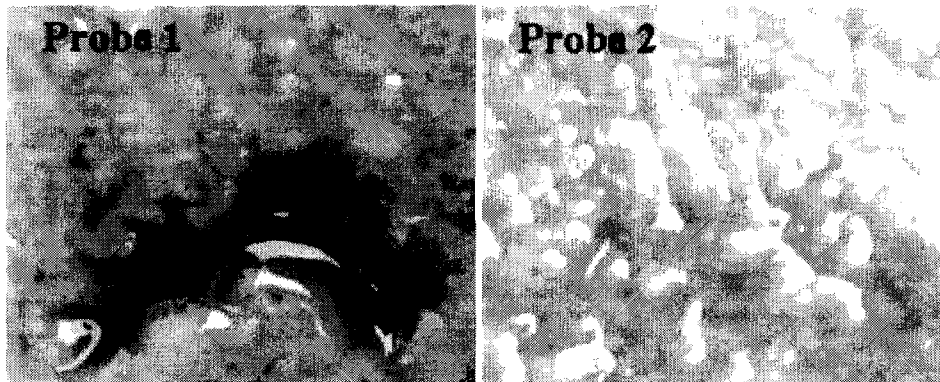


Figura 4. Imagini ale suprafeței membranei de bioceluloza la cultivarea acesteia în medii cu pH < 3.7

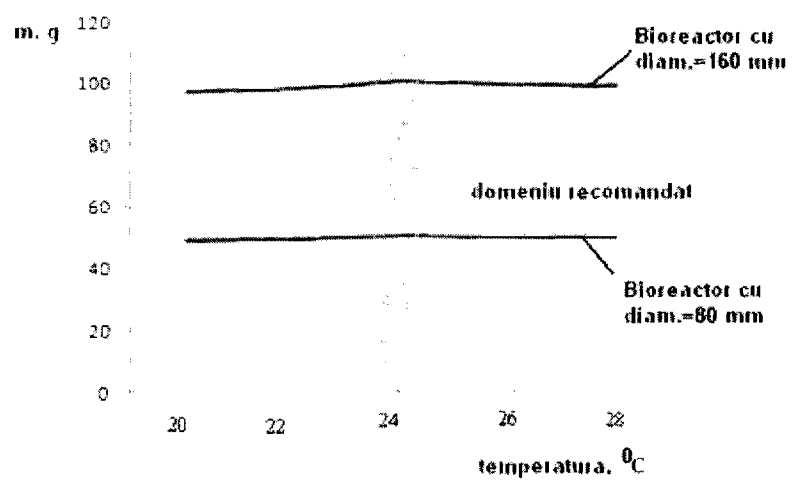


Figura 5. Influenta temperaturii asupra productivitatii de bioceluloza a bioreactorului static

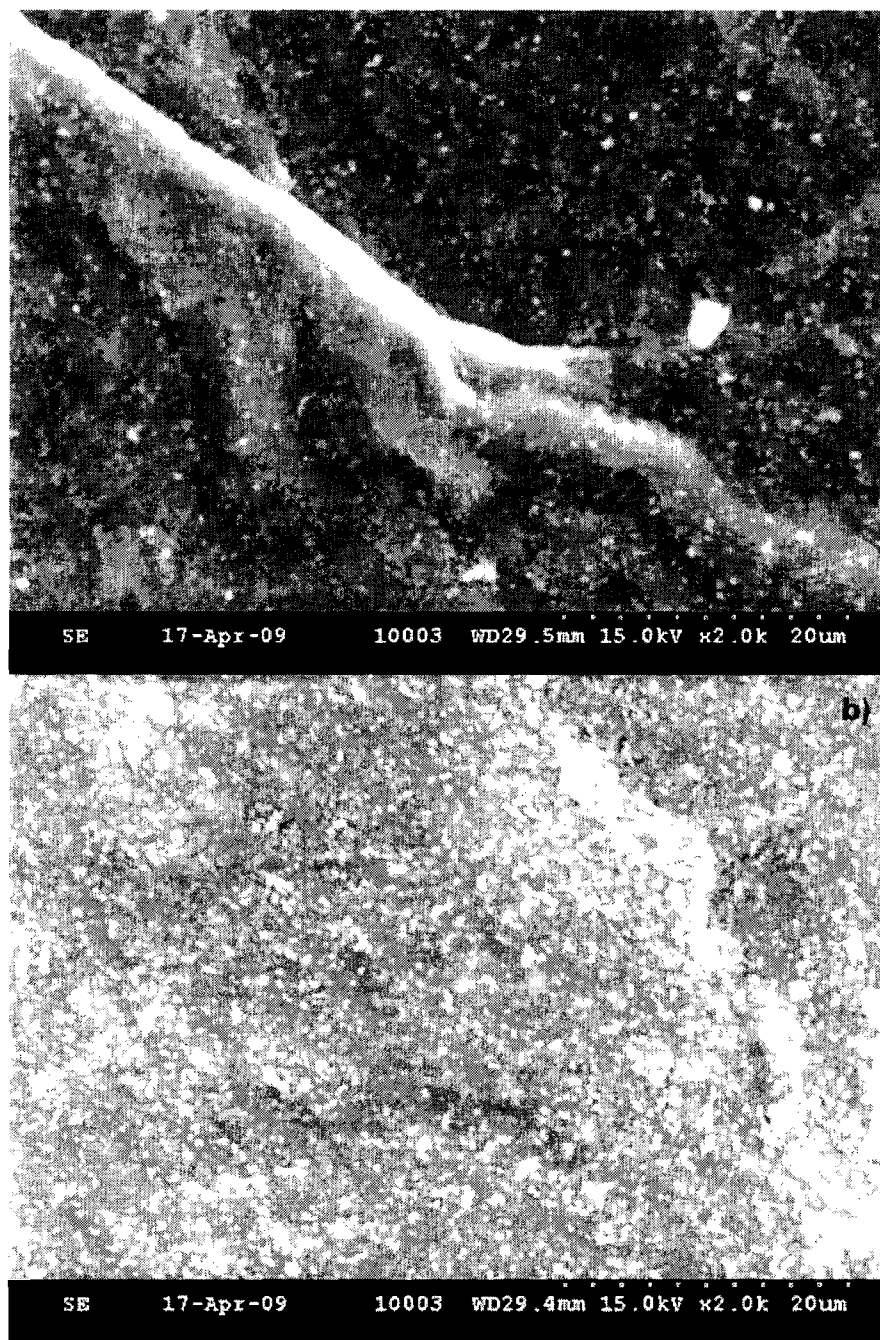


Figura 6. Fibrile si nanoparticule de Ag in structura compozitului bioceluloza - Ag
a) - tratare normala cu reactiv Tollens; b) - tratare cu reactiv Tollens in baie cu camp ultrasonor

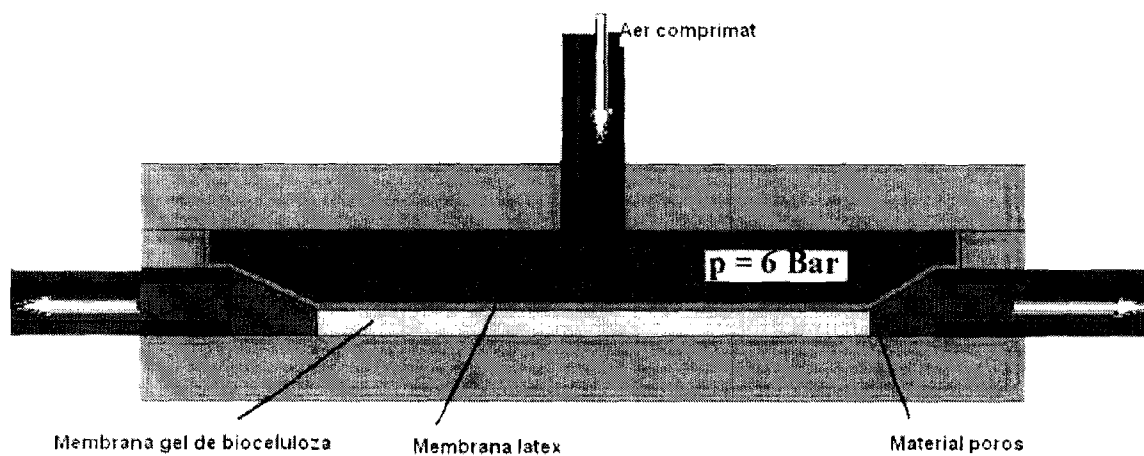


Figura 7. Instalatie pentru eliberarea primara a apei din membrana tip gel

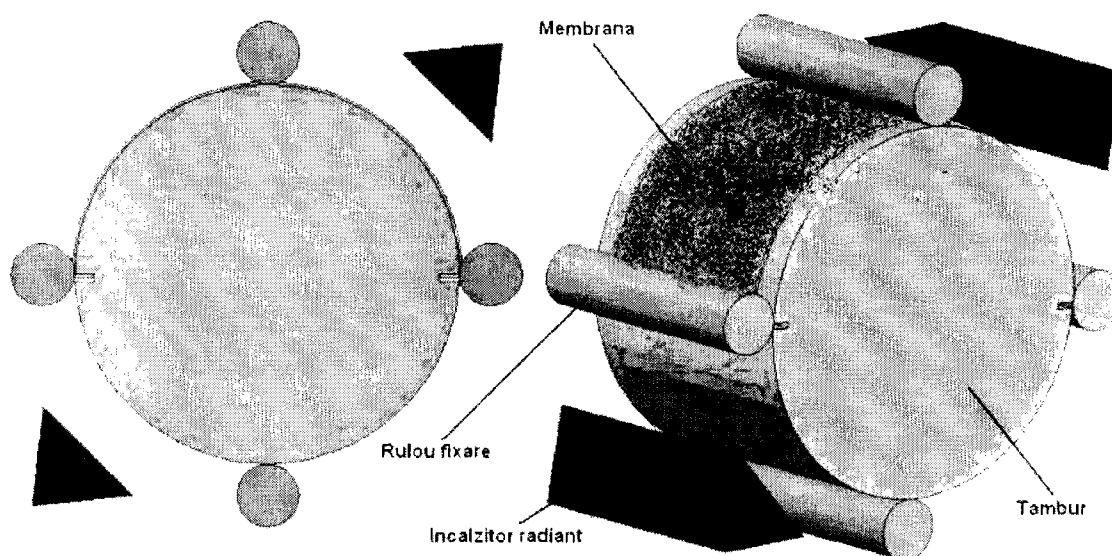


Figura 8. Uscarea avansata a membranei din bioceluloza cu un uscator tambur

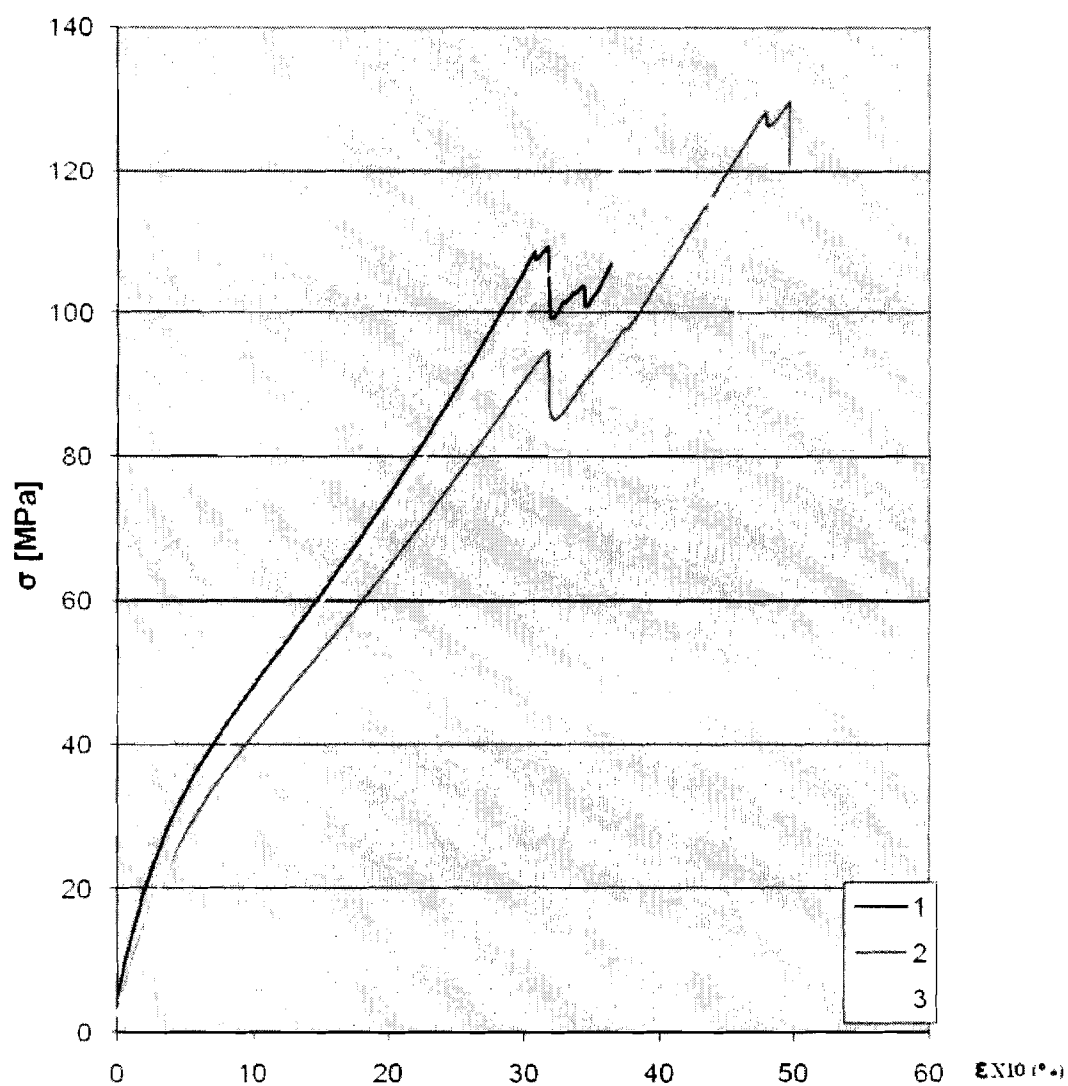


Figura 9. Diagrama tensiune (σ) vs. alungire (ϵ) pentru sortul 1 de placat sandwich bioceluloza – alcool polivinilic (negru – epruveta 1, magenta – epruveta 2, galben – epruveta 3)

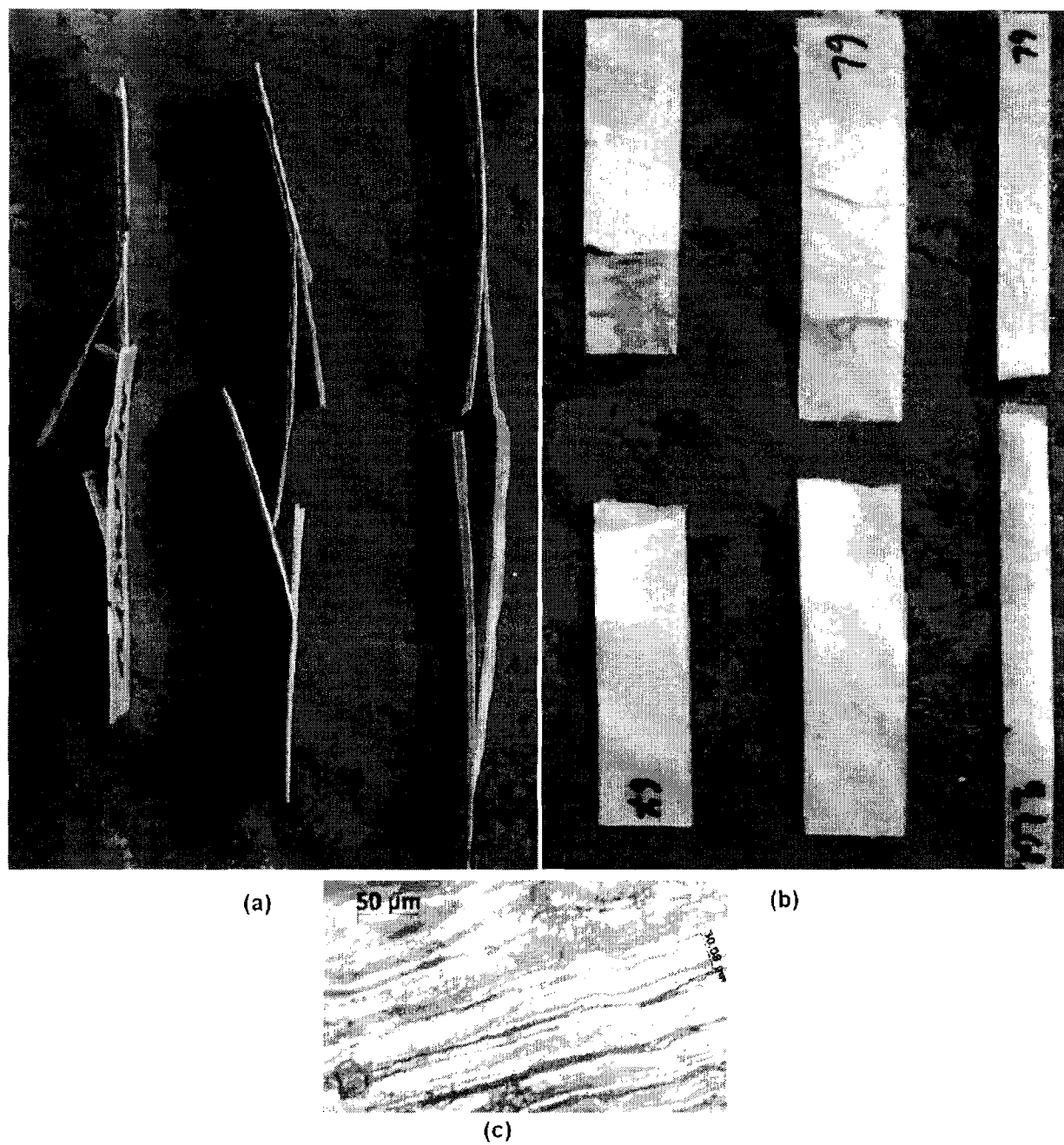


Figura 10. Imagini ale epruvetelor din primul sort de placat sandwich bioceluloza – alcool polivinilic; (a) - lateral, (b) - fata, (c) - microscopie optica

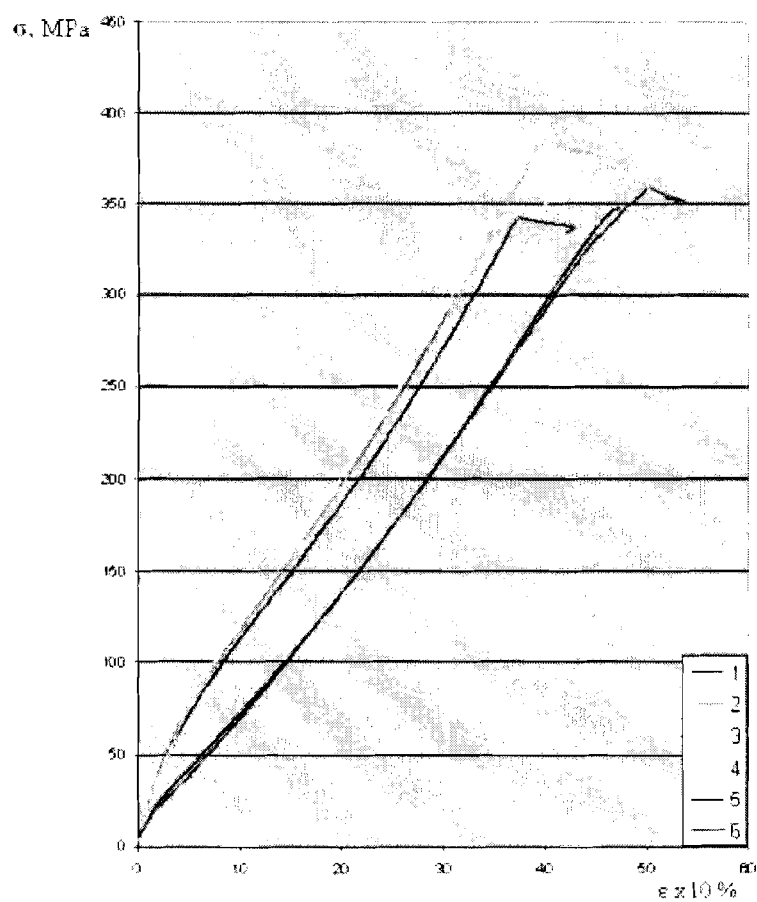


Figura 11. Diagrama tensiune (σ) vs alungire (ϵ) pentru sortul 2 de placat sandwich
bioceluloza – alcool polivinilic
(negru – epruveta 1, magenta – epruveta 2, galben – epruveta 3, bleau- epruveta 4,
maro1- epruveta 5, maro2- epruveta 6)

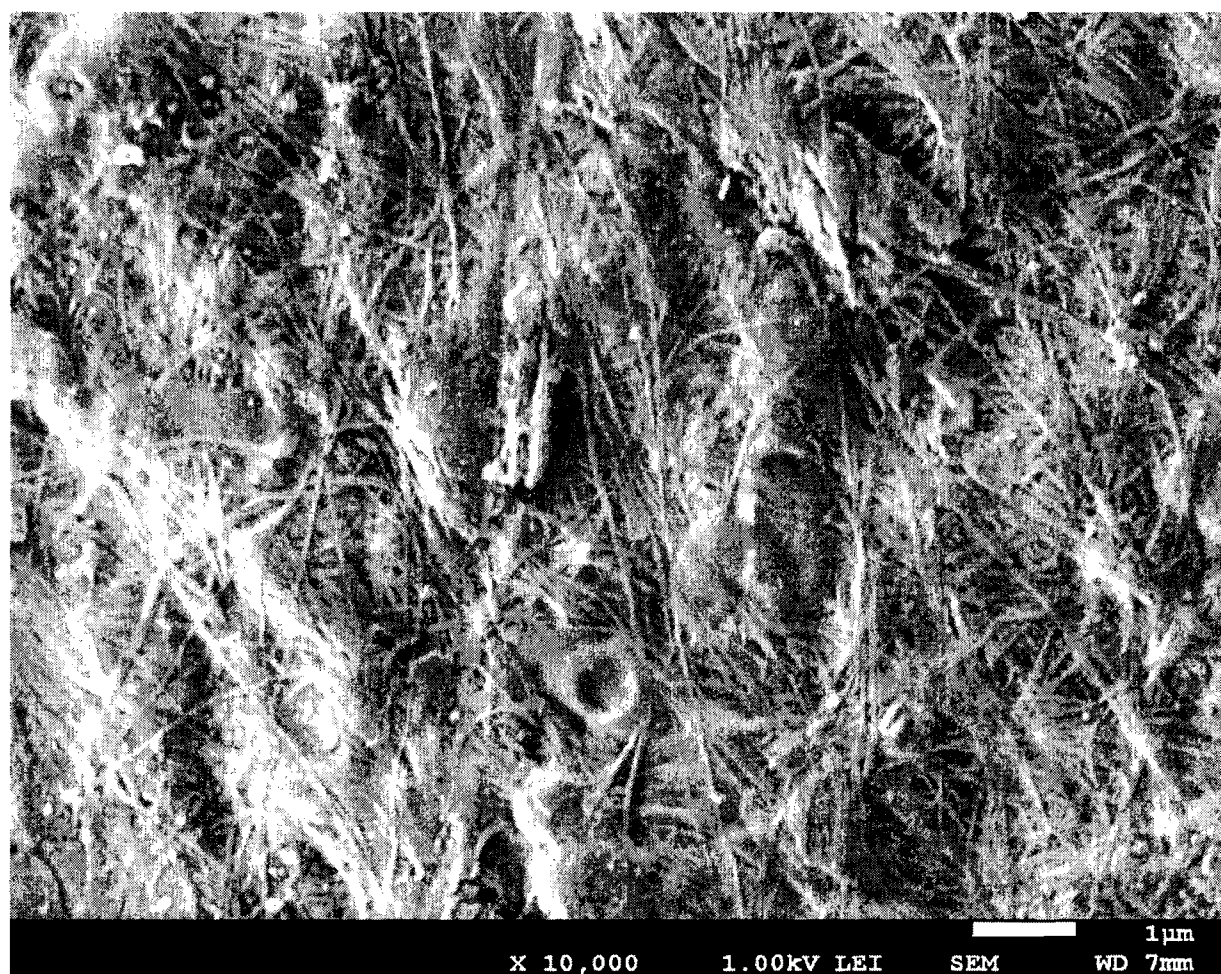


Figura 12. Imagine SEM a placatului sandwich bioceluloza - rasina epoxidica