



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2019 00054

(22) Data de depozit: 31/01/2019

(41) Data publicării cererii:
30/07/2020 BOPI nr. 7/2020

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM,
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• ION RODICA MARIANA, STR. VOILA
NR. 3, BL. 59, SC.3, ET.1, AP. 36,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;

• ION NELU, STR. VOILA NR. 3, BL. 59,
SC.3, ET.1, AP.36, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;
• IANCU LORENA,
BD. ALEXANDRU OBREGIA NR.17, BL.M 5,
SC.A, ET.6, AP. 54, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;
• RADU NICOLETA, STR.ZARZĂRILOR
NR.24B, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO

(54) COMPOZIȚIE ANTIFUNGICĂ
PENTRU RESTAURAREA/CONSERVAREA ARTEFACTELOR
DE LEMN, ȘI PROCEDU DE FOLOSIRE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă de restaurare/conservare a pieselor de patrimoniu din lemn, cu păstrarea cromaticii și îmbunătățirea proprietăților mecanice ale lemnului. Metoda conform invenției constă în aplicarea simultană, pe suprafața lemnoasă curățată în prealabil, a două soluții, o soluție A de hidroxiapatită în suspensie în 0,001M tampon fosfat, cu pH de 6, 8, și o soluție B de azotat de argint 10^{+3} M în apă bidistilată, astfel că

după 30...45 min de la aplicare materialul lemnos generează *in situ* pe suprafața tratată hidroxiapatita de argint, care conferă protecție antifungică împotriva tipurilor *Penicillium chrysogenum* și *Aspergillus niger*.

Revendicări: 3
Figuri: 4



COMPOZITIE ANTIFUNGICA UTILIZATA PENTRU RESTAURAREA/CONSERVAREA ARTEFACTELOR DE LEMN SI PROCEDEU DE FOLOSIRE

Invenția se referă la o compozitie antifungica generata *in-situ* la suprafața lemnului, in special al celui de alun, realizata din hidroxiapatita si azotat de argint in prezenta celulozei din masa lemnoasa, ce pastreaza caracteristicile cromatice si imbunatateste proprietatile mecanice ale materialelor din lemn, folosita in restaurea / conservarea pieselor de patrimoniu din lemn.

Lemnul de alun este folosit la confectionarea diferitelor obiecte de cult și decor, mobilier și chiar și pentru diferite bijuterii, de aceea este importanta stoparea procesului de degradare. De obicei, lemnul tânăr este caracterizat prin creșteri progresive ale dimensiunilor și modificări ale caracteristicilor celulare și ale modelului de aranjare a celulelor. De asemenea, celulele tinere din lemn sunt mai scurte decât cele din lemn învechit și aceasta este asociata cu o rezistență redusă la tracțiune. Lemnul îmbătrânit pare mai rigid și mai puternic decât lemnul tânăr, deoarece se caracterizează printr-o dimensiune relativ constantă a celulelor, modele structurale bine dezvoltate și un comportament fizic stabil. Acesta este motivul pentru restauratorii si conservatorii au nevoie de o soluție optimă pentru conservarea lemnului imbatranit păstrând piesele istorice în cea mai bună formă posibilă si culoarea initiala.

Piesele din lemn reprezintă o categorie distinctă de patrimoniu cultural cu valoare universală, care combină o serie de expresii artistice, tehnice și materiale ale civilizației umane. Din punct de vedere structural, lemnul este un compozit cu structură multistrat, care reunește materiale cu compoziție și comportament diferite, reacționând într-un mod specific în condiții de mediu variabile.

Una dintre problemele majore care afectează starea de conservare a artefactelor sau a lucrărilor de artă (picturi, icoane) este pierderea rezistenței structurale a lemnului, datorită atacurilor xilofage sau a proceselor de deshidratare, acestea generand în timp defecte multiple care pot afecta unul sau mai multe straturi compoziționale, compatibilitatea acestora și aderența reciprocă, precum și integritate structurală. Lemnul este susceptibil de a fi atacat în principal de două tipuri de agenți biologici (insecte și ciuperci) dar în situații particulare poate fi atacat și de organisme maritime. Atacul ciupercilor este condiționat de prezența umidității, pe când toate tipurile de lemn pot fi atacate de insecte. Există o gamă mare de ciuperci capabile să atace lemnul, atunci când există condiții favorabile legate în principal de prezența apei și a oxigenului.

Dezvoltarea ciupercilor se produce atunci când umiditatea lemnului depășește 20% și uneori în cazul absenței luminii, slabei ventilații și a mediului alcalin. Biodeteriorarea materialelor organice și anorganice, reprezintă un complex de procese de alterare induse de activitatea de creștere metabolică a organismelor. Biodeteriorarea poate fi recunoscută pe monumente, pe pereți, pe piatră, lemn, hârtie, fibre vegetale / animale și lucrări de pergament. Așa cum este definită de Hueck (1968), biodeteriorarea este "orice schimbare nedorită a proprietăților unui material cauzată de activitățile vitale ale organismelor"; această definiție este acceptată ca semnificație a fenomenului. Microorganisme precum bacteriile autotrofe sau heterotrofe, microfungi, cianobacteriile, algele și lichenii reprezintă declanșatorii biodeteriorării patrimoniului cultural. Pentru stoparea dezvoltării acestor microorganisme, sunt cunoscute mai multe soluții (de tip pesticide organice, cu efecte devastatoare asupra solului și omului), și mai nou nanoparticule anorganice (mercur, argint, cupru, zinc și altele asemenea), definite ca particule cu dimensiuni mai mici de 100 nm, cu efect antibacterian. Dintre acestea, mercurul și cuprul sunt cunoscute a fi substanțe nocive pentru corpul uman. Deoarece este cunoscut că zincul nu are proprietăți antimicrobiene semnificative în comparație cu argintul, argintul este utilizat pe scară largă ca agent antimicrobian anorganic datorită proprietăților sale antibacteriene. Relativ ușor de sintetizat și caracterizat, nanoparticulele de argint (AgNP) au activitate antifungică bună, stabilitate chimică bună atunci când sunt acoperite cu stabilizator organic adecvat, și o biocompatibilitate cu plantele și omul. Pentru a îmbunătăți proprietățile nanoparticulelor de argint, s-au încercat și variante de derivați metalici ai hidroxiapatitei, prin înlocuirea sau adăugarea de ioni metalici în structura hidroxiapatitei.

Prezenta invenție se referă la hidroxiapatită de argint ca și compoziție antifungică generată *in-situ* la suprafața lemnului de alun din hidroxiapatită și azotat de argint în prezenta celulozei din masa lemnoasă, ce păstrează caracteristicile cromatice și îmbunătățește proprietățile mecanice ale materialelor din lemn.

Se cunosc mai multe cazuri de utilizare a nanoparticulelor cu proprietăți antifungice, după cum urmează: în brevetul coreean KR100699295 (B1), Photocatalyst apatite-containing film, method of forming the same, coating fluid, and electronic apparatus having member covered with photocatalyst apatite-containing film, se prezintă hidroxiapatită ca participant la procese de schimb ionic cu diferiți cationi cu caracteristici de adsorbție ridicate. De asemenea se dezvăluie o metodă pentru producerea unor filme de apatite cu titan active fotocatalitic și cu proprietățile mecanice îmbunătățite. Brevetul coreean KR100864611 B1, Process for preparing anti-bacterial nano-particles of hydroxyapatite and silver, propune o metodă pentru fabricarea

hidroxiapatitelor de argint în nanometri, care au îmbunătățit proprietățile antimicrobiene prin creșterea cantității de adsorbție de argint. Aici, azotatul de argint sau percloratul de argint se adaugă la o soluție preparată din soluție de hidroxid de calciu pentru a prepara un amestec la care se adaugă la amestec o soluție de acid fosforic, la o temperatură de 20 până la 60 °C și la o presiune de aproximativ 500 bar urmat de spălare și sinterizare la 300 până la 600 °C pentru a produce hidroxiapatitul de argint. Acest procedeu conduce la un complex de hidroxiapatita de argint, cu un conținut de argint de 1... 5%, dar costul procesului de fabricație devine excesiv de ridicat, este nevoie de mult timp și energie pentru sinteza, și, de asemenea, necesită utilizarea de echipamente de reacție costisitoare, complex de apatit de hidroxid de argint.

Brevetul coreean KR100275628 (B1), Manufacturing method of high-purity crystalline hydroxyapatite, se prezintă producerea de microparticule prin minimizarea agregării particulelor prin utilizarea săpunului metalic atunci când se sintetizează hidroxiapatită. Aceasta este o metodă foarte bună de preparare a particulelor fine. Cu toate acestea, este dificil să se producă particule mici atunci când se utilizează alte metode de presare pentru a obține nanoparticule omogene. Invenție arată că particulele având o dimensiune de câteva zeci de microni au fost obținute prin uscare prin pulverizare sau sinterizare la 800 °C. De asemenea, acoperirea cu săpun metalic utilizată în această metodă are un factor care împiedică activitatea antimicrobiană proprietățile apatitului de hidroxid de argint ulterior sintetizat.

Brevetul de invenție CN106756925, Silver-containing hydroxyapatite coating on surface of magnesium alloy or magnesium and preparation method thereof, se referă la tehnologia de modificare a aliajului de magneziu sau a suprafeței de magneziu și, în mod special, la o acoperire de hidroxiapatită care conține argint, pe o suprafață de aliaj de magneziu sau de magneziu și o metodă de preparare a acesteia și are dezavantaj în aplicarea acestui material pe lemn.

În lucrarea "In vitro studies on wood degradation in soil by soft-rot fungi: *Aspergillus niger* and *Penicillium chrysogenum*, Int. Biodeterior. Biodegrad, 2013, 78, 98–102, autor Safa Abdelkader Mohamed Hamed, se prezintă un studiu in vitro despre biodegradarea lemnului de către ciuperca *Aspergillus niger* și *Penicillium chrysogenum*, studiind degradarea morfologică și structurală a lemnului induse de aceste ciuperci arătând diferențe în ceea ce privește colonizarea hifelor și modelele de degradare a lemnului între speciile de putregai. S-a dovedit că *A. niger* a produs degradarea soft de putregai de tip I (formarea cavității) și tipul II (eroziunea), în timp ce *Penicillium chrysogenum* a provocat numai degradarea de tip II atât în lemn de pin, cât și în lemn de sicrie. Aceste diferențe pot fi atribuite naturii ligninei și hemicelulozei. Constatările

studiului demonstrează că tipul de putregai II (eroziune) datorită *P. chrysogenum* apare atât în gimnospermă cât și în angiospermă. Rezultate similare, privind degradarea, au fost raportate de Hamed (2013). De asemenea, *Penicillium chrysogenum* arată capacitatea de a degrada pereții celulari cu conținut relativ scăzut de lignină. Nanoparticulele de argint, cupru și oxid de zinc în vopsele au fost utilizate pentru a inhiba creșterea mușcăiurilor în medii interioare și, prin urmare, pentru a preveni contaminarea aerului.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în distrugerea fungilor de tipul *Penicillium chrysogenum* și *Aspergillus niger* de pe suprafețele lemnoase și îmbunătățirea proprietăților mecanice ale lemnului cu păstrarea cromaticii naturale a acestuia prin aplicarea simultană a două soluții, una de Hidroxiapatită, Sigma Aldrich (cod catalog : H0252 SIGMA-ALDRICH), în suspensie în 0.001 M tampon fosfat, cu pH 6.8, și alta soluție 10^{-3} M în apă bidistilată de AgNO_3 , care generează *in-situ* pe suprafața lemnului după circa 30 – 45 minute de la aplicare a AgHAp , urmat de uscarea lentă în aer a lemnului astfel tratat.

Avantajele invenției sunt:

- Obținerea *in situ* a argint hidroxiapatită direct pe suprafața piesei tratate, fără a mai necesita în prealabil sinteza dificilă a acestui compus din compuși agresivi pentru om și mediu;
- realizare ușoară și ieftină a soluțiilor de hidroxiapatită și a soluției de azotat de argint,
- utilizare rapidă și ușoară,
- păstrarea culorii suprafeței tratate
- îmbunătățirea proprietăților mecanice ale lemnului
- soluții prietenoase mediului înconjurător și a omului.
- utilizare în consolidarea și restaurarea pieselor/artefactelor din lemn întrucât nu modifică culoarea, crește rezistența mecanică la rupere și conferă protecție antimicrobiană

Rondulele din lemn de alun au fost tratate cu cele două soluții dezvoltându-se *in situ* AgHAp , apoi au fost înglobate în mediu de cultură specific pentru creșterea și izolarea fungilor, și au fost incubate la temperatura camerei, iar alte rondule de lemn de alun netratate au fost înglobate în mediu de cultură specific pentru creșterea și izolarea fungilor, și au fost incubate la temperatura camerei. Mediul de cultură utilizat pentru creșterea și izolarea fungilor de pe materialele din lemn: mediu Sabourand dextroza agar cu cloramfenicol, utilizat pentru izolarea fungilor, 10 g/l, cu conținut de extract peptidic de carne și caseina, dextroza monohidrată 40 g/l, agar 15 g/l,

cloramfenicol 0.05 g/l, pH final 5,6 \pm 2 la 25 °C, si mediu potato dextrose agar PDA, utilizat pentru testare activitate antifungica, infuzie de cartof 4 g/l, D(+) si glucoza 20 g/l, Agar 15 g/l. Pe materialul tratat nu s-au inregistrat niciun fel de fungi, in timp ce pe materialul netratat au inceput sa se dezvolte colonii de fungi. Dupa 7 zile, s-au examinat coloniile dezvoltate, iar de pe materialul netratat s-au izolat trei tipuri de microorganisme, care s-au dovedit a fi din genul *Penicillium*: *Penicillium sp.1* = notat P1, *Penicillium sp.2*, notat P2 si *Aspergillus sp.*

Pe rondelele de lemn netratat a crescut *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium sp. 1*, microorganism care dupa 48 h fructifica formand micelii verzi, iar dupa 7 zile trimite pigmenti galbeni in mediu si produce exudat galben, si *Aspergillus niger* cu micelii albe dupa 24 h, care dupa 72 h fructifica, formand micelii negre. Cu cele doua microorganisme, izolate de pe materialele lemnoase, dupa identificare, s-au realizat in continuare teste prin care s-a urmarit efectul unor materiale ce contin hidroxiapatita de argint generata in situ din hidroxiapatita si AgNO₃.

Exemplu de realizare a inventiei: 5 g de Hidroxiapatita, Sigma Aldrich (cod catalog : H0252 SIGMA-ALDRICH), au fost amestecate cu o suspensie in 0.001 M tampon fosfat, cu pH 6.8, obtinandu-se solutia A, si cu 5 ml AgNO₃, solutie 10⁻³M in apa bidistilata, se obtine solutia B. Intr-un recipient cu doua cai de alimentare si doua cai de iesire dotat cu piston cu actionare dubla se introduc separat solutia A pe o cale de intrare si solutia B pe cealalta cale de alimentare. Dupa ce suprafata lemnoasa a fost curatata de praf cu o laveta moale se aplica simultan pe suprafata piesei din lemn de alun solutia A si solutia B, dupa cca 30...40 de minute de la aplicare pe suprafata lemnului se genereaza AgHAp, piesa se lasa sa se usuce la temperatura camerei si se depoziteaza intr-o incinta uscata.

Testarea efectului antifungic s-a realizat utilizand metoda otravirii mediului de cultura, cu materialul de testat, in concentratii prestabilite, si turnarea acestuia in placi Petri. S-au luat trei placi Petri in care au fost introduse in fiecare cate un cub din lemn cu latura de 1 cm, peste care s-a turnat simultan Solutia A si Solutia B mai-sus mentionate. După preincubarea peste noapte, inocularea s-a realizat cu discuri de micelii de 5 mm depozitat în centrul plăcii. După incubare, se măsoară diametrele de creștere a fungilor în plăcile de control și de probă iar % de inhibiție al creșterii se estimează cu formula:

$$\% \text{ inhibiție} = ((D_c - D_s) / D_c) \times 100$$

unde:

Dc este diametrul de creștere în placa de control (martor)

Ds este diametrul de creștere în placa care conține agentul antifungic testat.

Testele calitative realizate cu cele doua microorganismе cu mediu de cultura in care s-au introdus materialele de testat au aratat ca hidroxiapatita ca atare, practic nu influenteaza cresterea si dezvoltarea celor doua specii de fungi; in schimb inglobarea in materialul nutritiv a unui compus cu AgHAp are ca efect inhibarea cresterii celor doua specii de fungi.

Din testele realizate a rezultat ca solutia ce contine AgHAp are efect antifungic la concentratii mai mari de 2 % in mediu de cultura; din acest motiv in continuare s-a testat efectul AgHAp (format dintr-o parte suspensie HAp 25% si o parte solutie AgNO₃ , 10⁻³ M) asupra celor doua microorganismе.

Pentru cele doua microorganismе testate, exista o dependenta liniara de tip concentratie - % de inhibitie, ambele tulpini fiind sensibile la produsul testat. Astfel pentru *Penicillium chrysogenum* se obtine un DL₅₀=16,22% respectiv DL₉₅ =35,63%, cu un coeficient de corelatie de 92,1% in timp ce pentru *Aspergillus niger* se obtine un DL₅₀=12,26% si respectiv un DL₉₅ =24,91%, cu un coeficient de corelatie de 95,8%. Figura 1 reprezinta efectul concentratiei de AgHAp de inhibare a dezvoltarii *Penicillium chrysogenum*, iar figura 2 reprezinta efectul concentratiei de AgHAp de inhibare a dezvoltarii *Aspergillus niger*.

Din punct de vedere mecanic, rezistenta la rupere creste cu 4,65% la tratamentul cu HAp, 8,6% la AgNP si 14% in cazul AgHAp generat pe suprafata lemnului, figura 3.

Parametrii cromatici determinati cu camera Konica Minolta utilizand modelul experimental CIELab (CIE 1986) au fost aleși pentru studiu, si in special axa Δb^* care exprima culorile albastru / galben, cu valori negative ale b^* pentru albastru, iar valorile pozitive ale b^* pentru galben. Acest indicator reflecta stabilitatea cromatica a unui material (in cazul nostru lemnul): daca $\Delta b^* \leq 3$ materialul prezinta o stabilitate moderata, daca $\Delta b^* > 3$ si ≤ 8 materialul este moderat stabil cromatic, iar daca $\Delta b^* > 8$ materialul este instabil. Figura 4 reprezinta variatia parametrilor cromatici pentru lemnul tratat cu: hidroxiapatita (lemn + HAp), nanoparticule de argint (lemn+AgNP), nanoparticule de argint si hidroxiapatita (lemn+AgNP+HAp). Din graficul variatiei parametrilor cromatici se observa ca lemnul tratat cu AgNP+HAp pastreaza stabilitatea cromatica a lemnului.

COMPOZITIE ANTIFUNGICA UTILIZATA PENTRU RESTAURAREA/CONSERVAREA
ARTEFACTELOR DE LEMN SI PROCEDEU DE FOLOSIRE

Revendicari

- 1 Compozitie antifungica utilizata *in situ* in restaurarea artefactelor de lemn cu pastrarea cromaticii si imbunatatirea proprietatilor mecanice ale lemnului, caracterizata prin aceea ca se compune din o solutie de Hidroxiapatita, Sigma Aldrich (COD CATALOG : H0252 SIGMA-ALDRICH), in suspensie in 0.001 M tampon fosfat, cu pH 6.8, si alta solutie 10^{-3} M in apa bidistilata de AgNO_3 , in prezenta celulozei din masa lemnoasa se genereaza AgHAp.
- 2 Compozitie antifungica conform revendicarii 1 caracterizata prin aceea ca distruge speciile de fungi *Penicillium chrysogenum* si *Aspergillus niger*.
- 3 Procedeu de folosire a compozitiei antifungice conform revendicarii 1 caracterizat prin aceea ca dupa ce suprafata piesei din lemn a fost curatata se aplica simultan cele doua solutii, se asteapta circa 30... 40 de minute pana la dezvoltarea AgHAp, se usuca la temperatura camerei, iar apoi piesa se depoziteaza intr-o incapere uscata.

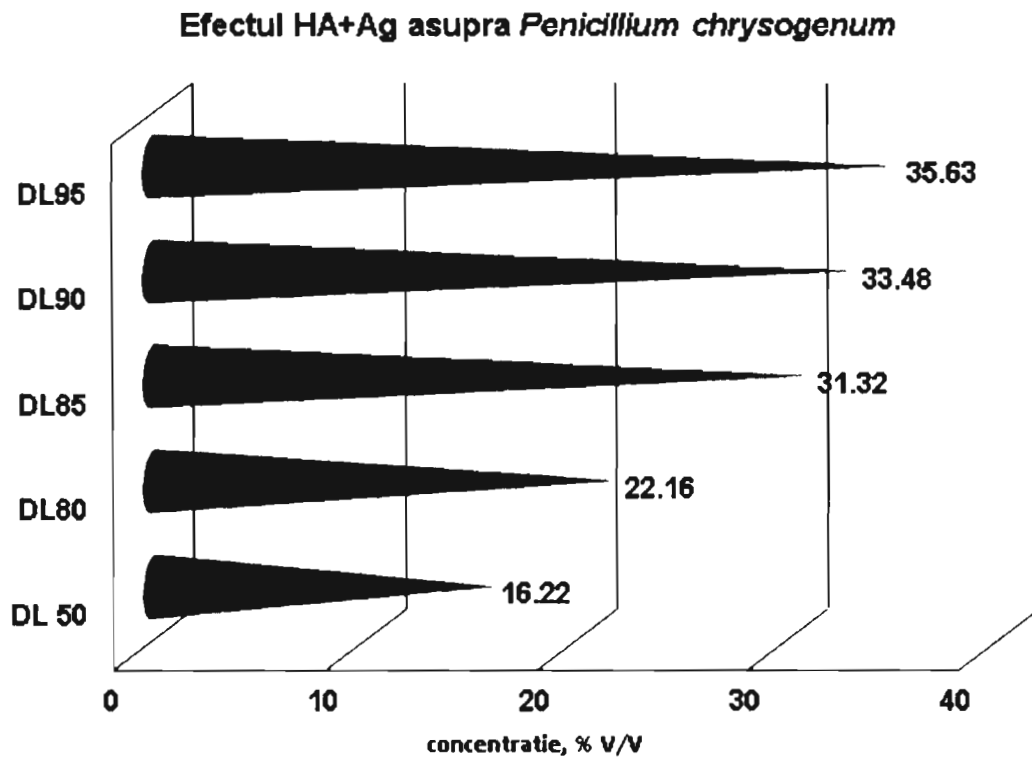


Figura 1. Efectul concentrației de (AgHAp) asupra dezvoltării *Penicillium chrysogenum*

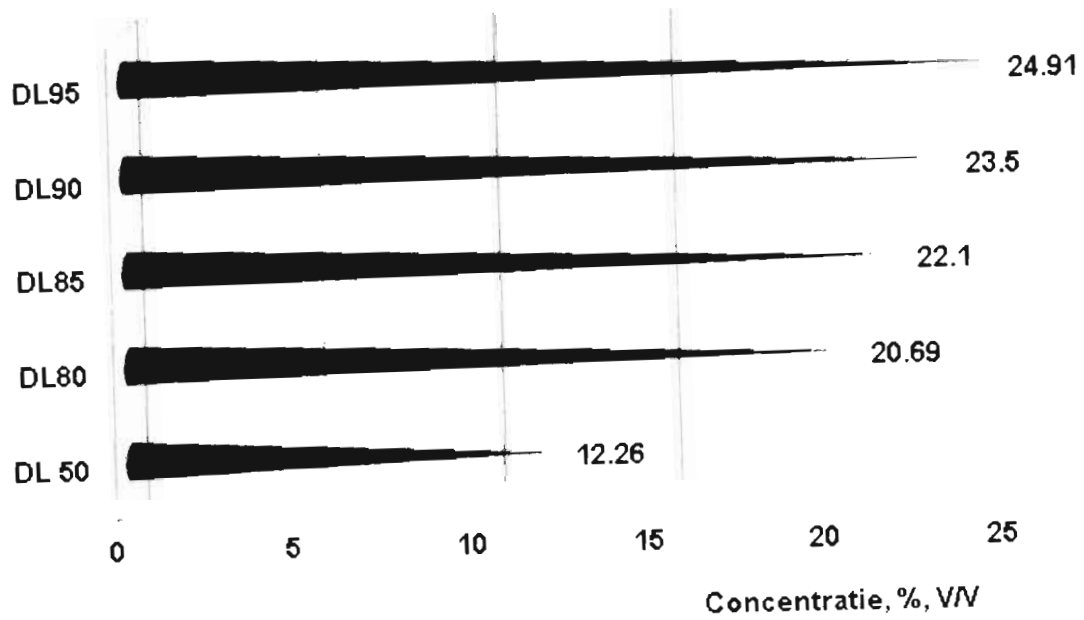
Efectul HA+Ag asupra *Aspergillus niger*

Figura 2. Efectul concentratiei de (AgHAp asupra dezvoltarii *Aspergillus niger*

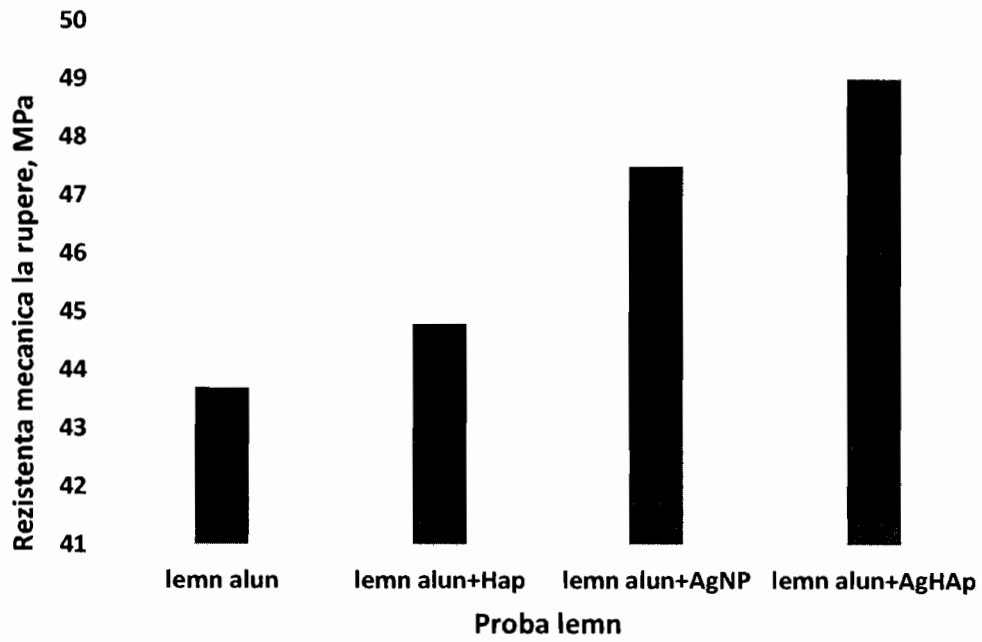
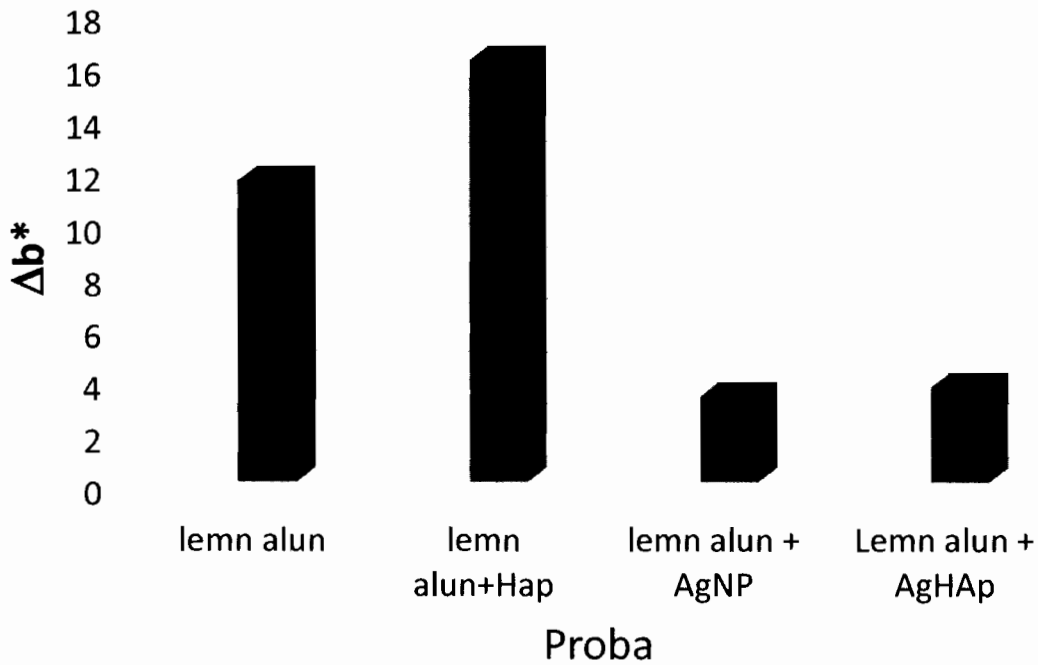


Figura 3 Rezistentă la rupere a lemnului

Figura 4. Variația parametrilor cromatici Δb^* la probele de lemn tratate