



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2016 00310

(22) Data de depozit: 04/05/2016

(41) Data publicării cererii:  
30/09/2016 BOPI nr. 9/2016

(71) Solicitant:

- ȘERBAN ALEXANDRU,  
STR. EPISCOPUL MELCHISEDEC NR. 4,  
GALAȚI, GL, RO;
- ȘTEFĂNESCU MARIANA-FLORENTINA,  
ȘOS. OLTENITEI NR. 234, BL. 58, SC. 1,  
AP. 7, ET. 1, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,  
RO;
- DOBROVICESCU ALEXANDRU,  
STR. POET ANDREI MUREȘANU NR. 10,  
ET. 1, AP. 2, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B,  
RO;
- APOSTOL VALENTIN-GHEORGHE,  
ALEEA COMPOZITORILOR NR. 15,  
BL. 821, SC. B, ET. 2, AP. 54, BUCUREȘTI,  
B, RO;
- CHIRIAC FLOREA,  
STR. JEAN LOUIS CALDERON NR. 6,  
BL. 1-3, AP. 24, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B,  
RO;
- RUBINSKY BORIS,  
937 CONTRA COSTA DRIVE, EL CERRITO,  
CA, US

(72) Inventatori:

- ȘERBAN ALEXANDRU,  
STR. EPISCOPUL MELCHISEDEC NR. 4,  
GALAȚI, GL, RO;

- ȘTEFĂNESCU MARIANA-FLORENTINA,  
ȘOS. OLTENITEI NR. 234, BL. 58, SC. 1,  
ET. 1, AP. 7, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,  
RO;
- DOBROVICESCU ALEXANDRU,  
STR. POET ANDREI MUREȘANU NR. 10,  
ET. 1, AP. 2, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B,  
RO;
- APOSTOL VALENTIN-GHEORGHE,  
ALEEA COMPOZITORILOR NR. 15,  
BL. 821, SC. B, ET. 2, AP. 54, BUCUREȘTI,  
B, RO;
- CHIRIAC FLOREA,  
STR. JEAN LOUIS CALDERON NR. 6,  
BL. 1-3, AP. 24, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B,  
RO;
- RUBINSKY BORIS,  
937 CONTRA COSTA DRIVE, EL CERRITO,  
CA, US

(74) Mandatar:

- LOYAL PARTNERS AGENTIE DE  
PROPRIETATE INTELCTUALA,  
STR. PORTULUI NR. 23,  
PARCUL DE SOFT, CAM. 307, GALAȚI,  
JUDEȚUL GALAȚI

(54) PROCEDEU DE CONGELARE IZOCORICĂ PULSATORIE, ȘI  
DISPOZITIV PENTRU REALIZAREA ACESTUIA

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de congelare izocorică pulsatorie și la un dispozitiv pentru realizarea acestuia, destinat conservării unui material sau produs biologic asigurând în spațiul intracelular și extracelular al acestuia o structură fină de cristale de gheață. Într-o primă etapă, materialul biologic este introdus la presiunea mediului ambiant la o temperatură superioară, apropiată de congelare, într-o cameră (1) izocorică umplută cu o soluție apoasă, cu minimizarea fazei gazoase între soluția apoasă și un capac (2) al camerei (1), apoi camera (1) este răcită la exterior, etapă în cursul căreia are loc inițierea cristalizării și a acumulării gheții în interiorul camerei (1), creșterea presiunii și stabilirea în cameră (1) a echilibrului termodinamic al fazelor între gheață și soluția apoasă, la scăderea temperaturii sub temperatura de îngheț corespunzătoare presiunii atmosferice pentru soluția apoasă, după care, la o anumită temperatură între temperatura de îngheț la presiune atmosferică și temperatura punctului triplu între gheață I, gheață III și soluția apoasă din diafragma fazelor pentru soluția apoasă, se deschide o supapă (3) ce pune în legătură conținutul camerei (1) cu presiunea mediului ambiant, ceea ce creează, la scăderea presiunii din cameră, condițiile restabilirii echilibrului termodinamic prin cristalizarea particulelor mici de gheață răspândite în produsul biologic, iar în final se readuce la presiunea atmosferică materialul biologic congelat, cu o structură fină a cristalelor de gheață din spațiul intra și extracelular al volumului tratat, la temperatura inițială apropiată de cea de îngheț în condițiile

presiunii atmosferice. Dispozitivul conform invenției cuprinde o cameră (1) izocorică ce are un capac (2) prevăzut cu o supapă (3) ce permite egalizarea presiunii din vas cu cea din mediul ambiant; camera (1) se introduce într-un vas (5) exterior, prevăzut cu un agitator (9) cu palete (10) cu pereți dubli.

Revendicări: 3  
Figuri: 10

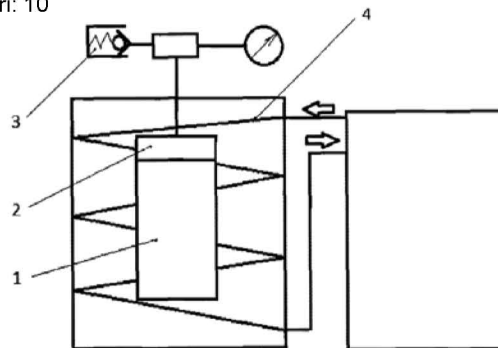
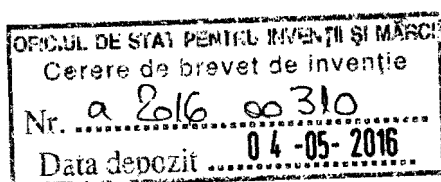


Fig. 7

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).





21

## PROCEDEU DE CONGELARE IZOCORICĂ PULSATORIE ȘI DISPOZITIV PENTRU REALIZAREA ACESTUIA

Invenția se referă la un procedeu termodinamic de congelare izocorică pulsatorie și la un dispozitiv pentru realizarea acestuia, destinate conservării materiilor biologice, în special alimente.

Progresele realizate în tehnologiile destinate păstrării alimentelor fac posibilă asigurarea hranei populației la nivel mondial. Răcirea a fost folosită de secole pentru păstrarea hranei și evitarea degradării acesteia. Reducerea temperaturii are ca efect încetinirea reacțiilor chimice componente ale procesului de tip metabolism. Din acest motiv, păstrarea alimentelor la temperaturi scăzute conduce la reducerea dinamicii reacțiilor chimice cu efect distructiv și au totodată un rol inhibitor în dezvoltarea microorganismelor și a altor elemente patogene.

Privit din acest punct de vedere, cel puțin teoretic, scăderea temperaturii ar avea un efect benefic asupra păstrării alimentelor. Cu toate acestea, materiile biologice sunt formate în mare parte din apă, iar scăderea temperaturii sub punctul de îngheț al apei produce schimbări importante în constituția fizică a alimentelor. Cristalele de gheață care se formează atât în spațiul intracelular, cât și extracelular afectează textura alimentului decongelat, cu repercursiuni negative asupra procesului de conservare.

Răcirea alimentelor este un proces în care căldura este transferată de la suprafața exterioară a produsului către un mediu de răcire.

În procedeele clasice de îngheț, inițierea procesului începe la suprafața exterioară a produsului, aflat în contact cu mediul de răcire, iar cristalizarea gheții se propagă spre interior. Figura 1 prezintă schema de propagare a frontului de îngheț într-o placă supusă răcirii la exterior cu un mediu aflat la o temperatură inferioară temperaturii de îngheț. Temperatura schimbării de fază este  $T_{ph}$  iar  $s(t)$  este suprafața de schimbare de fază care se propagă în timp, de la suprafața exterioară a produsului spre interior. Înghețarea se realizează când  $T_0(K) < T_{ph}(K)$ .

Înghețarea substanțelor biologice se petrece în urma unui proces complex de schimb de căldură și masă. Pentru a conserva structura materiei biologice, procesul de îngheț intra- și extra-celular trebuie să se petreacă cu o anumită viteză de răcire (Rubinsky 2003). La nivel microscopic, în cazul soluțiilor, procesul de îngheț se petrece sub forma unor microcristale, așa cum este ilustrat în figura 2. Mecanismul este bine descris pe baza teoriei nucleației gheții și a instabilității constituționale (Rubinsky 1983, Rubinsky 1983, Rubinsky, Coger et al. 1992).

În general, prin înghețarea rapidă la viteze mari de răcire, se obțin cristale de gheață de dimensiuni reduse. Cu cât sunt mai mici cristalele de gheață, cu atât materiile biologice se păstrează mai bine din punct de vedere morfologic și cu atât mai bună este calitatea produsului alimentar conservat prin frig (Stoecker 1998). Importanța înghețării rapide în cazul conservării alimentelor a fost pentru prima dată remarcată de către inventatorul american Clarence Birdseye care a pus, în anul 1929, bazele procesului de înghețare rapidă pentru păstrarea alimentelor (Hilder 1930).

Procedeele de înghețare rapidă este cunoscut comercial sub numele de înghețare criogenică sau înghețare prin imersare. Acesta este un procedeu prin care alimentele sunt înghețate foarte rapid la temperaturi criogenice. Viteza de îngheț influențează în mod direct procesul de nucleație și dimensiunea cristalelor de gheață. În înghețarea criogenică, alimentele sunt imersate rapid într-un agent criogenic, cum ar fi azot la  $-196^{\circ}\text{C}$  sau un amestec de gheață uscată ( $\text{CO}_2$  solid) și etanol (Miller 1991). La scară industrială, acest proces se realizează în congelatoare de dimensiuni mari, la temperaturi cu mult sub temperatura de îngheț. În mod ideal, alimentele ar trebui congelate de îndată ce au fost procesate, iar durata procesului să fie

de doar câteva ore. După congelarea criogenică, alimentele pot fi mutate într-un congelator convențional, unde produsul biologic să se păstreze în stare solidă, într-un mediu a cărui temperatură se află în apropierea punctului de îngheț. În cazul congelării criogenice, calitatea alimentelor este ridicată, dar procedeul este scump, deoarece necesită echipamente care operează la temperaturi extrem de scăzute.

În categoria sistemelor de congelare mult mai ieftine se încadrează instalațiile de „congelare mecanică”. Congelatoarele mecanice au fost, de altfel, primele sisteme folosite în industria alimentară și sunt utilizate în marea majoritate a congelatoarelor și a lanțurilor de răcire. Ele funcționează pe baza unui ciclu convențional cu comprimare mecanică de vapori. Agentul frigorific, aflat la o temperatură inferioară temperaturii de congelare a produsului, extrage căldura din produsul supus congelării, direct sau prin intermediul unui agent purtător de frig, într-un schimbător de căldură cu rol de vaporizator. Această căldură este transportată la un nivel de temperatură superior temperaturii mediului ambiant și transferată mediului ambiant. Ciclul se reia prin readucerea agentului frigorific de la temperatura apropiată de cea a mediului ambiant, la temperatura scăzută de vaporizare, prin laminare într-un ventil de laminare. Congelatoarele clasice cu comprimare mecanică de vapori funcționează la temperaturi inferioare, dar apropiate de temperatura de îngheț. Cu toate că sunt mai ieftine decât sistemele criogenice, acestea au dezavantajul că nu pot realiza o structură caracterizată prin cristale de gheață de dimensiuni reduse, în masa produsului biologic supus conservării prin frig.

Cu toate că congelarea criogenică realizează o răcire rapidă și cristale de dimensiuni reduse, apare un neajuns natural în ceea ce privește rezultatul final al procesului de congelare. Indiferent de mediul de răcire utilizat, azot lichid sau gaz la temperaturi foarte scăzute, procesul de congelare se propagă de la suprafața exterioară, în contact cu agentul de răcire, spre interior (Fig.1). Din acest motiv, procesul de congelare este dependent de capacitatea calorică a produsului supus congelării. Datorită acestui fapt nu se pot forma, în toată masa produsului, în mod uniform cristale mici de gheață.

În cazul răcirii criogenice, cristalele de gheață vor fi mici în zona din vecinătatea suprafeței exterioare, crescând ca dimensiune spre interior.

Un procedeu cunoscut de crioconservare (conservare în stare congelată) a celulelor, este răcirea rapidă la temperaturi inferioare celei de îngheț, a micropicăturilor care conțin aceste celule (Coger, Rubinsky et al. 1990, Arav, Ramsbottom et al. 1993).

Probabilitatea realizării nucleației particulelor de gheață este funcție de temperatură și volum. În volume mici, apa și soluțiile pot deveni subrăcite, adică sunt în stare lichidă la temperaturi inferioare temperaturii de schimbare de fază (Hobbs 1974). De îndată ce a început formarea de cristale de gheață într-un fluid subrăcit, viteza de extragere a energiei termice devine foarte rapidă și cristalele de gheață devin de dimensiuni foarte reduse. Această tehnică de congelare rapidă este folosită pentru a realiza crioconservarea celulelor în volume microscopice. Această metodă poate fi folosită numai pentru picături foarte fine de soluții curate, în care probabilitatea apariției unei nucleații întâmplătoare este mică, iar soluția poate deveni din punct de vedere termodinamic subrăcită.

În cazul particular al alimentelor, volumele largi de soluții apoase nu pot fi subrăcite datorită numeroaselor puncte de nucleație eterogenă.

Invenția, care face obiectul prezentei cereri de brevet, prezintă un procedeu și un dispozitiv de congelare izocorică pulsatorie a materiilor biologice care poate realiza cristale mici de gheață în interiorul masei supuse acestui tratament, în toată masa, indiferent de suprafața de contact cu agentul de răcire. Principiul utilizat ia în considerare o combinație inovatoare a conceptelor din congelarea picăturilor subrăcite și a congelării izocorice.

Un sistem izocoric este un sistem termodinamic aflat la volum constant. Conceptul de congelare izocorică a fost descris în literatura de specialitate (Rubinsky, Perez și alții 2005,

Szobota și Rubinsky 2006, Preciado și Rubinsky 2010). Principiul se bazează pe diagrama de echilibru termodinamic al fazelor în cazul apei (Figura 3).

Figura 3 arată că apa și gheața I se găsesc în echilibru termodinamic de-a lungul liniei de saturație care se întinde de la presiunea de 0,1 MPa până la aproximativ 200 MPa. Punctul triplu dintre gheața I, gheața III și apa în stare lichidă este la aproximativ  $-22^{\circ}\text{C}$  și 200 MPa. Această diagramă sugerează că într-un sistem izocoric care presupune rigiditatea granițelor sale, pe măsura apariției cristalelor de gheață ale căror volum este mai mare (densitate mai mică) decât cel al apei din care s-au format, crește presiunea în tot sistemul și se realizează starea de echilibru termodinamic al fazelor între apă și gheață de-a lungul liniei de saturație prezentată în figura 3.

Figurile 4a, 4b prezintă distribuția procentuală a gheții și apei într-un astfel de sistem în funcție de temperatură (Rubinsky, Perez și alții 2005), pentru o soluție fiziologică salină.

Rezultatele analizei prezentate în figura 4 sugerează un model de păstrare a produselor biologice în stare necongelată la temperaturi inferioare temperaturii de îngheț corespunzătoare presiunii atmosferice. Modelul unui sistem de prezervare izocorică este arătat în figura 5.

Figura 5 ilustrează modul de operare a unui proces de prezervare izocorică. În prima fază, se plasează materialul biologic în interiorul camerei izocorice. În continuare se inițiază un sit de nucleație. Pe măsură ce recipientul este răcit, odată cu scăderea temperaturii, apariția gheții face să crească presiunea în camera izocorică. Procentul de gheață format la temperatura de aproximativ  $-22^{\circ}\text{C}$  (Fig. 4) impune ca materialul biologic supus răcirii să ocupe numai  $\frac{1}{2}$  din volumul camerei izocorice. În aceste condiții, materialul biologic rămâne neînghețat, fiind în echilibru termodinamic cu gheața la temperaturi în jur de  $-22^{\circ}\text{C}$ . Această temperatură este suficient de redusă pentru a împiedica dezvoltarea microorganismelor în timpul acțiunii de păstrare pe termen lung. Avantajul suplimentar al procedurii este că materialul biologic supus păstrării se găsește în stare necongelată.

Se constată că prezervarea izocorică prezintă dezavantaje din punct de vedere al transportului; greutatea unui dispozitiv necesar atingerii presiunilor corespunzătoare tehnicii de prezervare izocorică este foarte mare. Dacă este posibilă construirea unui astfel de dispozitiv la locul de prelucrare, nu este economică soluția transportării alimentelor procesate în dispozitivul izocoric menționat.

Procedeul de congelare izocorică pulsatorie, care face obiectul prezentei invenții, rezolvă această problemă tehnică.

Avantajele aplicării invenției comparativ cu metodele convenționale:

- spre deosebire de metodele convenționale, metoda de congelare izocorică pulsatorie, generează cristale mici de gheață în masă, în întregul volum al produsului alimentar congelat și de aceea calitatea produsului alimentar congelat este superioară și mai uniformă în întregul volum;

- procesul de congelare este mult mai economic din punct de vedere energetic deoarece are loc la temperatura negativă scăzută de depozitare (ex.  $-20^{\circ}\text{C}$ ) și astfel pierderea de energie utilizabilă corespunzătoare răcirii inițiale la temperaturi criogenice urmată de o încălzire până la temperatura negativă de depozitare este eliminată;

- sistemele frigorifice sunt mult mai ieftine deoarece sunt cele folosite uzual pentru asigurarea temperaturilor negative de depozitare și deci nu este nevoie de instalații criogenice scumpe.

Se dă în continuare un exemplu de realizare a invenției, ilustrată prin următoarele figuri, care reprezintă:

- fig. 1 – schema propagării de la exterior a frontului de îngheț într-un obiect tip placă;
- fig. 2 – cristale de gheață sub forma unor degete, care se formează în timpul solidificării unidimensionale a unei soluții saline;

- fig. 3 – diagrama echilibrului termodinamic al fazelor pentru apă;
- fig. 4a – procentul de gheață în funcție de temperatură într-un sistem izocoric, pentru o soluție fiziologică salină;
- fig. 4b - procentul de gheață în funcție de temperatură într-un sistem izocoric, pentru o soluție fiziologică salină cu 1 și 2 molaritate de glicerol;
- fig. 5 – un proces de conservare izocorică fără înghețare;
- fig. 6 – ciclul termodinamic al procedurii de congelare izocorică pulsatorie, conform invenției;
- fig. 7 – schema unui dispozitiv pentru realizarea procedurii, conform invenției;
- fig. 8 – evoluția procedurii de nucleație într-o cameră izocorică din alcătuirea dispozitivului conform invenției;
- fig. 9a – secțiune axială prin dispozitivul pentru congelarea izocorică pulsatorie cu sistem de răcire pentru varianta de uz industrial, conform invenției;
- fig. 9b – secțiune transversală prin dispozitivul de la fig. 9a;
- fig. 10 – secțiune axială prin dispozitivul pentru congelarea izocorică pulsatorie cu sistem de răcire pentru varianta de laborator, conform invenției.

Ciclul termodinamic aferent procedurii de congelare izocorică pulsatorie, conform invenției, este prezentat în fig.6. Ciclul începe în starea 1, caracterizată în mod uzual de presiunea și temperatura atmosferică. Primul proces al ciclului se desfășoară între stările 1 și 2. Procesul este izocoric, fiind caracterizat prin extragerea căldurii din sistem și urmărește linia de echilibru termodinamic al fazelor lichidă și solidă ale soluției apoase. Nu există interacțiuni prin schimb de lucru mecanic între sistem și mediul său exterior; schimbul energetic este caracterizat numai prin transfer de căldură spre exterior. În starea 2 sistemul este pus în contact practic instantaneu cu mediul exterior de presiune scăzută. Tehnic, acest lucru poate fi obținut prin deschiderea unei supape care pune în legătură camera izocorică cu mediul ambiant. Procesul 2-3, de destindere - practic instantanee - păstrează neschimbată temperatura lichidului din camera izocorică. Scurgerea de lichid din camera izocorică poate fi considerată nesemnificativă.

Sistemul aflat în starea 3 se găsește într-o stare de dezechilibru termodinamic; este lichid subrăcit sub temperatura de îngheț și la presiunea atmosferică de 0,1 MPa. Din acest motiv, când începe nucleația, picăturile mici de apă în stare subrăcită se transformă în cristale de gheață de dimensiuni reduse. Procesul de formare a cristalelor mici de gheață se realizează uniform în întregul volum și se desfășoară la presiunea atmosferică, atingându-se în final starea de echilibru termodinamic. În starea 3 are loc un proces de nucleație rapidă.

Transformarea 3-1 este un proces de închidere a ciclului, realizat prin creșterea temperaturii la presiune constantă prin aport intern de căldură de la punctele de nucleație spre mediul subrăcit. Soluția subrăcită absoarbe energia termică latentă eliberată în procesul de înghețare inițiat în punctele de nucleație, eterogen răspândite în volum și la diferite temperaturi. Pe măsură ce se degajă căldura latentă de îngheț temperatura soluției subrăcite crește, iar procesul de cristalizare continuă la temperaturi mai mari, în mod uniform în tot volumul subrăcit. Are loc formarea de cristale mici de gheață uniform răspândite în volumul subrăcit, proces observat și în cazul înghețării rapide a micropicăturilor subrăcite (Coger, Rubinsky et al. 1990, Arav, Romsbottom et al. 1993). Cristalizarea este independentă de mărimea volumului de prezervare. Transformarea descrisă reprezintă elementul de bază al ciclului de congelare izocorică pulsatorie.

Procesul de înghețare ciclică poate fi reluat până la realizarea congelării complete. O alternativă este realizarea cristalizării fine în spațiul intracelular și extracelular al materialului biologic pe baza unui singur puls izocoric și continuarea procesului de congelare într-un sistem convențional prin extragerea căldurii de la suprafața produsului.

Analizând ciclul în ansamblu, se observă că sistemul nu schimbă lucru mecanic cu exteriorul. Schimbul de lucru mecanic cu exteriorul va caracteriza sistemul lărgit, compus din sistemul de înghețare izocorică pulsatorie și sistemul de răcire al vasului izocoric. Procedul de înghețare izocorică pulsatorie se caracterizează în principal prin transferul de căldură cu exteriorul între stările 1 și 2. Din starea 2 prin deschiderea sistemului izocoric spre mediul ambiant se crează condițiile de nucleație intracelulară în produsul supus prezervării la temperaturi scăzute.

Conform invenției, procedul poate fi realizat cu ajutorul unui dispozitiv care să optimizeze ciclul de congelare izocorică pulsatorie prin maximizarea procesului de nucleație intracelulară în regiunea din camera izocorică rămasă neînghețată.

Figura 7 prezintă schematic acest dispozitiv.

Figura 7 prezintă schema unui exemplu de realizare a dispozitivului de aplicare a procedului de congelare izocorică pulsatorie, conform invenției.

Dispozitivul cuprinde o cameră izocorică 1, proiectată să reziste la presiunile impuse de procedul izocoric. Camera izocorică are un capac superior 2 prevăzut cu o supapă 3 care permite instantaneu egalizarea presiunii din vas cu cea din mediul ambiant. Aceasta poate fi, de exemplu, o supapă simplă închis/deschis, acționată electromagnetic.

Camera izocorică 1 este prevăzută cu un sistem de răcire 4.

Elementele de control al temperaturii din camera izocorică pot fi uniform distribuite sau pot fi amplasate mai multe seturi individuale, care să urmărească evoluția temperaturii pe zone ale vasului izocoric. Întreg ansamblul poate fi prevăzut cu supape de siguranță pentru presiune sau supape care să monitorizeze presiunea.

Spațiul volumului izocoric (conform fig. 8) poate fi separat în două părți, cea inferioară, în care se formează gheața prin nucleația substanței de suport și cea superioară, care conține materialul biologic supus prezervării. Separarea dintre cele două spații permite egalizarea potențialelor Helmholtz, realizând echilibrul termodinamic în soluția din cele două încăperi, inhibând însă nucleația gheții în camera superioară. Acest lucru se poate realiza dacă se folosește ca perete despărțitor un mediu poros.

Într-un procedeu de rutină, materialul biologic este introdus în partea superioară a camerei izocorice (umplute cu soluție suport) la presiunea atmosferică și la o temperatură superioară temperaturii de congelare. Camera este închisă și sistemul este răcit în condiții izocorice. La temperatura/presiunea dorită camera este deschisă spre un spațiu de presiune mai scăzută, de preferință presiunea atmosferică. În materialul biologic are loc nucleația gheții. Procesul ciclic ar putea continua sau conținutul biologic ar putea fi răcit la presiunea atmosferică până la alte temperaturi, chiar criogenice, cu avantajul că materialul biologic are în acest moment nuclee de gheață uniform distribuite în întregul său volum. Pentru păstrare, materialul biologic se scoate din camera izocorică și se depozitează la temperatura dorită, de exemplu  $-10^{\circ}\text{C}$ . În același mod se procedează în cazul congelării rapide prin imersare într-un lichid criogenic; în acest din urmă caz materialul biologic răcit prin imersare este depozitat la o temperatură convențională în jur de  $-10^{\circ}\text{C}$ . În raport cu congelarea prin imersare, în cazul congelării izocorice pulsatorii temperaturile cerute sunt de domeniul frigului înaintat dar nu criogenice iar nucleația cristalelor de gheață sunt uniform distribuite în întregul volum al materialului biologic supus congelării.

Sistemul de răcire al camerei izocorice poate fi conceput în mai multe variante în funcție de scopul urmărit – 1) variantă prototip pentru uz industrial sau, 2) variantă pentru experimentări de laborator.

Varianta 1 (Fig.9).

Camera izocorică 1 se introduce într-un vas exterior 5 umplut cu o soluție acumulatorie de frig 6, care poate fi o soluție de apă-etilenglicol. Vasul exterior este bine izolat termic față de mediul ambiant. În spațiul dintre cele două vase 1 și 5, în soluția

acumulatoare de frig se montează un vaporizator al unei instalații frigorifice 4. Soluția acumulatoare de frig este prevăzută cu un agitator 7. Viteza de răcire a cilindrului izocoric va fi reglată prin variația vitezei agitatorului și prin modificarea temperaturii de vaporizare a agentului frigorific cu ajutorul unui ventil de laminare reglabil electronic 8.

#### Varianta 2 (Fig. 10)

Vasul exterior 5 în care se găsește camera izocorică 1 supusă răcirii se umple cu o soluție acumulatoare de frig 6 cu temperatura de îngheț inferioară temperaturii minime de răcire a produsului biologic. În soluția acumulatoare de frig se imersează un agitator 9. Agitatorul este prevăzut cu palete 10 detașabile care au un spațiu interior umplut cu o soluție cu punct de îngheț (dezgheț) egal cu temperatura minimă de răcire a produsului biologic 11. Atât paletele cât și soluția acumulatoare de frig, în care se imersează, se țin la congelator la o temperatură mai mică decât temperatura minimă de răcire a produsului biologic. În final soluția care se toarnă în vasul (în care se imersează camera izocorică) are temperatura inferioară temperaturii minime de răcire a produsului biologic, iar paletele agitatorului au în interior soluția în stare de gheață subrăcită. Echilibrul se va considera când sistemul are temperatura minimă de răcire a produsului biologic iar soluția (înghețată) din paletele agitatorului este la temperatura minimă de răcire a produsului biologic și începe să se dezghețe. În perioada de timp în care se produce dezghețarea completă a soluției acumulatoare de frig aflată în paletele agitatorului, temperatura la suprafața exterioară a vasului izocoric rămâne constantă și egală cu temperatura minimă de răcire a produsului biologic. Viteza de răcire a vasului izocoric se poate regla din viteza de rotație a agitatorului și din nivelul de soluție acumulatoare de frig în care este imersată camera izocorică. Pentru completare, se poate menține soluție acumulatoare de frig într-un vas Dewar la temperatura minimă de răcire a produsului biologic.

---

## Revendicări

1. Procedeu de congelare izocorică pulsatorie, destinat domeniului conservării materiei biologice, care se desfășoară într-o cameră izocorică, în următoarea succesiune de etape:

- într-o primă etapă, materialul biologic este introdus la presiunea mediului ambiant și la o temperatură superioară și apropiată de cea de congelare, într-o cameră izocorică (1) umplută cu o soluție apoasă, cu minimizarea fazei gazoase între soluția apoasă și un capac (2) al camerei izocorice,
- într-o a doua etapă, camera izocorică este răcită la exterior, etapă în decursul căreia are loc inițierea cristalizării și a acumulării gheții în interiorul camerei izocorice, ceea ce conduce la creșterea presiunii în cameră și stabilirea în acest mod în camera izocorică a echilibrului termodinamic al fazelor între gheață și soluția apoasă la scăderea temperaturii sub temperatura de îngheț corespunzătoare presiunii atmosferice pentru soluția apoasă,

**caracterizat prin aceea că:**

- într-o a treia etapă, la o anumită temperatură între temperatura de îngheț la presiunea atmosferică și temperatura punctului triplu între gheață I, gheață III și soluția apoasă din diagrama fazelor pentru soluția apoasă, se deschide o supapă (3) care pune în legătură conținutul camerei izocorice cu presiunea mediului ambiant, ceea ce crează, la scăderea bruscă a presiunii din cameră, condițiile restabilirii echilibrului termodinamic prin cristalizarea particulelor mici de gheață răspândite în întreg volumul produsului biologic, urmată de
- o ultimă etapă, care readuce la presiunea atmosferică materialul biologic congelat cu o structură fină a cristalelor de gheață din spațiul intra și extra-celular al volumului tratat, la temperatura inițială apropiată de cea de îngheț în condițiile presiunii atmosferice.

2. Dispozitiv de realizare a procedurii de la revendicarea 1, care se desfășoară într-o cameră izocorică (1), **caracterizat prin aceea că**, în spațiul vasului izocoric se află un perete despărțitor (14), format dintr-un mediu poros, într-un capac superior (2) al camerei izocorice (1) este prevăzută o supapă (3) care comunică cu mediul ambiant cu posibilitatea de închis/deschis, iar camera izocorică (1) este imersat într-un vas exterior (5) prevăzut cu un agitator (9) cu palete cu pereți dubli (10), în interiorul cărora se află o soluție acumulatorie de frig (11), cu temperatura de îngheț egală cu temperatura minimă de răcire a produsului biologic.

3. Dispozitiv conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că**, camera izocorică (1) este alcătuit dintr-un corp cu perete gros în construcție fretată, cu cămașă interioară de protecție, rezistent la presiunea de operare a camerei izocorice, iar capacul său (2) mai este prevăzut cu un conector (12) și un manometru (13).



Figuri

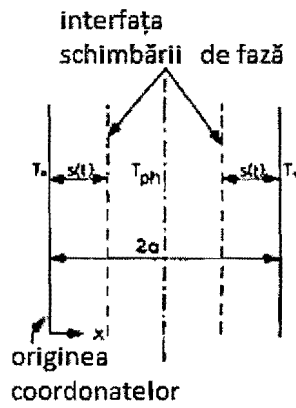


Fig. 1

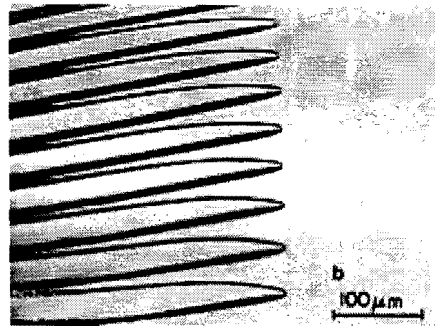


Fig.2

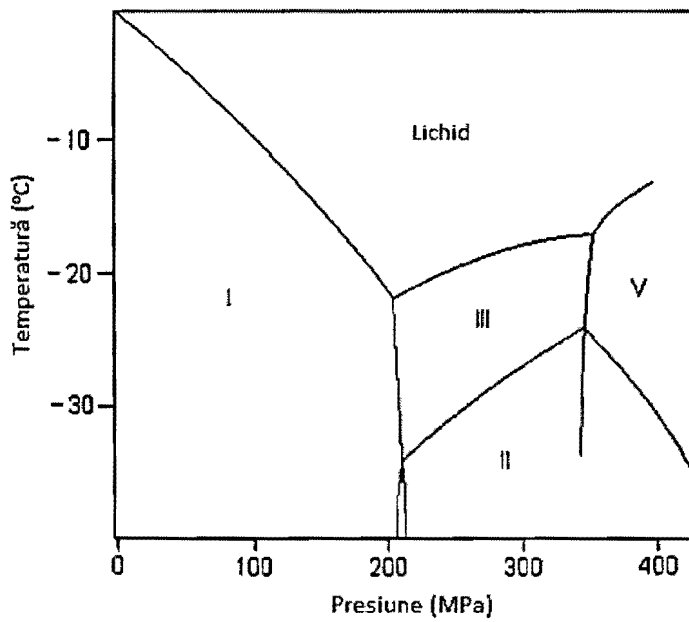


Fig. 3

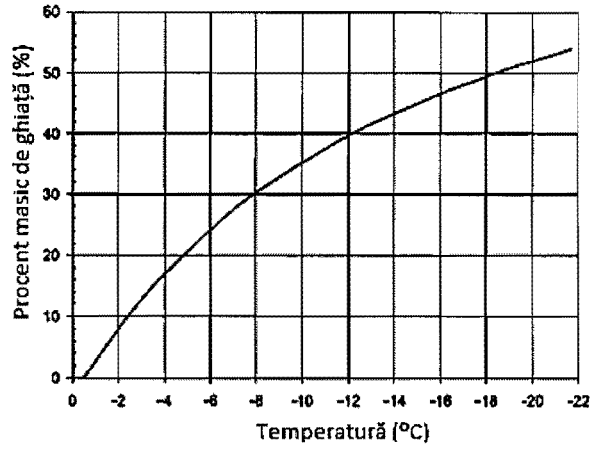


Fig. 4a

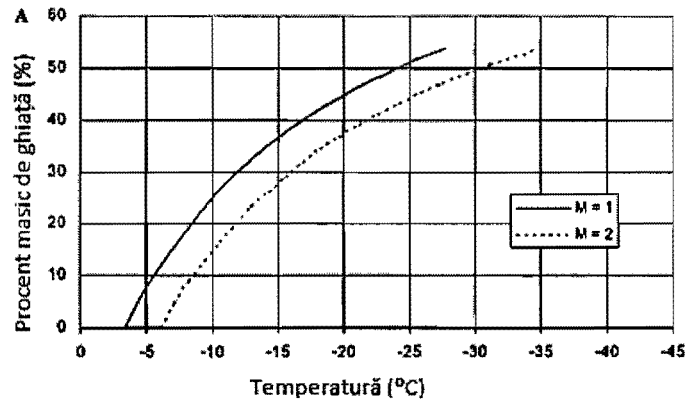


Fig. 4b

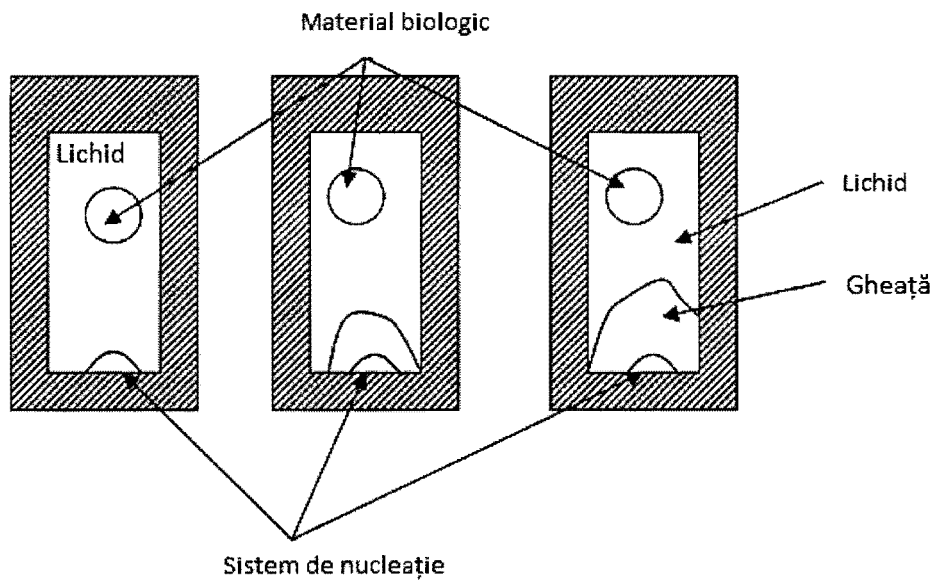


Fig. 5

12

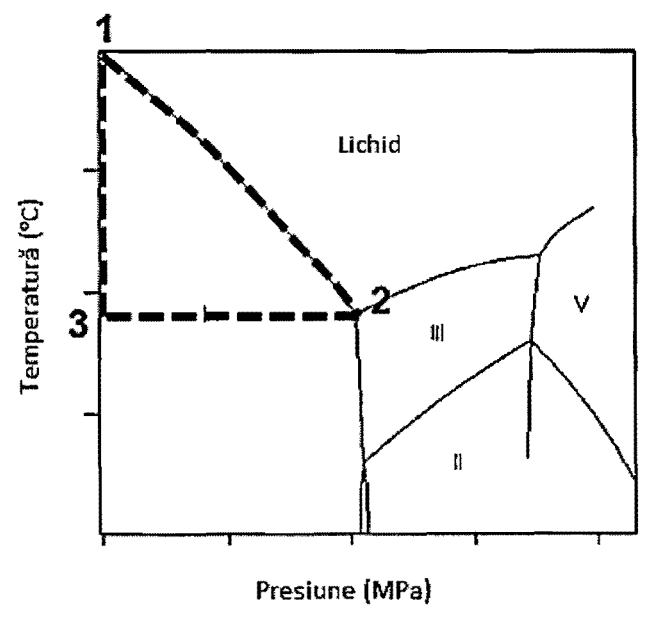


Fig. 6.

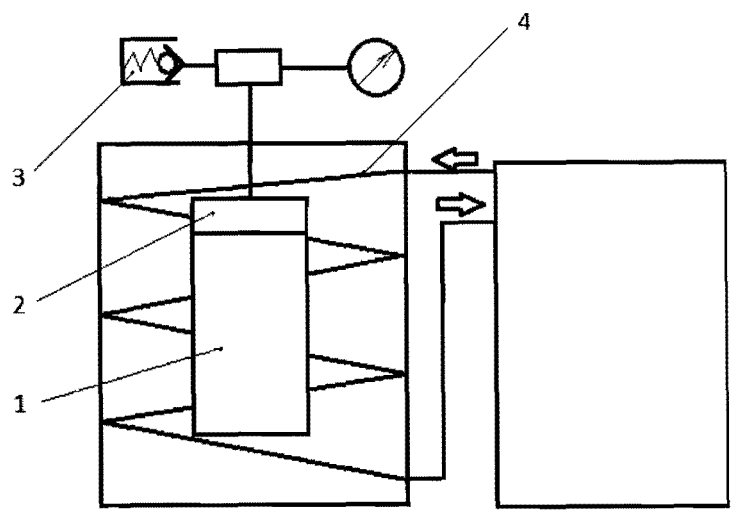


Fig. 7

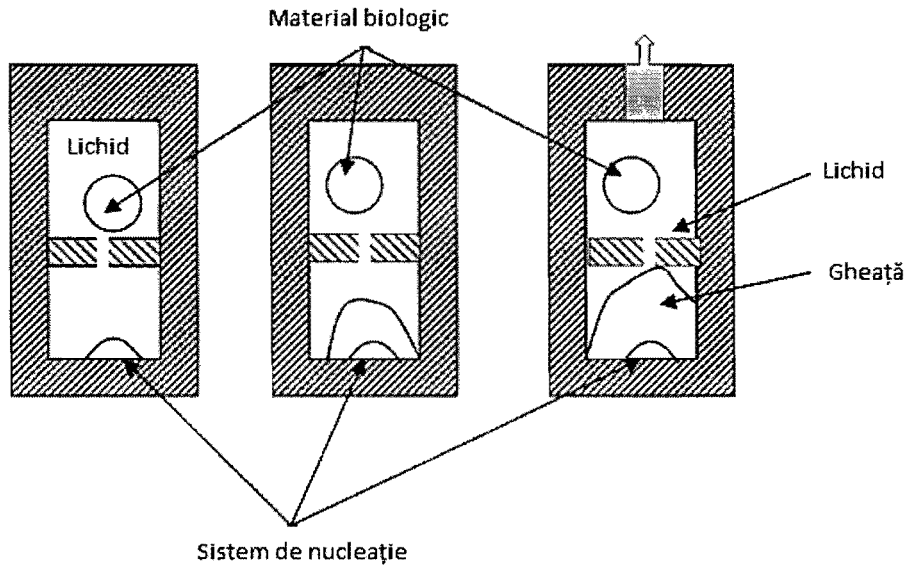


Fig. 8

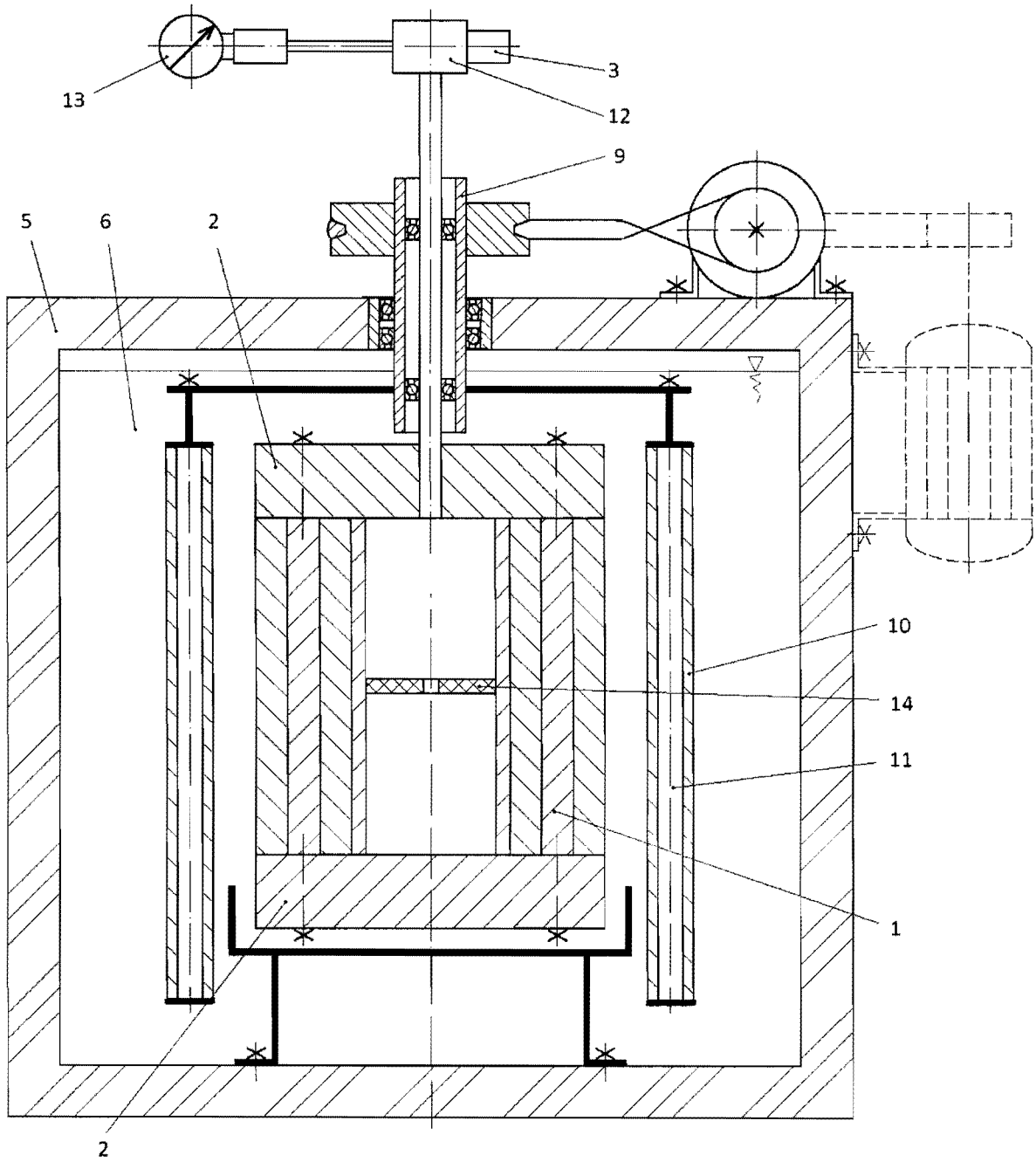


Fig. 10

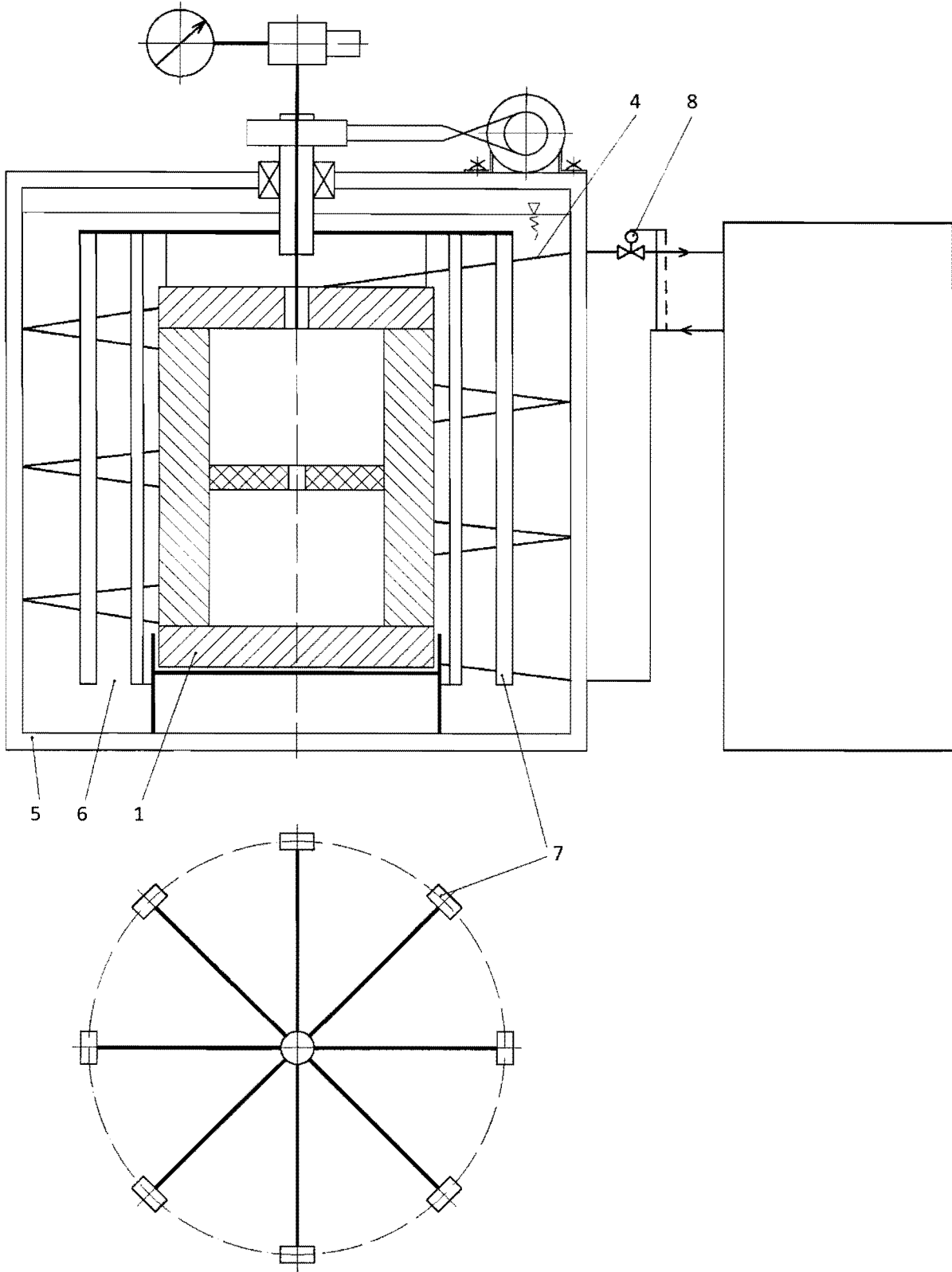


Fig. 9a, 9b