



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENTIE

(21) Nr. cerere: **a 2018 00971**

(22) Data de depozit: **27/11/2018**

(41) Data publicării cererii:
29/05/2020 BOPI nr. **5/2020**

(71) Solicitant:

• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
INGINERIE ELECTRICĂ ICPE-CA,
SPLAIUL UNIRII NR.313, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

• LUNGULESCU EDUARD- MARIUS,
STR.PRELUNGIREA GHENCEA NR.285A,
AP.3, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• SETNESCU RADU, STR.GÂRLENI NR.1,
BL.C 78, SC.1, AP.9, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;

• LUPU ANA-MARIA,
STR.VALEA CĂLUGĂREASCĂ NR.3, BL.D4,
SC.F, AP.59, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;
• NICULA NICOLETA OANA,
STR.NICOLAE BĂLCESCU, NR.26, BL.50,
SC.A, AP.2, MIZIL, PH, RO;
• MATEESCU CARMEN,
CALEA 13 SEPTEMBRIE NR.102, BL.48 A,
SC.1, ET.7, AP.26, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO;
• DUCU ROBERT, ALEEA TERASEI NR.3,
BL.E3, SC.2, AP.35, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;
• ION IOANA, STR.LILIACULUI NR.7B,
SAT PRUNI, MĂGURELE, IF, RO

(54) **NANOPARTICULE DE ARGINT CU DISPERSIE DIMENSIONALĂ ÎNGUSTĂ ȘI PROCEDEU DE OBȚINERE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor nanoparticule de argint cu dispersie dimensională îngustă, cu activitate antimicrobiană ridicată. Procedeul, conform inventiei, constă în aceea că o soluție apoiată de ioni de argint se introduce într-o soluție apoiată de polimer și un compus de forma R(OH)_x, în care R este achil sau izo-alchil, fenil substituit, iar x este 1,2, sub agitare magnetică la 50°C timp de 1 h, se regleză pH la 8...9, se dezaerează timp de 30 min, urmată de

expunerea la iradiere la doze de până la 100 kGy, rezultând nanoparticule de Ag cu maxime de absorbție cuprinse între 390 și 482 nm, cu stabilitate ridicată în timp, dispersie dimensională îngustă și activitate antifungică și antibacteriană ridicată.

Revendicări: 2

Figuri: 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 inventie a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de inventie este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



NANOPARTICULE DE ARGINT CU DISPERSIE DIMENSIONALĂ ÎNGUSTĂ ȘI PROCEDEU DE OBȚINERE

Invenția se referă la nanoparticule de Ag cu proprietăți controlabile (dimensiune, dispersie dimensională îngustă și stabilitate ridicată) cu activitate antimicrobiană, precum și la procedeul de obținere a acestora.

Astfel de materiale sunt utilizate în diferite aplicații, cum ar fi optoelectrică, senzori, tehnologii de energii regenerabile și catalizatori, imagistică medicală, agenți biocizi sau antimicrobieni, etc.

Un aspect important în stabilirea proprietăților acestor nanomateriale îl reprezintă controlul dimensiunii particulelor, distribuția particulelor și forma acestora. În consecință, există un interes crescut în dezvoltarea de metode care să permită o sinteză controlată a nanoparticulelor.

Metalele tranziționale la nivel nano prezintă proprietăți fizice și chimice unice care le deosebesc de omologii lor tradiționali microstructurați și fac posibile aplicații de tipul celor mai sus menționate [1-5].

Nanoparticulele metalice (Np) sunt caracterizate prin compoziție chimică, formă, dimensiune și monodispersie diferite. Pentru a modifica aceste caracteristici, sunt cunoscute trei tipuri de metode de sinteză: chimice, fizice și biologice [6].

Nanoparticulele metalice pot fi obținute în fază gazoasă, solidă și lichidă [7]. În fază lichidă, nanoparticulele sunt sintetizate chimic în soluții coloidale ce conțin precursori, agent de reducere, agent de acoperire și solvent [8].

Coloizii sunt suspensii ale unei faze, solidă sau lichidă, într-o a doua fază lichidă. Majoritatea metodelor de obținere a coloizilor metalici sunt bazate pe reducerea unui precursor - ion metalic, în soluție în prezența unui agent de stabilizare. Dintre acestea, cele mai utilizate tehnici sunt: termoliza [9], reducerea chimică [10], sinteză electrochimică [11], microemulsii [12], ablație laser [13], microunde [14], sinteza biologică: bacterii, fungi, plante [15], s.a. Toate aceste metode de sinteză prezintă dezavantajul că implică utilizarea de agenți de reducere toxică și/sau cu risc biologic ridicat pentru mediul înconjurător, iar pentru protejarea acestuia este necesară dezvoltarea de metode curate, prietenoase mediului de sinteză. Alt dezavantaj al sintezelor clasice este dat de dificultatea de a obține nanoparticule metalice cu proprietăți controlabile, reproductibile (dimensiune, dispersie îngustă și stabilitate ridicată), precum și obținerea unor cantități mici de nanoparticule, ceea ce conduce la costuri ridicate ale procesului de sinteză [16].

Sunt cunoscute, de asemenea, căi de sinteză în care se utilizează energia unor radiații electromagnetice din diferite domenii spectrale, cum ar fi radiația laser sau microundele, însă aceste căi fizice de sinteză prezintă dezvantaje cum sunt consumul mare de materii prime, pierderile mari, precum și temperaturile ridicate care le fac neattractive pentru multe aplicații [17].

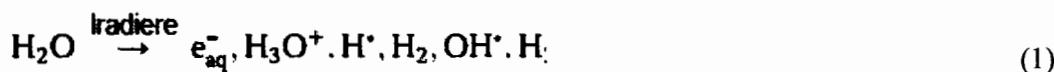
A fost propusă și o cale radiochimică de sinteză care implică utilizarea energiei radiațiilor ionizante. Astfel, Eghbalifam și colab. [18] au obținut nanoparticule de Ag prin iradierea unei soluții de AgNO_3 (diverse concentrații) la doze de iradiere cuprinse între 5-15 kGy, folosind ca agent de stabilizare PVA/alginat de sodiu. Acest procedeu prezintă însă dezavantajul că conduce la particule de dimensiuni mari cu un grad ridicat de polidispersie și stabilitate în timp scăzută.

Dezvantaje similare prezintă și procedeul propus în lucrarea [19], în care au fost obținute nanoparticule de Ag pornind de la precursor de AgNO_3 și iradiere în prezența gelatinei.

Principiul metodei de sinteză propus se bazează pe radioliza soluțiilor apoase, radiațiile ionizante transferând către materialul iradiat o cantitate foarte mare de energie, cu

câteva ordine de mărime mai mare decât energia medie necesară ruperii oricărei legături chimice, transferul fiind astfel neselectiv [20].

Interacția energiei radiației ionizante cu soluția apoasă a ionilor de Ag induce ionizarea și excitarea solventului și conduce la formarea de specii radiolitice, în special electronul hidratat și atomi de H[•].



Aceste specii sunt agenți de reducere puternici cu potențialele redox E₀ (H₂O/e_{aq}⁻) = -2,87 V_{NHE} și E₀ (H⁺/H[•]) = -2,3 V_{NHE} [21] și pot reduce ionii de Ag din soluție la particule de Ag zero-valente.

Radicalii hidroxil (OH[•]), induși la radioliza apei, cu un potențial redox E₀ (OH[•]/H₂O) = +2,8 V_{NHE} [21] pot oxida ionii sau atomii la stări de oxidare ridicate. Pentru a evita acest lucru este necesară introducerea în soluțiile de precursori a unor captori de radicali OH[•], precum alcooli primari sau secundari.

Scopul invenției este de a înlătura dezavantajele mai sus menționate, anume de a se obține nanoparticule de argint cu dimensiuni mici, distribuție dimensională îngustă și stabilitate ridicată în timp și cu activitate antimicrobiană semnificativă. Un alt obiectiv al prezentei invenții este de a înlătura dezavantajele mai sus menționate ale metodelor fizice și chimice, printr-un procedeu care să asigure un consum rezonabil de materii prime, pierderi scăzute, randament și selectivitate înaltă (nivel redus al deșeurilor și materiilor prime netransformate), în condițiile utilizării unor reactivi netoxici sau dăunători pentru mediu.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este de a obține nanoparticule de argint cu dimensiuni mici, cu distribuție dimensională îngustă, stabilitate ridicată în soluție și activitate biocidă înaltă, în condițiile unui consum eficient al materiilor prime, și a randamentului și selectivității înalte în transformarea precursorului ionic, folosind energia radiațiilor ionizante (γ) pentru transformarea precursorului ionic aflat în soluție apoasă.

Nanoparticulele de argint sunt obținute conform invenției prin iradierea cu radiații γ a unei soluții apoase a unui precursor (sare solubilă de argint), care conține un cuplu de agenți de acoperire și stabilizare a nanoparticulelor constituit dintr-un polimer solubil (cum ar fi PVA, PVP) și un compus de forma R-OH_x (unde R = alchil sau iso-alchil, fenil substituit, iar x = 1, 2) solubil sau parțial solubil în apă, cel din urmă jucând rolul de captor de radicali liberi prevenind oxidarea nanoparticulelor formate la ioni Ag⁺.

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- metoda propusă de obținere a nanoparticulelor de Ag este simplă și rapidă și poate fi realizată la presiunea și temperatura ambientă;

- sinteza nanoparticulelor are loc în soluție apoasă, ceea ce permite controlul precis al parametrilor în orice punct al reactorului (concentrație, temperatură, doză), asigurând reproductibilitatea procesului;

- sinteza nu necesită utilizarea de agenți chimici de reducere toxici sau cu risc biologic ridicat, principalul agent reducător în absența oxigenului fiind electronul hidratat care prezintă un potențial de reducere foarte mare;

- Np Ag obținute prezintă o dispersie uniformă și stabilitate în timp ridicată (de ordinul anilor);

- procedeul de sinteză propus permite obținerea la un preț scăzut a unor cantități mari de Np Ag cu dimensiune și structură controlabilă, putând fi aplicat la scară industrială;

- dimensiunea medie a nanoparticulelor și distribuția dimensională depind în mod critic de un număr redus de parametri care pot fi controlați cu ușurință, anume doza de iradiere și concentrațiile agentului de stabilizare și a ionilor de Ag și raportul acestor concentrații.

Se dau mai jos 4 exemple de realizare a invenției, în legătură și cu figurile 1-7, care reprezintă:

Fig. 1 - Schema tehnologică a procesului de obținere a nanoparticulelor de argint

Fig. 2 - Spectrele UV-Vis ale sistemelor Ag/PVP/BHT, Ag/PVP și Ag/BHT

Fig. 3 - Spectrele UV-Vis înregistrate pe sistemul coloidal Ag/PVP/Aip în funcție de doza de iradiere;

Fig. 4 – Activitatea antimicrobiană a sistemului coloidal Ag/PVP/Aip în funcție de doza de iradiere;

Fig. 5 - Spectrele UV-Vis înregistrate pe sistemul coloidal Ag/PVA/Aip în funcție de doza de iradiere;

Fig. 6 - Activitatea antimicrobiană a sistemului coloidal Ag/PVA/Aip în funcție de doza de iradiere;

Fig. 7 – Stabilitatea în timp a sistemului coloidal Ag/PVA/Aip

Exemplul 1

În scopul sintezei radiochimice conform invenției, se folosește următoarea succesiune de operații (Fig. 1):

- prepararea soluției apoase a precursorului (soluția A), care implică dozarea precursorului; dizolvarea se execută cu agitator magnetic la temperatură ambientă;

- prepararea soluției apoase a cuplului de agenți de acoperire și stabilizare (polimer solubil + compus R(OH)_x (soluția B), care implică dozarea componentelor în corelație cu cantitatea de precursor; dizolvarea polimerului solubil se efectuează la 70 °C cu agitator magnetic; dizolvarea compusului R(OH)_x se face la temperatură ambientă, după răcirea soluției de polimer, cu agitator magnetic; pentru substanțele R(OH)_x care au solubilitate mică în apă, se prepară inițial o soluție alcoolică (în etanol) din care se preia o cantitate corespunzătoare realizării amestecului cu polimerul;

- prepararea amestecului de reacție (amestecarea soluțiilor A și B) care implică dozarea celor două soluții în raportul prestabilit și controlul și corecția pH (8-9) și dezaerarea sistemului (eliminarea oxigenului prin barbotare de N₂ sau Ar timp de 30 minute); amestecarea se realizează la 50 °C cu agitator magnetic, timp de 1 oră;

- expunerea la iradiere (Doza debit: 1,1 kGy/h) a amestecului de reacție într-un recipient de sticlă închis ermetic, învelit în folie de aluminiu; implică stabilirea și controlul dozei de iradiere (calibrarea dozei de expunere se poate face periodic cu un dozimetru de tip Fricke, RTL, ECB, alanină și.a.m.d);

- caracterizarea dimensională și a activității biocide a produsului obținut. Se realizează prin măsurători specifice, cunoscute, cum sunt spectroscopie UV-vis, SEM, DLS, precum și prin teste de activitate antimicrobiană.

Exemplul 2

Folosind procedura descrisă la exemplu 1, se prepară:

- 100 ml soluția (A) cu concentrația de $5 \cdot 10^{-3}$ mol/l AgNO₃ în apă deionizată;

- 1000 ml soluție (B) cu concentrația de 4 % polivinilpirolidona (PVP) și 0,5 % 2,6-diterțbutil-4-metil-fenol (BHT); inițial, BHT a fost dizolvat în 4 mL de etanol;

- s-a obținut amestecul de reacție, folosind 10 mL soluție A și 14 ml soluție B, restul soluțiilor preparate fiind stocate la întuneric și temperatură scăzută (5 °C); pH-ul s-a reglat la 8,5 prin adăugare de soluție de NaOH (1 %); dezaerarea s-a făcut cu Ar timp de 30 minute la un debit de 50 ml/minut;

- expunerea la iradiere s-a făcut la o doză totală de 30 kGy.

După iradiere, s-a obținut un sistem coloidal, stabil de culoare galben-verzuie. Proprietățile acestui material sunt ilustrate în Fig. 1 cu ajutorul spectrului UV-vis din care rezultă că maximul SPR (surface plasmon resonance) este situat la 400 nm, ceea ce corespunde unei dimensiuni medii de cca. 20 nm, confirmată și prin măsurările DLS (dynamic light scattering). Din semilățimea picului SPR, rezultă că dispersia dimensională este îngustă (FWHM = 54,6 nm).

Activitatea antimicrobiana a acestui material a fost testată prin expunerea la *Staphylococcus sp.* și *Pseudomonas aeruginosa*, prezentând o zonă de inhibiție cuprinsă între 22-28 mm.

Pentru a ilustra rolul cuplului de stabilizatori, s-au realizat și caracterizat sisteme similare, în care a fost prezent doar unul dintre agenți. Rezultatele obținute, arătate în tabelul 1 ilustrează edificator rolul cuplului de agenți propus conform invenției.

Tabelul 1 - Caracteristicile nanoparticulelor de argint obținute conform exemplelor 1 și 2

Sistemul	Maximul SPR (nm)	FWHM (nm)	Diametru mediu din DLS (nm)
Ag/PVP/BHT	400	54.6	20
Ag/BHT	442	154	80
Ag/PVP	482	210	98

Se observă că valorile maximului SPR și ale semilățimii FWHM, precum și caracteristicile dimensionale determinate prin DLS sunt considerabil mai mici pentru sistemul Ag/PVP/BHT conform invenției.

Exemplul 3

Folosind procedura descrisă la exemplu 1 și 2 se prepară:

- 100 ml soluția (A) cu concentrația de $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l AgNO₃ în apă deionizată;

- 1000 ml soluție (B) cu concentrația de 4 % polivinilpirolidona (PVP) și alcool izopropilic în raport volumic de 1/5;

- s-a obținut amestecul de reacție, folosind 5 mL soluție A și 25 ml sol B, restul soluțiilor preparate fiind stocate la întuneric și temperatură scăzută (5 °C); pH-ul s-a reglat la 8,5 prin adăugare de soluție de NaOH (1 %); dezaerarea s-a făcut cu Ar timp de 30 minute la un debit de 50 ml/minut;

- expunerea la iradiere s-a făcut la diferite doze de iradiere: 5, 30, 60, 100 kGy.

În urma iradierii sau obținut soluții de culoare galben-brun, iar caracteristicile nanoparticulelor de argint sunt prezentate în tabelul 2. Activitatea antimicrobiana a nanoparticulelor de argint a fost testată prin expunerea la o specie de *Staphylococcus Sp.*, obținându-se zone de inhibiție cuprinse între 18 și 31 mm (Fig. 5). Diametrul zonei de inhibiție rezultat este comparabil ca activitate antimicrobiană [22] cu cel al antibioticelor de tip β-lactamice, precum penicilina (≥ 29 mm pentru 10 UI), oxacilinelor (≥ 22 mm pentru 35 µg); antibioticice de tip aminoglicozidice precum gentamicina (≥ 15 mm pentru 10 µg), kanamicina

(≥ 18 mm pentru $30\mu\text{g}$), tobramicina (≥ 15 mm pentru $10\mu\text{g}$); antibiotice de tip macrolide precum azitromicina (≥ 18 mm pentru $15\mu\text{g}$), eritromicina (≥ 23 mm pentru $15\mu\text{g}$).

Tabelul 2 - Caracteristicile nanoparticulelor de argint obținute conform exemplelor 1 și 3

Doza de iradiere (kGy)	Maximul SPR (nm)	FWHM (nm)	Diametru mediu din DLS (nm)
5	406	67,3	42
30	398	86,5	4,7
60	399	88,1	2,3
100	397	90,0	3,5

Exemplul 4

Folosind procedura descrisă la exemplu 1 și 3 se prepară:

- 100 ml soluția (A) cu concentrația de $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l AgNO_3 în apă deionizată;
- 1000 ml soluție (B) cu concentrația de 6 % alcool polivinilic (PVA) și alcool izopropilic în raport volumic de 1/5;
- s-a obținut amestecul de reacție, folosind 5 mL soluție A și 25 ml sol B, restul soluțiilor preparate fiind stocate la întuneric și temperatură scăzută (5°C); pH-ul s-a reglat la 8,5 prin adăugare de soluție de NaOH (1 %); dezăerarea s-a făcut cu Ar timp de 30 minute la un debit de 50 ml/minut;
- expunerea la iradiere s-a făcut la diferite doze de iradiere: 5, 30, 60, 100 kGy.

În urma iradierii sau obținut soluții de culoare galben-brun, iar caracteristicile nanoparticulelor de argint sunt prezentate în tabelul 3. Activitatea antimicrobiană a nanoparticulelor de argint a fost testată prin expunerea la o specie de *Staphylococcus Sp.*, obținându-se zone de inhibiție cuprinse între 20-26 mm (Fig. 6). Aceste nanoparticule au prezentat și activitate antifungică (la un amestec de fungi pe bază de *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Aureobasidium pullulans*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium ochrochloron*, *Paecilomyces variotii*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Trichoderma viride*, *Chaetomium globosum*).

Soluțiile prezintă stabilitate mare în soluție apoasă la un an de la obținere (Fig. 7), similar sistemului din exemplul 3.

Tabelul 3 - Caracteristicile nanoparticulelor de argint obținute conform exemplelor 1 și 4

Doza de iradiere (kGy)	Maximul SPR (nm)	FWHM (nm)	Diametru mediu din DLS (nm)
5	410	112,3	30
30	407	110,2	25
60	408	112,4	23
100	405	96,8	20

REVENDICARE

1. Nanoparticule de Ag cu dispersie dimensională îngustă, caracterizate prin aceea că, sunt obținute prin expunerea la iradiere a unor sisteme formate din sare-precursor de ioni de Ag și un cuplu de agenți de acoperire și stabilizare pe bază de polimer solubil în apă (PVA, PVP) și un compus de forma R(OH)_x (unde R = alchil sau iso-alchil, fenil substituit, iar x = 1, 2) solubil sau parțial solubil în apă, cel din urmă jucând rolul de captor de radicali liberi prevenind oxidarea nanoparticulelor formate la ioni Ag⁺, cu maxime de absorbție cuprinse între 390-482 nm, cu dimensiuni medii cuprinse între 2-90 nm, cu stabilitate ridicată în timp, cu dispersie îngustă și cu activitate antifungică (la un amestec de fungi pe bază de *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Aureobasidium pullulans*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium ochrochloron*, *Paecilomyces variotii*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Trichoderma viride*, *Chaetomium globosum*) și antibacteriană ridicată (*Staphylococcus Sp.*).

2. Procedeul de obținere prin sinteză radiochimică a nanoparticulelor de Ag, conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că, se utilizează sisteme formate din sare-precursor de ioni de Ag și un cuplu de agenți de acoperire și stabilizare pe bază de polimer solubil în apă (PVA, PVP) și un compus de forma R(OH)_x (unde R = alchil sau iso-alchil, fenil substituit, iar x = 1, 2) solubil sau parțial solubil în apă, cel din urmă jucând rolul de captor de radicali liberi prevenind oxidarea nanoparticulelor formate la ioni Ag⁺ și constă în obținerea unei soluții apoase de ioni de Ag (sare-precursor AgNO₃, concentrații cuprinse între 0,5x10⁻³ și 25x10⁻³ mol/L) prin agitare magnetică la temperatura ambientă, introducerea acesteia într-o soluție apoasă formată dintr-un polimer solubil în apă (PVP 4%, respectiv PVA 6%) obținută prin amestecare la 70°C cu agitator magnetic și un compus de forma R(OH)_x (unde R = alchil sau iso-alchil, fenil substituit, iar x = 1, 2) solubil sau parțial solubil în apă, în diferite concentrații, omogenizarea soluției rezultate cu agitator magnetic la 50°C, timp de 1 oră, reglarea pH la 8-9 prin adăugare de soluție de NaOH, dezaerarea soluției cu N₂ sau Ar pentru eliminarea O₂, timp de 30 de minute, urmată de iradierea la o doză debit de 1,1 kGy/h, la doze integrale cuprinse între 0-100 kGy.

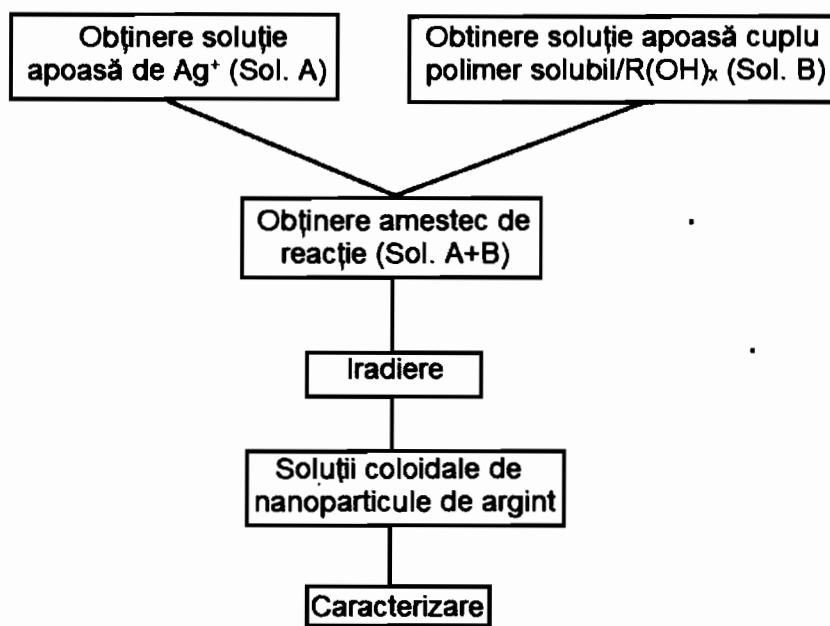


Figura 1

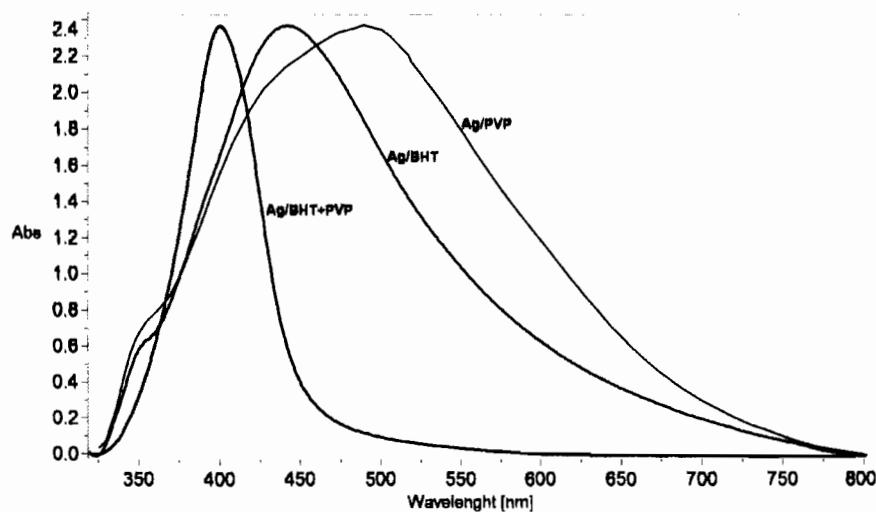


Figura 2

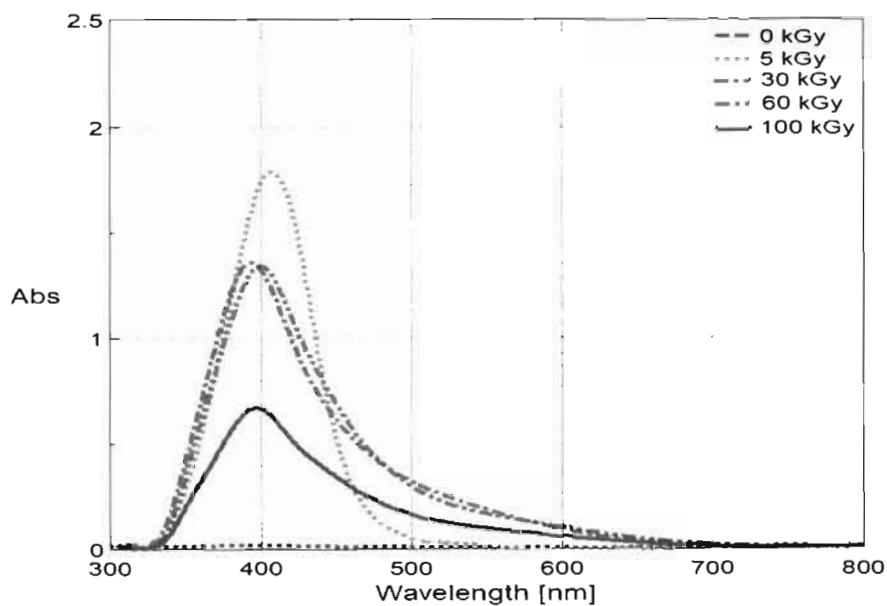


Figura 3

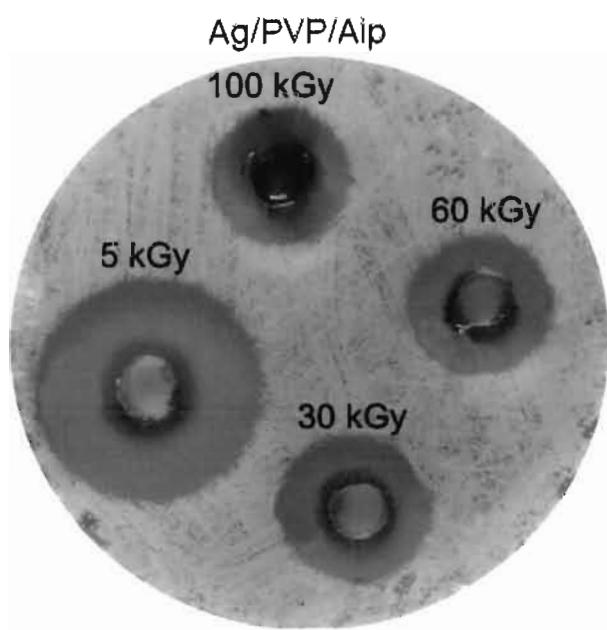


Figura 4

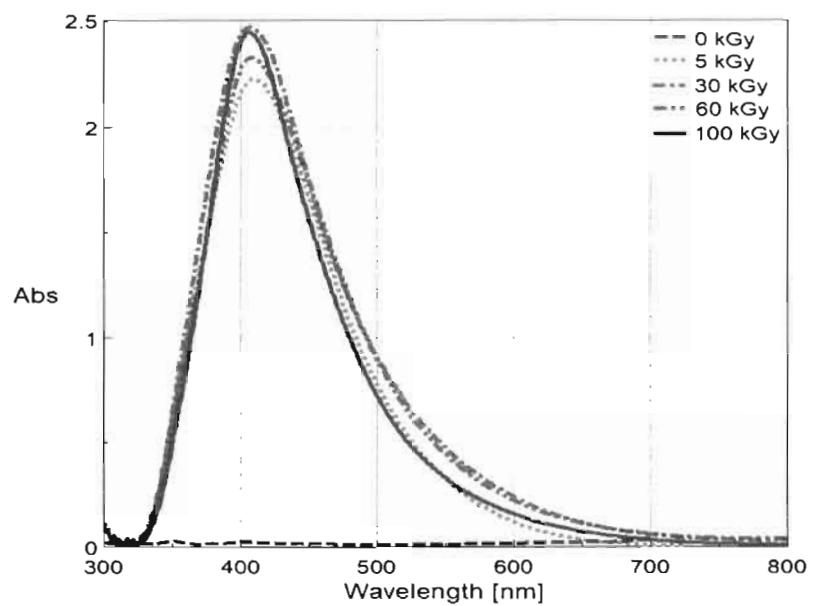


Figura 5

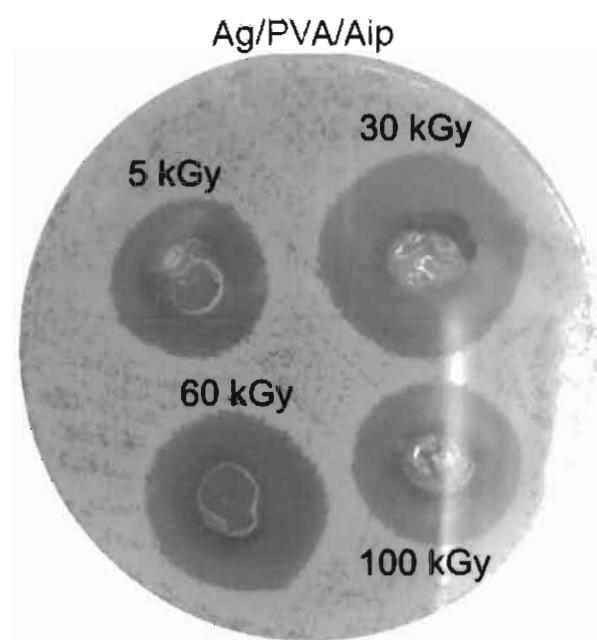


Figura 6

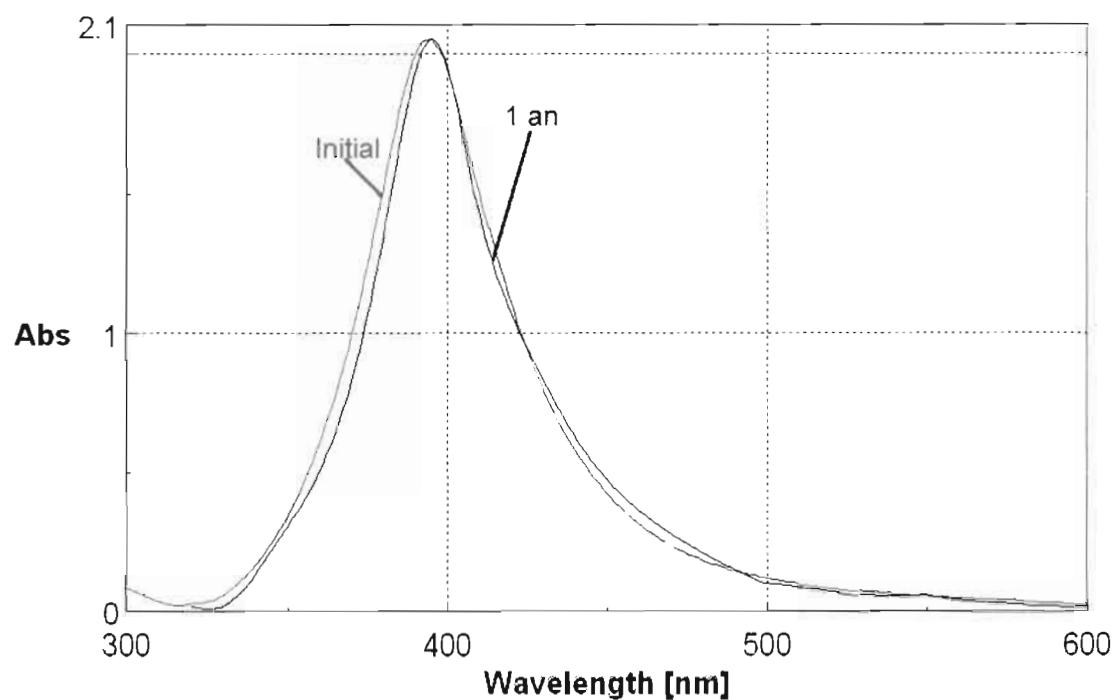


Figura 7