



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2015 01022**

(22) Data de depozit: **18/12/2015**

(41) Data publicării cererii:
30/06/2017 BOPI nr. **6/2017**

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
OPTOELECTRONICĂ - INOE 2000,
STR.ATOMIȘTILOR NR.409, MĂGURELE,
IF, RO;
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
TEXTILE ȘI PIELĂRIE - BUCUREȘTI,
STR.LUCREȚIU PĂTRĂȘCANU NR.16,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• RĂDULESCU CLARA HORTENSIA,
STR. OZANA NR. 1, BL. 130, SC. 2, AP. M1,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;
• DINU MONICA, STR. TURDA NR. 104,
BL. 31, PARTER, AP. 7, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
• ROȘU GEORGETA,
STR. CLUCERU SANDU NR. 4, BL. 29C,
SC. C, ET. 5, AP. 111C, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO

(54) **METODĂ DE OBTINERE DE MATERIALE BIOCOMPATIBILE
PENTRU RESTAURAREA-CONSERVAREA BUNURILOR
CULTURALE CE AU ÎN COMPONENTĂ MATERIALE TEXTILE**

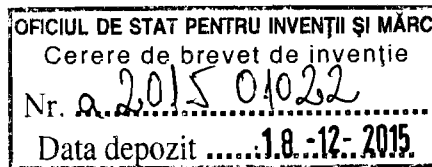
(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă de obținere a unor materiale biocompatibile pentru restaurarea-conservarea bunurilor de patrimoniu cultural pe suport textil. Metoda conform invenției constă în stabilirea profilelor genetice ale unor fibre textile istorice de cânepă, identificarea liiniilor genetice de plante contemporane înrudite cu cele de cânepă, cultivarea acestora, cultivarea fibrelor, care sunt în continuare prelucrate, caracterizarea

fizico-mecanică a fibrelor textile istorice și a celor din plante contemporane, care în final sunt tratate enzimatic la temperatura de 50°C timp de 20 min, cu uscare timp de 1 h, la temperatura de 105°C.

Revendicări: 2
Figuri: 1





Descrierea invenției

Titlu: *Metodă de obținere de materiale biocompatibile pentru restaurarea-conservarea bunurilor culturale ce au în componență materiale textile.*

Precizarea domeniului de aplicare

Invenția se referă la obținerea de materiale textile biocompatibile cu utilizare în domeniul conservării și restaurării bunurilor de patrimoniu cultural pe suport textil.

Prezentarea stadiului tehnicii la nivel mondial

CN 101756408 specifică o metodă pentru articole de îmbrăcăminte realizate din scoarță de copac. Brevetul menționează reparația acestei metode tradiționale folosită în China și constă în selecția semințelor de copac, obținerea și procesarea scoarței, realizarea materialului. Îmbrăcămintea este caracterizată privind duritatea, protecția față de vânt, ploaie, frig.

La nivel internațional există *Comitetul Tehnic TC 346 din cadrul CEN* (Comitetul European pentru standardizare) care cuprinde mai multe grupuri de lucru – WG -, responsabile cu elaborarea standardelor în domeniul patrimoniului cultural, iar la nivel național există *Comitetul Tehnic 380 – Conservarea bunurilor culturale*. Până în prezent nu există niciun standard publicat sau în lucru privind materiale textile biocompatibile pentru restaurarea și conservarea bunurilor de patrimoniu.

Există unele studii privind utilizarea unor compuși polimerici sintetici pentru consolidarea bunurilor de patrimoniu pe suport textil, în special pentru consolidarea pânzelor de pictură [Cocca, M. et al., 2006; Princi, E. et al., 2005] și o abordare privind reconstrucția virtuală a textilelor arheologice, prin tehnici 3D [Cybulska, M. 2010].

În documentul „*European recommendation for the conservation and restoration of Cultural Heritage*”/27.04.2009, Strasbourg este definit unul dintre principiile conservării și restaurării astfel: „Method and materials must also be compatible with the constituent materials of the cultural property” - Metoda și materialele trebuie să fie compatibile cu materialele constituente ale bunului cultural. Nu se cunoaște niciun brevet privind obținerea de materiale biocompatibile cu textilele istorice din fibre naturale, folosind tehnicile și metodele geneticii moleculare.

Problema tehnică rezolvată

Prezenta invenție propune o soluție completă pentru obținerea de materiale biocompatibile cu materiale textile istorice din fibre naturale, biocompatibilitate definită în **termeni genetici**: prin stabilirea filogeniei plantelor vechi folosite la obținerea bunurilor de patrimoniu pe suport textil și identificarea unor specii actuale înrudite filogenetic cu acestea, și în **termeni tehnologici**: prin definirea parametrilor fizico-mecanici specifici (tenacitate, finețe) ai fibrelor istorice și obținerea unor fibre cu valori similare, din plantele înrudite filogenetic cu plantele vechi.

Expunerea invenției:

Invenția prezintă metoda de obținere a materialelor textile biocompatibile cu materialele textile din componența bunurilor de patrimoniu, în vederea utilizării în domeniul conservării și restaurării bunurilor

culturale.

Metoda presupune o succesiune de etape constând în:

1. Identificarea profilelor genetice ale plantelor vechi folosite la obținerea fibrelor naturale din componența bunurilor de patrimoniu pe suport textil.

Se realizează identificarea profilelor genetice ale plantelor folosite la obținerea bunurilor de patrimoniu pe suport textil din fibre naturale prin analiza genetică moleculară a fibrelor istorice naturale care intră în componența bunurilor de patrimoniu pe suport textil. Se realizează extracția ADN-ului (acidul dezoxiribonucleic) prin mojararea cu un micro-pistil într-un tub de 1,5 ml a 200 mg din materialul fibros istoric, până la obținerea unei pulberi fine. Se folosește un protocol SDS și se eludează ADN în 60 μl soluție tampon. Se efectuează reacția de polimerizare în lanț (PCR) cu primeri SSR, care furnizează cantități mai mari de material genetic. Aproximativ 10 ng din matrița ADN se adaugă la mix-ul PCR de 20 μl conținând MgCl₂, 200 μM dNTPs, 0,5 μM primeri (forward și revers), și o unitate de ADN polimerază. Întreaga reacție se desfășoară cu un număr de 45 cicluri în echipament PCR și se verifică calitatea produsului în gel de agaroză 1%, folosind 6 μl din cantitate. Se secvențiază produsul PCR și se stabilește filogenia folosind instrumente bioinformatiche specifice (de ex. Phylogeny.fr).

2. Identificarea liniilor genetice de plante contemporane înrudite din punct de vedere taxonomic și similare din punct de vedere tehnologic cu cele ale plantelor vechi din care s-au obținut fibrele naturale din componența bunurilor de patrimoniu pe suport textil.

Se identifică profilele genetice și se stabilește înrudirea filogenetică a plantelor contemporane cu plantele care au fost folosite pentru obținerea fibrelor istorice care intră în componența bunurilor de patrimoniu pe suport textil. Se realizează o colecție de soiuri și linii genetice (germoplasmă) specifice unei anumite zone geografice cât și regăsite în arii geografice mai îndepărtate, folosindu-se băncile de germoplasmă. Se realizează extracția ADN din materialul vegetal prin mojararea cu un micro-pistil și nisip special într-un tub de 1,5 ml și se aplică protocolul CTAB. Se amplifică ADN prin metoda WGA (whole genome amplification). ADN-ul amplificat se diluează la 10 ng/ μl și se verifică pe 1,0% gel de agaroză. Se stabilește înrudirea filogenetică prin analiza primerilor ISSR și identificarea speciilor cu primeri nucleari rDNA și cloroplastici. Se secvențiază ADN-ul amplificat și se efectuează analiza filogenetică cu instrumente bioinformatiche specifice (de ex. Phylogeny.fr).

3. Cultivarea plantelor contemporane înrudite taxonomic și similare din punct de vedere tehnologic cu cele folosite la obținerea bunurilor de patrimoniu pe suport textil din fibre naturale.

Se cultivă plantele actuale înrudite filogenetic cu plantele care au fost folosite pentru obținerea fibrelor istorice și care prezintă similaritate tehnologică cu fibrele istorice. Cultivarea și creșterea în lot agricol sunt precedate de propagarea *in vitro* a liniilor genetice din germoplasmă colectată fie din bănci de germoplasmă recunoscute sau direct de pe teren din regiunile de cultură specifice pentru plantele folosite la obținerea fibrelor textile naturale din componența bunurilor de patrimoniu. Pentru cultivarea și proliferarea *in vitro* s-a folosește mediul Murashige & Skoog (MS) [Murashige & Skoog 1962] cu 0,5 μM de tiazuron [Lata 2009] și suplimentate cu citokinine, auxine și peptide [Murashige & Skoog 1962].

Pentru creșterea rezistenței rădăcinuțelor mediul MS se suplimentează cu 500 mg/l cărbune activ și 2.5 μM acid indol butiric. Pentru transferul plantelor din cultura *in vitro* în seră și *in situ* se folosește un amestec de 3:1 de turbă și nisip. Pentru aclimatizarea plantelor se folosesc tăvițe de propagare cu 84-108 locuri.

4. Obținerea fibrelor din cultivarea plantelor contemporane înrudite taxonomic și similare din punct de vedere tehnologic cu cele folosite la obținerea bunurilor de patrimoniu pe suport textil și prelucrarea lor prin folosirea uneltelor și tehnicilor tradiționale.

Obținerea și prelucrarea fibrelor se face folosind uneltele și tehnicile tradiționale pentru fiecare etapă

tehnologică: extracția fibrelor, filarea fibrelor și obținerea firului, țeserea firelor în structură plană cu urzeală și bătătură, finisarea țesăturii sau a firelor înainte de țesere.

5. Caracterizarea parametrilor fizico-mecanici ai fibrelor naturale istorice și ai fibrelor naturale din plantele actuale.

Pentru a analiza proprietățile fizico-mecanice ale fibrelor obținute din bunurile textile istorice se utilizează o tehnică micro-invazivă, care necesită eșantioane mici, de exemplu fragmente de fir din tiv. Parametrii fizico-mecanici determinați sunt tenacitatea (cN/tex), rezistența la rupere (N/mm²) alungirea (%) și finețea (tex). Tenacitatea fibrei și alungirea sunt efectuate pe un sistem Dia-Stron într-un test *single-element*. Se analizează 2-4 fragmente de fir de aproximativ 2 cm lungime, care conțin maxim 200 elemente singulare. Pentru efectuarea analizelor, probele se condiționează în climat standard de 20 °C și 65% RH conform cu ISO 139 (2005) pentru cel puțin 16 h. Caracterizarea mecanică este condusă pe elemente singulare conform cu ISO 5079 (1995), utilizând sistemul Dia-Stron System (Dia-Stron Ltd., Andover, UK) cu cleme la distanța de 3.2 mm.

O parte din elementele singulare rămase (fibre) sunt utilizate pentru analiza de finețe prin sistemul de procesare a imaginii Fibreshape: fibrele sunt tăiate în fragmente <5 mm în lungime și preparate în lamele de sticlă (GePe type 6004). Acestea sunt analizate într-un scanner de slide-uri (Minolta) la 4800 dpi, folosind Fibreshape V4.2. Scannerul trebuie să fie calibrat folosind USAF-1951 Test-Target pentru a verifica rezoluția reală.

La final o parte din aceste elemente este examinată prin SEM pentru a identifica efecte de degradare și pentru a evidenția urme caracteristice echipamentelor de procesare utilizate la filare sau țesere. Înaintea observării la microscop fibrele sunt acoperite timp de 2 min. la 50 mA cu praf de aur (Edwards Sputter Coater S150B; Crawley, West Sussex, GB).

6. Metodă de îmbătrânire enzimatică pentru aducerea parametrilor fizico-mecanici ai fibrelor noi la valori corespunzătoare vârstei bunurilor de patrimoniu pe suport textil

Tratamentul enzimatic se realizează în vase Erlenmeyer conținând 10 gr. de fibre și 200 ml din soluția de reacție și până la 1 gr. de enzimă. Valoarea pH-ul se ajustează cu soluție de sodă. Tratamentul enzimatic se desfășoară la 50^o C timp de 20 min. După tratament fibrele se usucă timp de 1 h la 105^o C. Se induc modificări enzimatică ale tenacității fibrelor până la valorile tenacității fibrelor istorice, variind concentrația enzimei folosite.

Prezentarea avantajelor

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- Utilizarea materialelor textile biocompatibile elimină degradarea suplimentară a textilelor istorice prin folosirea unor materiale de restaurare neadecvate;
- Metoda presupune valorificarea unor resurse vegetale genetice locale susținând biodiversitatea resurselor genetice;
- Metoda de îmbătrânire cu ajutorul enzimelor este rapidă și cu rezultate foarte bune în atingerea unui grad de îmbătrânire avansat cu resurse minime și consum energetic redus.
- Metoda de îmbătrânire enzimatică nu necesită adaos de reactivi chimici costisitori și agresivi pentru mediul înconjurător, enzimele folosite fiind compuși organici biodegradabili;
- Metoda valorifică tradițiile locale de prelucrare a fibrelor textile naturale;

Prezentarea exemplului de realizare a invenției

În continuare se dă un exemplu de realizare a invenției.

Se identifică profilele genetice ale unor fibre textile istorice de cânepă. Se realizează extracția ADN din 200 mg material fibros, prin mojararea cu un micro-pistil într-un tub de 1,5 ml până la obținerea unei pulberi

fine. Se folosește un protocol SDS și se eludează ADN în 60 μl soluție tampon. Se efectuează reacția de polimerizare în lanț (PCR) cu 45 de cicluri de polimerizare cu primeri SSR (ANUCS201, ANUCS203, ANUCS501, ANUCS204, ANUCS202 [Gao C. et al., 2014]). Mix-ul PCR (20 μl) conține: matrice AND (10 ng), MgCl₂, 200 μM dNTPs, 0,5 μM primeri (forward și revers) și o unitate de AND polimerază. Produsul PCR amplificat se secvențiază și se stabilește filogenia cu alte specii de cânepă actuale prin instrumente bioinformatică accesibile online (Phylogeny.fr). Se stabilește o colecție de germoplasmă de cânepă colectată de la bănci recunoscute de germoplasmă sau direct de la localnici (ex. tabel 1).

Tabel 1 Germoplasmă din soiuri de cânepă

Regiunea de proveniență	Denumirea varietății	Furnizor	Cod
Slovenia	Varietate sălbatică	IPK Gatersleben	CAN 16
Ungaria, grădina botanică din Budapesta	Varietate sălbatică	IPK Gatersleben	CAN 17
România, grădina botanică din Iasi,	Varietate sălbatică	IPK Gatersleben	CAN 21
China, grădina botanică din Beijing	Varietate sălbatică	IPK Gatersleben	CAN 39
România	Lovrin 110	IPK Gatersleben	CAN 66
Ungaria	Kompolti	IPK Gatersleben	CAN 70
România	Lovrin 200	Furnizor local	
România	Zenit	Furnizor local	
România	Dacia	Furnizor local	
România	Zenit	Furnizor local	

Se realizează extracția ADN din materialul vegetal actual prin mojararea cu un micro-pistol și nisip special într-un tub de 1,5 ml și se aplică protocolul CTAB. Se amplifică ADN prin metoda WGA (whole genome amplification). ADN-ul amplificat se diluează la 10 ng/ μl și se verifică pe 1,0% gel de agaroză. Se stabilește înrudirea filogenetică prin analiza primerilor ISSR și identificarea speciilor cu primeri nucleari rDNA și cloroplastici. Se secvențiază ADN-ul amplificat și se efectuează analiza filogenetică cu instrumente bioinformatică specifice (de ex. Phylogeny.fr). Se selectează din cadrul colecției de germoplasmă soiul înrudit filogenetic cu cel din care s-au obținut fibrele istorice. Pentru cultivarea și proliferarea *in vitro* a accesionilor de cânepă s-a folosit mediul Murashige & Skoog (MS) cu 0,5 μM de tidiazuron și cu compoziția din tabelul nr. 2. Se realizează propagarea *in vitro* în vase de 300 ml ce conține 100 ml mediu.

Table 2: Mediu Murashige and Skoog

Macroelemente	[mg/L]	Microelemente	[mg/L]	Vitamine	[mg/L]
KNO ₃	1900	MnSO ₄ * H ₂ O	17	Thiamine HCl	0,1
NH ₄ NO ₃	1650	H ₃ BO ₃	6,2	Nicotinacid	0,5
MgSO ₄ * 7 H ₂ O	370	ZnSO ₄ * 7 H ₂ O	8,6	myo-Inosit	100
KH ₂ PO ₄	170	Na ₂ MoO ₄ * 2 H ₂ O	0,25	Pyridoxine	0,5
CaCl ₂ * 2 H ₂ O	440	CuSO ₄ * 5 H ₂ O	0,025	Glycin	2
		CoCl ₂ * 6 H ₂ O	0,025	NaFeEDTA	36,7
		KJ	0,83		

Pentru transferul plantelor din cultura *in vitro* în seră și *in situ* se folosește un amestec de 3:1 de turbă și nisip. Pentru aclimatizarea plantelor se folosesc tăvițe de propagare cu 84-108 locuri. Plantele de cânepă se cultivă *in situ*, până la maturitate (3-4 luni). Se realizează prelucrarea în mod tradițional a fibrelor obținute din plantele de cânepă: topirea la rouă, melișatul, pieptănatul, vârtelnița, urzitul, torsul (filarea) și țeserea.

18

Fibrele textile istorice și fibrele plantei de cânepă selectată se analizează privind proprietățile fizico-mecanice. Parametrii fizico-mecanici determinați sunt tenacitatea (cN/tex), rezistența la rupere (N/mm²) alungirea (%) și finețea (tex). Tenacitatea fibrei și alungirea sunt efectuate pe un sistem Dia-Stron într-un test *single-element*. Se analizează 2-4 fragmente de fir de aproximativ 2 cm lungime, care conțin maxim 200 elemente singular. Se analizează finețea prin sistemul de procesare a imaginii Fibreshape: fibrele sunt tăiate în fragmente <5 mm în lungime și preparate în lamele de sticlă (GePe type 6004). Acestea sunt analizate într-un scanner de slide-uri (Minolta) la 4800 dpi, using Fibreshape V4.2.

Fibrele nou obținute din plante de cânepă selectată, înrudită cu planta din care sunt obținute fibrele istorice se îmbătrânește cu ajutorul enzimelor pentru a ajunge la valori corespunzătoare vârstei bunurilor de patrimoniu pe suport textil. Se folosește o celulază (0,5-1,0g în 200 ml) iar tratamentul enzimatic se desfășoară la 50°C timp de 20 min. După tratament fibrele se usucă timp de 1 h la 105°C.

Bibliografie

1. European recommendation for the conservation and restoration of Cultural Heritage / 27.04.2009, Strasbourg,
http://www.coe.int/t/dg4/cultureheritage/heritage/Source/CDPATEP/Plenary_Session/CDPATEP_2009_17_EN.pdf
2. Cocca, M., D'Arienzo, L., D'Orazio, L., Gentile, G., Mancarella, C., Martuscelli, E., Polcaro, C. 2006. Water dispersed polymers for textile conservation: a molecular, thermal, structural, mechanical and optical characterization. *Journal of Cultural Heritage* 7: 236-243.
3. Cybulska, M. 2010. Reconstruction of archaeological textiles. *Fibres & Textiles in Eastern Europe* 18 (3): 100-105.
4. Gao C, Xin P, Cheng C, Tang Q, Chen P, Wang C, Zang C, Zhao L (2014) Diversity Analysis in *Cannabis sativa* Based on Large-Scale Development of Expressed Sequence Tag-Derived Simple Sequence Repeat Markers, DOI: 10.1371/journal.pone.0110638
5. Lata H, Chandra S, Khan I, ElSohly MA (2009) Thidiazuron-induced high-frequency direct shoot organogenesis of *Cannabis sativa* L. *In Vitro Cellular & Dev Biol – Plant* February 45(1):12-19.
6. Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15:473-497; DOI:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
7. Princi, E., Vicini, S., Proietti, N., Capitani, D. 2005. Grafting polymerization on cellulose based textiles: A ¹³C solid state NMR characterization. *European Polymer Journal* 41: 1196-1203.
8. ISO 139:2005 Textiles - Standard atmospheres for conditioning and testing
9. ISO 5079:1995 Textile fibres -- Determination of breaking force and elongation at break of individual fibres

Revendicări

1. *Metodă de obținere a materialelor textile biocompatibile din plantele înrudite filogenetic cu plantele vechi și cu valori similare ale parametrilor fizico-mecanici caracterizată prin aceea că urmează succesiunea de etape descrise în cererea de brevet și prezentate schematic în Figura 1/Desen, și anume: Identificarea profilelor genetice ale plantelor vechi folosite la obținerea fibrelor naturale din componența bunurilor de patrimoniu pe suport textil, Identificarea liniilor genetice de plante contemporane înrudite din punct de vedere taxonomic și similare din punct de vedere tehnologic cu cele ale plantelor vechi din care s-au obținut fibrele naturale din componența bunurilor de patrimoniu pe suport textil, Cultivarea plantelor contemporane înrudite taxonomic și similare din punct de vedere tehnologic cu cele folosite la obținerea bunurilor de patrimoniu pe suport textil din fibre naturale, Obținerea fibrelor din cultivarea plantelor contemporane înrudite taxonomic și similare din punct de vedere tehnologic cu cele folosite la obținerea bunurilor de patrimoniu pe suport textil și prelucrarea lor prin folosirea uneltelor și tehnicilor tradiționale, Caracterizarea parametrilor fizico-mecanici ai fibrelor naturale istorice și ai fibrelor naturale din plantele actuale și aplicarea metodei de îmbătrânire enzimatică pentru aducerea parametrilor fizico-mecanici ai fibrelor noi la valori corespunzătoare vârstei bunurilor de patrimoniu pe suport textil.*

2. *Metodă de îmbătrânire accelerată prin utilizarea enzimelor pentru obținerea valorilor parametrilor fizico-mecanici specifici vârstei bunurilor de patrimoniu caracterizată prin aceea că fibrele nou obținute din plante de cânepă selectată, înrudită cu planta din care sunt obținute fibrele istorice, se îmbătrânesc cu ajutorul enzimelor pentru a ajunge la valori corespunzătoare vârstei bunurilor de patrimoniu pe suport textil folosind o celulază (0,5-1,0g în 200 ml), iar tratamentul enzimatic se desfășoară la 50°C timp de 20 min. După tratamentul enzimatic fibrele se usucă timp de 1 h la 105°C.*

Desen: Etapele metodei propuse invenției

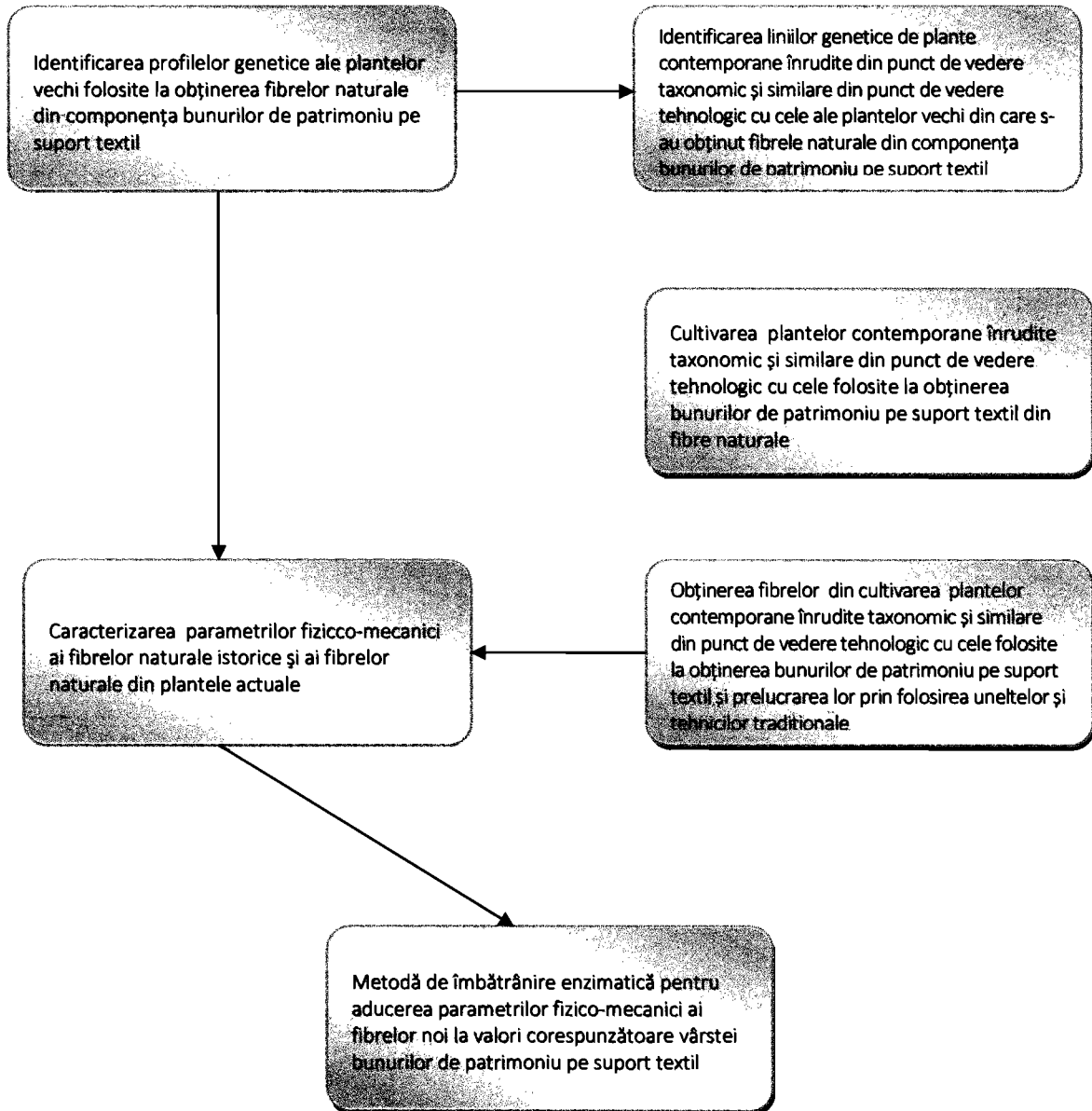


Figura 1