



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2021 00686**

(22) Data de depozit: **16/11/2021**

(41) Data publicării cererii:  
**30/05/2023** BOPI nr. **5/2023**

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

(72) Inventatori:  
• **CHIRIAC ANITA LAURA,  
INTRAREA CUCURUZULUI NR.20,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **IORDACHE TANȚA- VERONA,  
ALEEA DOLINA NR.6, BL.70, SC.1, ET.1,  
AP.4, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **SÂRBU ANDREI, STR.VALEA OLTULUI  
NR. 16, BL.A28, SC.C, ET.2, AP.37,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **NEBLEA ELENA IULIA, STR.FLORILOR,  
NR.22, AZUGA, PH, RO;**

• **MIRON ANDREEA, STR.SOLSTIȚIULUI,  
NR.2B BIS, ET.2, AP.19,  
POPEȘTI - LEORDENI, IF, RO;**  
• **GAVRILĂ ANA-MIHAELA,  
BD.ALEXANDRU OBREGIA NR.50, BL.R11,  
SC.B, AP.69, ET.6, SECTOR 4,  
BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **ZAHARIA ANAMARIA, BD. ALEXANDRU  
OBREGIA NR.20 BIS, BL.20 BIS, SC.A,  
ET.3, AP.14, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,  
RO;**  
• **STOICA ELENA BIANCA,  
SAT ȘERBĂNEASA NR.23,  
COMUNA VALEA LUNGĂ, DB, RO;**  
• **OLARU ANDREEA GABRIELA,  
STR.BURNIȚEI, NR.60L, BL.60L, AP.21,  
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **COSAȘU DAN, STR. FELICIA RACOVIȚĂ  
NR. 2-4, ET. 3, AP. 5, SECTOR 5,  
BUCUREȘTI, B, RO**

(54) **HIDROGELURI BACTERICIDE CU REȚEA  
INTERPENETRATĂ PE BAZĂ DE CHITOSAN ȘI PROCEDEU  
DE OBȚINERE AL ACESTORA**

(57) Rezumat:

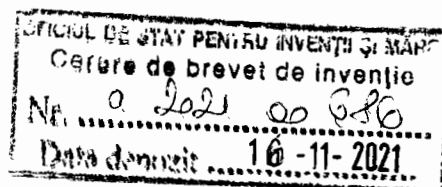
Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor hidrogeluri bactericide cu rețea interpenetrantă utilizate pentru îndepărtarea anumitor tipuri de bacterii din apele reziduale cu grad ridicat de contaminare. Procedeu, conform invenției, constă în polimerizarea radicalică, inițiată cu acid 4,4'-azobis-4-cianovaleic (ACVA) a monomerului, clorură de vinil benzil trimetilamoniu (VBTAC), și a agentului de reticulare, N, N'-metilenbis-

acrilamidă (MBA) în prezența chitosanului, rezultând xerogeluri, care, puse în contact cu ape reziduale, reduc cu 70...80% concentrația de bacterii coliforme și reducerea cu 60...70% a concentrației de bacterii *Clostridium perfringens*, precum și recuperarea hidrogelurilor bactericide fără pierderi ale produsului finit.

Revendicări: 2

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).





## HIDROGELURI BACTERICIDE CU REȚEA INTERPENETRATĂ PE BAZĂ DE CHITOSAN ȘI PROCEDEU DE OBTINERE AL ACESTORA

Prezenta invenție se referă la hidrogeluri bactericide cu rețea interpenetrată pe bază de chitosan cu aplicabilitate în tratarea apelor uzate și la un procedeu de obținere al acestora.

În scopul obținerii de hidrogeluri pe bază de chitosan se cunosc mai multe procedee.

Astfel, un prim procedeu, descris în brevetul **US 2017/0360912 A1, 2017** constă în obținerea de hidrogeluri termosensibile pe bază de chitosan extras din carcase de creveți cu scopul de a fi utilizate în domeniul medical sau al tratamentelor cosmetice. Hidrogelurile au fost obținute prin amestecul soluțiilor de chitosan,  $\beta$ -glicerol fosfat, bicarbonat de sodiu și soluție tampon fosfat salin în proporții variabile, timp de 24 de ore la 37°C. Dezavantajul acestui procedeu constă în necesitatea utilizării unui chitosan foarte pur dar și în utilizarea de  $\beta$ -glicerol fosfat, care are un preț ridicat.

Un al doilea procedeu, descris în brevetul **US 2015/9034348 B2, 2015** constă în sinteza hidrogelurilor termosensibile pe bază de tipuri diferite de chitosan. Noile materiale au fost obținute în condiții fiziologice de pH și temperatură în scopul utilizării acestora în aplicații medicale precum regenerarea țesuturilor. Hidrogelurile termosensibile sunt obținute prin combinarea unor soluții de chitosan cu grade de deacetilare diferite și titrarea acestui amestec în primă fază la pH 6,8 cu soluție de hidroxid de sodiu și menținere la 4°C timp de 24 de ore iar apoi se face titrarea la pH 7,2 la 4°C, obținându-se în final un material care este lichid la temperatura camerei și care devine un gel stabil la 37°C și pH 7,4. Dezavantajul acestui procedeu constă în faptul că materialul final nu poate fi utilizat la temperaturi mai joase de 37°C deoarece acesta nu gelificază, așadar nu poate fi utilizat în aplicații de mediu. Un alt dezavantaj apare din cauza titrării soluțiilor care au loc la temperatura de 4°C, temperatură care este dificil de menținut și care presupune un consum ridicat de energie.

Un al treilea procedeu, descris în articolul **L. Fan, J. Yang, H. Wu, Z. Hu, J. Yi, J. Tong, X. Zhu, Preparation and characterization of quaternary ammonium chitosan hydrogel with significant antibacterial activity, International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 79:830-836** prevede sinteza hidrogelurilor cu efect antibacterian prin realizarea unui amestec de chitosan modificat cu săruri cuaternare de amoniu, alcool polivinilic (PVA) și polietilenoxid

(PEO). Polimerii sintetici sunt solubilizați în apă distilată la temperatura de 80°C iar reticularea amestecului de chitosan modificat/PVA/PEO are loc la temperatura camerei utilizând radiații  $\gamma$  drept inițiator. Dezavantajul acestui procedeu constă în costul ridicat și în manevrabilitatea dificilă a sursei de radiație. Alt dezavantaj apare în momentul preparării soluțiilor de polimeri sintetici, dizolvarea componentelor având loc la o temperatură cu 50-60°C peste cea a camerei, ceea ce conduce spre un consum energetic relativ ridicat.

Un al patrulea procedeu, descris în brevetul **US 2017/9750847 B2, 2017** constă în obținerea hidrogelurilor interpenetrate pe bază de polietilenglicol diacrilat (PEGDA) și de un amestec de polietilenglicol monoacrilat (PEGMA) și chitosan modificat cu diferiți compuși cuaternari de amoniu, în scopul utilizării acestora drept acoperiri antimicrobiene pentru diferite materiale medicale. Pentru a obține aceste hidrogeluri, primul pas constă în modificarea structurii chitosanului cu mai mulți compuși cationici cuaternari ce conțin grupări cuaternare de amoniu de tipul trimetilamoniu, trihexilamoniu, tridecilamoniu, dimetilhexilamoniu, dimetildecilamoniu și dimetilhexilamoniu. Al doilea pas presupune funcționalizarea polietilenglicolului monoacrilat prin dizolvarea sa în toluen, tratarea acestuia cu clorură de clor-acetil la reflux timp de 24 de ore, dizolvarea rezidului în clorură de metilen, îndepărtarea solventului prin evaporare, și în final spălarea acestuia cu hexan urmată de uscare. Al treilea pas este obținerea compusului chitosan-PEGMA prin prepararea soluțiilor de chitosan funcționalizat în apă și a soluției de PEG funcționalizat în izopropanol, urmată de amestecarea acestora la temperatura camerei timp de 3 ore. La finalul procesului, amestecul este precipitat într-o soluție de acetonă și etanol iar produsul final este filtrat obținându-se o soluție de chitosan-PEGMA. Hidrogelurile au fost sintetizate prin reticularea radicalică a soluției chitosan-PEGMA și a soluției de PEGDA în prezența unui fotoinițiator (Irgacure 2959). Soluția rezultată a fost expusă la radiație UV timp de 15 minute iar în final hidrogelul a fost purificat cu apă distilată. Dezavantajele acestui procedeu constau în faptul că, la funcționalizarea PEGMA se utilizează toluen și clorură de clor-acetil care sunt compuși toxici. De asemenea, procedeu este foarte complicat, cuprinzând multe etape, inclusiv de spălare și purificare, în urma cărora apar pierderi ale compușilor de interes dar care conduc și spre consumuri suplimentare de energie. În plus, este necesară o sursă de radiații UV.

Un al cincilea procedeu, descris în articolul **C.T. Tsao, C.H. Chang, Y.Y. Lin, M.F. Wu, J.-L. Wang, J.L. Han, K.H. Hsieh, Antibacterial activity and biocompatibility of a chitosan- $\gamma$ -poly(glutamic acid) polyelectrolyte complex hydrogel, Carbohydrate Research, 2010,**

**345:1774-1780** descrie obținerea hidrogelurilor interpenetrante complexe de polielectroliți (PEC) cu proprietăți antibacteriene alcătuite din chitosan drept polielectrolit cationic și de acid poliglutamic ( $\gamma$ -PGA) drept polielectrolit anionic. Sinteza presupune formarea unui complex între grupările  $-\text{NH}_2$  din chitosan și grupările  $-\text{COOH}$  din  $\gamma$ -PGA și se realizează prin dispersarea pulberii de chitosan în soluția apoasă de  $\gamma$ -PGA urmată de imersarea complexului în soluție de hidroxid de sodiu 1 N iar, în final, spălarea hidrogelului format cu apă deionizată până la un pH de aproximativ 7. Dezavantajul procedurii constă în utilizarea unui compus scump (acidul poliglutamic) și în faptul că pot rezulta hidrogeluri cu proprietăți mecanice slabe, datorită reticulării prin interacții electrostatice.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în obținerea de hidrogeluri bactericide, adecvate pentru utilizarea acestora în aplicații de tratarea apelor, acestea fiind rezultatul combinării proprietăților antibacteriene conferite de soluția monomerului clorură de vinil benzil trimetilamoniu (VBTAC) în apă și a biocompatibilității ridicate oferite de chitosanul solubilizat într-un amestec de apă-acid acetic, performanța structurii interpenetrante, rezultate prin polimerizarea monomerului vinilic, fiind îmbunătățită cu ajutorul agentului de reticulare N,N'-metilenbisacrilamidă (MBA) și a inițiatorului acid 4,4'-azobis-4-cianovaleric (ACVA).

Invenția înlătură dezavantajele procedurilor menționate anterior prin aceea că hidrogelurile interpenetrante sunt alcătuite dintr-un monomer sintetic, VBTAC și un polimer natural chitosan, sinteza realizându-se cu inițiator ACVA în prezența agentului de reticulare MBA, raportul între chitosan și VBTAC fiind de 1: 0,5...1, raportul între chitosan și MBA fiind de 1:0,05...0,10 și raportul între chitosan și ACVA fiind de 1:0,01...0,05, hidrogelurile prezentând caracter bactericid și sunt obținute printr-un procedeu în care se prepară o soluție acid acetic:apă în raport volumetric 1...5 : 9...5, care se folosește ca solvent pentru prepararea unei soluții de chitosan cu concentrația de 1...2%, prin dizolvarea timp de 2...3 ore, sub agitare, la temperatura de 20...30°C, în paralel, preparându-se o doua soluție apoasă cu concentrațiile de 5...10% de VBTAC și 0,5...1,0% de MBA, obținută prin dizolvarea simultană a monomerului și a reticulantului la temperatura de 20...30°C, timp de 10...20 minute, și o a trei asoluție apoasă cu concentrație 0,1...0,5% de ACVA, obținută prin dizolvarea inițiatorului ACVA la temperatura de 40...60°C timp de 30...60 minute, soluțiile astfel obținute introducându-se pe rând într-o fiolă de sticlă, fiola se sigilează, se agită timp de 1...5 minute și se imersează într-o baie de apă la 60...80°C timp de 18...24 de ore iar la finalul reacției, după spargerea fiolei de sticlă, hidrogelurile sunt

recuperate, tăiate și purificate prin spălare de 3 ori cu apă distilată la un raport între chitosanul utilizat inițial și apa de spălare de 1:800...1000 și apoi sunt uscate la etuvă la o temperatură de 30...50°C până la o masă constantă, xerogelurile astfel obținute, puse în contact cu o apă reziduală, permițând reducerea cu 70...80% a concentrației de bacterii coliforme, și reducerea cu 60...70% a concentrației de bacterii clostridium perfringens.

Invenția prezintă următoarele avantaje:

1. Hidrogelurile cu structură interpenetrată prezintă un efect bactericid în cazul contactului cu ape reziduale cu conținut ridicat de bacterii datorită prezenței monomerului VBTAC cu proprietăți antibacteriene.
2. Se aplică proceduri simple de preparare a hidrogelurilor cu rețea interpenetrată nefiind necesară utilizarea unor surse de radiații.
3. Sinteza hidrogelurilor se realizează fără a implica degajarea de compuși volatili toxici.
4. Nu este necesară o aparatură specială, prepararea soluțiilor fiind realizată doar sub agitare.
5. Se obțin hidrogeluri cu puritate ridicată datorită îndepărtării compușilor nereacționa și prin spălări succesive cu apă distilată.
6. Nu se utilizează solvenți toxici, așadar nu sunt prezente probleme deosebite de protecție a personalului și a mediului de lucru.
7. Recuperarea hidrogelurilor se realizează fără pierderi ale produsului finit.
8. Se utilizează compuși biocompatibili și biodegradabili care nu au un cost ridicat și care se degradează în timp fără a afecta mediul înconjurător.
9. Procedul tehnologic de sinteză este simplu, fără multe faze.

Se dau în continuare exemple de realizare a invenției:

Exemplul 1: Într-un pahar Berzelius de 25 mL se introduc 1 mL acid acetic, 9 mL apă distilată și 0,1 g chitosan, se agită la temperatura de 20°C, timp de 3 ore, obținându-se soluția (1). Într-o fiolă de 5 mL se introduc 1 mL de apă distilată, 0,05 g VBTAC și 0,005 g MBA, se agită la temperatura de 20°C timp de 20 minute, obținându-se soluția (2). Într-o altă fiolă de 5 mL se introduc 1 mL de apă distilată și 0,001 g ACVA și amestecul se menține sub agitare la temperatura de 40°C timp de 60 de minute, obținându-se soluția (3). Într-o fiolă de 15 mL se introduce soluția (1) și, cu ajutorul unor seringi, se introduc pe rând soluțiile (2) și (3). Fiola este apoi sigilată cu dop de cauciuc și parafilm, este agitată timp de 1 minut și este imersată într-o

baie de apă la 60°C, timp de 24 ore. La finalul procesului, fiola este extrasă din baia de apă, este lăsată să se răcească la temperatura de 20°C, după care fiola se sparge pentru recuperarea hidrogelului care este apoi tăiat, purificat prin spălare de 3 ori cu câte 80 mL de apă distilată și în final uscat la etuvă la o temperatură de 30°C până se obțin xerogeluri cu o masă constantă. Xerogelurile astfel obținute, puse în contact cu o apă reziduală, au permis reducerea cu 70% a concentrației de bacterii coliforme, și reducerea cu 60% a concentrației de bacterii clostridium perfringens.

Exemplul 2: Într-un pahar Berzelius de 10 mL se introduc 2,5 mL acid acetic, 2,5 mL apă distilată și 0,1 g chitosan, se agită la temperatura de 30°C timp de 2 ore, obținându-se soluția (1). Într-o fiolă de 5 mL se introduc 1 mL de apă distilată, 0,1 g VBTAC și 0,01 g MBA, se agită la temperatura de 30°C, timp de 10 minute, obținându-se soluția (2). Într-o altă fiolă de 5 mL se introduc 1 mL de apă distilată și 0,005 g ACVA și amestecul se menține sub agitare la temperatura de 60°C, timp de 30 de minute, obținându-se soluția (3). Într-o fiolă de 15 mL se introduce soluția (1) și, cu ajutorul unor seringi, se introduc pe rând soluțiile (2) și (3). Fiola este apoi sigilată cu dop de cauciuc și parafilm, este agitată timp de 5 minute și este imersată într-o baie de apă la 80°C timp de 18 ore. La finalul procesului, fiola este extrasă din baia de apă, este lăsată să se răcească la temperatura de 30°C, după care fiola se sparge pentru recuperarea hidrogelului care este apoi tăiat, purificat prin spălare de 3 ori cu câte 100 mL de apă distilată și în final uscat la etuvă la o temperatură de 50°C până se obțin xerogeluri cu o masă constantă. Xerogelurile astfel obținute, puse în contact cu o apă reziduală, au permis reducerea cu 80% a concentrației de bacterii coliforme, și reducerea cu 70% a concentrației de bacterii clostridium perfringens.

Exemplul 3: Într-un pahar Berzelius de 25 mL se introduc 2,5 mL acid acetic, 5 mL apă distilată și 0,1 g chitosan, se agită la temperatura de 25°C timp de 2,5 ore, obținându-se soluția (1). Într-o fiolă de 5 mL se introduc 1 mL de apă distilată, 0,06 g VBTAC și 0,008 g MBA, se agită la temperatura de 25°C, timp de 15 minute, obținându-se soluția (2). Într-o altă fiolă de 5 mL se introduc 1 mL de apă distilată și 0,003 g ACVA și amestecul se menține sub agitare la temperatura de 50°C, timp de 40 de minute, obținându-se soluția (3). Într-o fiolă de 15 mL se introduce soluția (1) și, cu ajutorul unor seringi, se introduc pe rând soluțiile (2) și (3). Fiola este apoi sigilată cu dop de cauciuc și parafilm, este agitată timp de 2 minute și este imersată într-o

baie de apă la 70°C, timp de 22 ore. La finalul procesului, fiola este extrasă din baia de apă, este lăsată să se răcească la temperatura de 25°C, după care fiola se sparge pentru recuperarea hidrogelului care este apoi tăiat, purificat prin spălare de 3 ori cu câte 90 mL de apă distilată și în final uscat la etuvă la o temperatură de 40°C până se obțin xerogeluri cu o masă constantă. Xerogelurile astfel obținute, puse în contact cu o apă reziduală, au permis reducerea cu 75% a concentrației de bacterii coliforme, și reducerea cu 65% a concentrației de bacterii clostridium perfringens.

Exemplul 4: Într-un pahar Berzelius de 10 mL se introduc 2 mL acid acetic, 4 mL apă distilată și 0,1 g chitosan, se agită la temperatura de 22°C, timp de 2,7 ore, obținându-se soluția (1). Într-o fiolă de 5 mL se introduc 1 mL de apă distilată, 0,07 g VBTAC și 0,007 g MBA, se agită la temperatura de 22°C, timp de 18 minute, obținându-se soluția (2). Într-o altă fiolă de 5 mL se introduc 1 mL de apă distilată și 0,004 g ACVA și amestecul se menține sub agitare la temperatura de 52°C timp de 50 de minute, obținându-se soluția (3). Într-o fiolă de 15 mL se introduce soluția (1) și, cu ajutorul unor seringi, se introduc pe rând soluțiile (2) și (3). Fiola este apoi sigilată cu dop de cauciuc și parafilm, este agitată timp de 3 minute și este imersată într-o baie de apă la 75°C, timp de 20 ore. La finalul procesului, fiola este extrasă din baia de apă, este lăsată să se răcească la temperatura de 22°C, după care fiola se sparge pentru recuperarea hidrogelului care este apoi tăiat, purificat prin spălare de 3 ori cu câte 95 mL de apă distilată și în final uscat la etuvă la o temperatură de 45°C până se obțin xerogeluri cu o masă constantă. Xerogelurile astfel obținute, puse în contact cu o apă reziduală, au permis reducerea cu 78% a concentrației de bacterii coliforme, și reducerea cu 64% a concentrației de bacterii clostridium perfringens.

Exemplul 5: Într-un pahar Berzelius de 25 mL se introduc 3 mL acid acetic, 6 mL apă distilată și 0,1 g chitosan, se agită la temperatura de 27°C timp de 2,2 ore, obținându-se soluția (1). Într-o fiolă de 5 mL se introduc 1 mL de apă distilată, 0,08 g VBTAC și 0,009 g MBA, se agită la temperatura de 27°C timp de 12 minute, obținându-se soluția (2). Într-o altă fiolă de 5 mL se introduc 1 mL de apă distilată și 0,004 g ACVA, și amestecul se menține sub agitare la temperatura de 55°C, timp de 55 de minute, obținându-se soluția (3). Într-o fiolă de 15 mL se introduce soluția (1) și, cu ajutorul unor seringi, se introduc pe rând soluțiile (2) și (3). Fiola este apoi sigilată cu dop de cauciuc și parafilm, este agitată timp de 4 minute și este imersată într-o

baie de apă la 73°C, timp de 21 ore. La finalul procesului, fiola este extrasă din baia de apă, este lăsată să se răcească la temperatura de 27°C, după care fiola se sparge pentru recuperarea hidrogelului care este apoi tăiat, purificat prin spălare de 3 ori cu câte 85 mL de apă distilată și în final uscat la etuvă la o temperatură de 42°C până se obțin xerogeluri cu o masă constantă. Xerogelurile astfel obținute, puse în contact cu o apă reziduală, au permis reducerea cu 73% a concentrației de bacterii coliforme, și reducerea cu 68% a concentrației de bacterii clostridium perfringens.



## HIDROGELURI BACTERICIDE CU REȚEA INTERPENETRATĂ PE BAZĂ DE CHITOSAN ȘI PROCEDEU DE OBȚINERE AL ACESTORA

### Revendicări

1. Hidrogeluri bactericide cu rețea interpenetrată **caracterizate prin aceea** că sunt alcătuite dintr-un monomer sintetic VBTAC și un polimer natural chitosan, sinteza realizându-se cu inițiator ACVA în prezența agentului de reticulare MBA, raportul între chitosan și VBTAC fiind de 1: 0,5...1, raportul între chitosan și MBA fiind de 1:0,05...0,10 și raportul între chitosan și ACVA fiind de 1:0,01...0,05, hidrogelurile prezentând caracter bactericid, xerogelurile astfel obținute, puse în contact cu o apă reziduală, permițând reducerea cu 70...80% a concentrației de bacterii coliforme, și reducerea cu 60...70% a concentrației de bacterii clostridium perfringens.
2. Procedeu de obținere a hidrogelurilor bactericide cu rețea interpenetrată, conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că se prepară o soluție acid acetic:apă în raport volumetric de 1...5 : 9...5, care se folosește ca solvent pentru prepararea unei soluții de chitosan cu concentrația de 1...2%, prin dizolvarea timp de 2...3 ore, sub agitare, la temperatura de 20...30°C, în paralel, preparându-se o doua soluție apoasă cu concentrațiile de 5...10% de VBTAC și 0,5...1,0% de MBA, obținută prin dizolvarea simultană a monomerului și a reticulantului la temperatura de 20...30°C, timp de 10...20 minute, și o a treia soluție apoasă cu concentrația de 0,1...0,5% de ACVA, obținută prin dizolvarea inițiatorului ACVA la temperatura de 40...60°C, timp de 30...60 minute, soluțiile astfel obținute introducându-se pe rând într-o fiola de sticlă, raportul între chitosan și VBTAC fiind de 1: 0,5...1,0, fiola se sigilează, se agită timp de 1...5 minute și se imersează într-o baie de apă la 60...80°C timp de 18...24 de ore iar la finalul reacției, după spargerea fiolei de sticlă, hidrogelurile sunt recuperate, tăiate și purificate prin spălare de 3 ori cu apă distilată la un raport între chitosanul utilizat inițial și apa de spălare de 1: 800...1000 și apoi sunt uscate la etuvă la o temperatură de 30...50°C până la o masă constantă.