



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2022 00694

(22) Data de depozit: 28/10/2022

(41) Data publicării cererii:
30/04/2024 BOPI nr. 4/2024

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

(72) Inventatori:
• IOANA ION, STR.LILIACULUI, NR.7B,
SAT PRUNI, MĂGURELE, IF, RO;

• NICULA NICOLETA OANA,
STR.POȘTALIONULUI, NR.30, BL.1, ET.3,
AP.24, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
• MARINESCU VIRGIL EMANUEL,
CALEA CĂLĂRAȘI, NR.94, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;
• LUNGULESCU MARIUS,
STR.PRELUNGIREA GHENCEA NR.285A,
AP.3, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• MITU CIPRIAN MIHAI, STR.LILIACULUI
7B, SAT PRUNI, MĂGURELE, IF, RO

(54) MATERIALE CU ACTIVITATE ANTIBACTERIANĂ ȘI
PROCEDEU DE OBȚINERE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la materiale textile cu activitate antibacteriană funcționalizate cu nanoparticule de Ag (NpAg) și la un procedeu de obținere a acestora. Materialele textile conform invenției sunt funcționalizate *in situ* cu NpAg cu diametre < 10 nm biosintetizate, utilizând ca bioreducător un extract de microalge verzi Chlorella, asistat de iradiere cu raze gama cu doze

cuprinse între 25...100 kGy, cu un debit de 0,5 kGy/h, care prezintă activitate antibacteriană ridicată la bacterii gram-pozitive ca *Staphylococcus aureus* și bacterii gram-negative ca *Pseudomonas aeruginosa*.

Revendicări: 3
Figuri: 4



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr.	a 2022 00699
Data depozit	28-10-2022

Materiale cu activitate antibacteriană și procedeu de obținere

Invenția se refera la funcționalizarea unor textile cu nanoparticulele de argint (NpAg) biosintetizate utilizând un extract de *Chlorella* asistată de iradiere cu radiații gama cu doze cuprinse între 25...100 kGy, prezentând activitate antimicrobiană, precum și la procedeu de obținerea a acestora.

Tematica invenției este interdisciplinara se refera la (I) sinteza de NP de Ag biosinteze asistate de iradiere cu raze gamma, (II) funcționalizarea cu Np de Ag a unor textile (III) care prezinta activitate antibacteriana.

Datorita multiplelor proprietăți fizice și chimice Np de Ag au multe posibilități de utilizare în industrie, medicina și farmacie. Se cunosc numeroase soluții tehnice de sinteza, acestea fiind folosite de foarte mult timp. Nanoparticulele sunt sintetizate prin diverse metode fizice (mecanice-măcinare, sonicare, iradiere cu UV [9, 43], iradiere cu microunde [11], iradiere cu plasma [43] sau radiație ionizante [16,19, 20, 21,44 A00971/2018;], iradiere cu laser [17], ablație laser [3], chimice [18] biologice [15] și terminând cu metodele mixte în care sunt asociate doua metode clasice [32, 33].

Cele mai des întâlnite sunt metodele chimice asociate sau asistate de metode fizice și metodele biologice asociate sau asistate de metode fizice [1, 32, 44]. Metodele chimice asistate de microunde, sonicare, iradiere cu raze ionizante sau UV și metode biologice asistate de microunde, sonicare, iradiere cu raze ionizante sau UV.

Dintre cele mai cunoscute aplicații industriale și direcții noi de cercetare industrială ale NpAg sunt materiale cu rol antibacterian (15, 16, 18, 25, 46-50), antiviral (51, 52) și mai noua sunt utilizate în controlul bolilor plantelor [36].

În ultimul deceniu se pune problema creșterii alarmante a numărului de facilități medicale care se luptă cu problema patogenilor care au dezvoltat rezistența la substanțele antimicrobiene uzuale. [14, 34]. Tot mai multe centre de cercetare caută soluții noi în dezvoltarea de substanțe antimicrobiene pentru patogenii rezistente la antibioticele uzuale, martori sunt numeroasele articole și brevete de invenție pe această temă. O soluție este folosirea de Np metalice și oxizii acestora cu activitate antibacteriana, cele mai încercate sunt Ag, ZnO, Cu, CuO₂ și CuO, TiO₂ [29]

Cererea de brevet de invenție (CBI) propune un proces de obținerea a Np de Ag pe cale biologică, utilizând bio-reducători în alege – *Chlorella* asistată de iradiere cu radiații gama, din acest motiv ne

vom referi in cele ce urmează la metodele din categoria „green chemistry” denumita si chimie ecologica.

In anii 70 au început sa apare brevete de invenție (BI) care au la baza cercetări legate de metode de obținere in condiții de laborator si industrie a unor culturi de *Chlorella* (JPS5276478(A), JPS5341484(A), metode de extracție si preparare, utilizări ale extractelor pe baza de *Chlorella* (JPS5324068(A), JPS523869(A) ,JPS52120172(A)).

In literatura de specialitate sunt semnalate multiple cercetări privind biosintetizarea Np metalice sau de oxizi metalici folosind ca bioreducători din diverse alge [13, 15,31; 39; 59; RO134209(A2)-2020.06.03, CN 104525965], din fungi [60; 34; 61,40, US8394421B2], din bacterii [5; 26, 32, 37] si agenți bioactivi din plante [US201502402; PH22020050337(U1)] si NpAg utilizând ca reducător alga *Chlorella* [CN 104525965, RO134209-(A2)].

Dintre multiplele aplicații ale speciei de microalge verzi *Chlorella* putem enumera: epurarea apelor uzate prin absorbția metalelor grele, poluanților chimici de tip organic-coloranți, aplicații agro-chimice-de tip biostimulare [KR 20100134214 A, 1], biocombustibili, nutriție umană si animală, aplicații biocidale prin sinteze bio de Np [15, RO134209(A2)-2020.06.03].

U. E. Viktorovna in brevetul - RU2767057(C1)-2022.03.016 prezinta producerea unui extract uscat similar cu cel din plante medicinale, analog lui, utilizabil ca aditiv alimentar uman si pentru ferme de animale. Invenția consta într-o instalație de producere a pudrei de *Chlorella* uscata, având celulele microalgei distruse. Această invenție este asociata domeniului de agricultura si a domeniului de preparare a unor surse de proteine si vitamine comestibile.

Este cunoscut faptul ca Rusia si tarile asiatice, comercializează produse alimentare din alge, ca salate denumite „salata de mare”, suplimente alimentare - alge sub formă de pudra sau băuturi-shake-uri (RU2767055(C1)-2022.03.16; US2003017249 A1; US2012269949A1;; KR20100134214 A).

Toate acestea fiind spuse, exista in literatura de specialitate articole si BI, produse comerciale –pe baza de alge, inclusiv *Chlorella*, care se comercializează pe piața mondiala. Exista instalații industriale de creștere, colectare, preparare si valorificarea a algelor si a algei *Chlorella*, in cantități capabile sa facă posibila, fezabila economic utilizarea ca materie prima a algei *Chlorella* in aplicații industriale.

Exista CB cu textile funcționalizate cu NpAg. Acestea sunt in mare măsura funcționalizate prin metoda chimica, electrochimica, si metoda funcționalizării cu plasma.

Funcționalizarea materialelor textile cu diverse substanțe antibacteriene este în ultimii ani tot mai folosită și cercetată. Funcționalizarea se face din două motive: pentru protecția textilelor și pentru utilizarea acestora în aplicații antibacteriene [29, 30].

Funcționalizarea cu Ag a textilelor se poate face prin două moduri: introduse în fibra din fabricația acesteia în procesul de filare sau depusă pe fibra ulterioară prin diferite metode. Impregnarea cu soluții de Np este cea mai utilizată metodă, urmată de sintetizarea Np din săruri direct pe fibre, denumită și sinteză/metoda in situ.

Se funcționalizează cu NpAg diverse tipuri de fibre naturale și artificiale, dar dintre cele mai utilizate sunt fibrele de bumbac care constituie principala materie primă pentru textilele non-implantabile utilizate în aplicațiile medicale (bandaje, tifoane și vată și îmbrăcăminte tratată).

Vigneshwaran și colaboratorii [40] impregnează fibre de bumbac înălbite cu soluții de AgNO₃ (0.1;1 și 10mM) prin metoda autoclav - 125⁰/15 minute/15 psi. Astfel au obținut fibre de bumbac funcționalizate cu Np Ag (cu maxim absorbție UV-Vis la 420 nm) cu activitate antibacteriană bună la bacteriile gram pozitive - S. aureus și gram negative -K. pneumoniae.

Phole și colaboratorii [28] au realizat ciorapi ortopedici cu fibre din bumbac 85 % / PA 15%, impregnate cu o soluție de Ag coloidal cu particule de 1-30 nm (cu maxim de absorbție UV-Vis la - 405nm). Materialele au fost testate pentru bacterii gram negative-E. coli.

Invenția CN103966836A se referă la textile ce conțin fibre funcționalizate cu grupări amino tratate cu precursori de Ag-săruri de argint și saturi cuaternare de amoniu.

Invenția CN101307563A - se referă la obținerea de țesături funcționalizate prin tratarea cu soluții cu NpAg.

Duran și colaboratorii [10] utilizează fungi pentru funcționalizarea textilelor cu NpAg.

Abo-State, M. A. M și colaboratorii în 2017[1], obțin NpAg prin metoda biologică (bioeducători din extractul de bacterie-Pseudomonas aeruginosa) asistată de radiații gama.

Nu există articole sau BI care să prezinte funcționalizarea de textile in situ prin metoda biologică asistată de iradiere cu radiații gama. Există articole în care sunt funcționalizate textile cu Np obținute din fungi dar fără iradiere.

Dezavantajele soluțiilor cunoscute sunt următoarele:

Sinteza chimica de Np utilizează în mod curent agenți de reducere, agenți de dispersie, agenți de antiaglomerare și agenți de scădere a dimensiunii particulelor. În procesul de producție se obțin produși secundari, toxici care necesită neutralizare, epurare apelor uzate.

Procedeul de realizare deși foarte simplu, eficient, ecologic și ieftin are ca limitare următoarele; (1) faptul că acest procedeu de biosintetizare este strâns legat de tehnologia de creștere, recoltare și comercializare a algei, este de preferat să fie implementată ca o prelungire a acestei tehnologii pentru a crește profitul; (2) faptul că acest procedeu necesită o instalație de iradiere cu raze ionizante (gama sau electroni), acestea nu sunt larg răspândite și necesită personal înalt calificat.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în obținerea de materiale textile sterile cu activitate antibacteriană ridicată la bacterii gram pozitive-*Staphylococcus aureus* și bacterii gram-negative-*Pseudomonas aeruginosa* prin funcționalizarea cu NpAg biosintetizate utilizând ca bioreducători unui extract de microalge verzi- *Chlorella*, asistate de iradiere cu radiații gama cu doze de 25...100k Gy. Procedeul de obținere are ca produs secundar o soluție de Np de Ag.

Procedeul de obținere înlătură dezavantajele menționate prin aceea că are avantajul de a fi un procedeu ecologic, economic și flexibil utilizând un extract de microalge-*Chlorella* cu rol de bioreducător/agent de stabilizare natural.

Avantajele invenției sunt determinate de faptul că biosinteza asistată de iradiere aduce cu sine avantajele celor două metode utilizate și elimină în principal dezavantajele aduse de metodele chimice clasice, ne-ecologice:

Metoda bio - (1) elimină agenți toxici reducători și agenți de stabilizare, eliminând producții de reacție secundari obținuți în urma unor procese chimice clasice, incluzând și eliminarea etapelor de spălarea și epurarea; (2) sintezele bio determină producerea de produse care au o biocompatibilitate și activitate biologică crescută vs produsele obținute pe cale chimică clasică.

Extractul de *Chlorella* are dublu rol: de bioreducător slab și de agent de dispersie.

Metoda de sinteză radiolitică - (1) elimină agenții toxici reducători, eliminând producții secundari; (2) produce ca agent de reducere compuși activi obținuți în urma radiolizei apei; (3) are avantajul de a produce Np cu dispersie îngustă a dimensiunii particulelor; (4) produsul rezultat este steril.

Avantajul metodei constă în obținerea a două produse concomitent (soluții de NpAg și țesături funcționalizate, ambele cu activitate antibacteriană ridicată).

Singurul produs secundar al procesului de obținere conform invenției, este o masa organica –peleti de alga *Chlorella*. Aceștia pot fi utilizați ulterior ca materie prima pentru obținerea de produse carbonice sau pot fi utilizați ca material combustibil cu putere calorica redusa. Toate acestea duc la creșterea profitului obținut daca produsul este produs industrial-in stații pilot sau de laborator.

Din punct de vedere tehnic, procedeul de obținere simplu, ecologic, versatil, ieftin, nu necesita materii prime toxice, scumpe, materiile prime principale fiind: săruri solubile de Ag si alge sub formă de pulberi de *Chlorella* sau se poate extinde la alte tipuri de alge, si opțional aditivi (agenți suplimentari de stabilizare/ soluții tampon si agenți de ajustare a pH -ului). Prin utilizarea in procesul de producție a unei pulberi se creste productivitatea procedeului, asigurând astfel o continuitate prin asigurarea unor stocuri de materie prima.

Procedeul de obținere a fost produs la scala mica-de laborator si se poate extinde la scala larga-industrial. Nu necesita instalații energofage de producție, nu necesita instalații complexe, sofisticate: procedeul de obținere necesita un sonicator (opțional), o centrifuga sau sistem/presa de filtrare pentru șarje mai mari si o instalație de iradiere cu radiații gama. Procedeul de obținere se poate extinde la iradiere cu electroni. Instalațiile de iradiere cu radiații ionizante gama si electroni se găsesc in dotarea spitalelor mari si centre de cercetare.

Activitatea sinergică a bioreducătorului si a radiațiilor ionizate, conform literaturii de specialitate, duce la sintetizarea unor NpAg cu următoarele avantaje/caracteristici: (1) Scade dimensiunea particulelor sintetizate [34]; (2) scade repartiția granulometrică [18-21]; (3) creste randamentul de producere [34]; (4) îmbunătățește puritatea [44]; (5) modifica parametrii cristalografici ai Np sintetizate. [34]; (6) funcționează substratul [37]; (7) aduce in plus efectul sterilizării, etc.

Noutatea invenției consta in obținerea de materiale textile cu activitate antibacteriana ridicata prin funcționalizarea cu Np de Ag cu diametru mai mic de 10 nm, biosintetizate utilizând un extract de microalge verzi–*Chlorella* cu dublu rol-rol de bioreducător si agent de dispersie, si reducători obținuți in urma radiolizei apei iradiate radiații gama cu doze de 25...100kGy, cu avantajul de a avea un produs steril si un produs secundar utilizabil (soluția de NpAg) ce prezinta efect antimicrobian ridicat pentru speciei *Pseudomonas aeruginosa* si *Staphylococcus aureus*.

Procesul de obținere fiind unul flexibil, ecologic si economic, poate extinde aplicabilitatea de la funcționalizarea textilelor la funcționalizarea altor substrate pentru alte domenii cum ar fi epurarea apelor uzate si epurarea apelor industriale ce conțin cantități mici de metale ionice.



Se poate extinde la obținerea de NpAg pentru stimularea creșterii sau biostimulării unor produși de genul lipide, glucide sau alte substanțe in corpul unor plante, alge si microalge.

România deține infrastructura de producere a surselor radioactive (ISSI Râmnicu Vâlcea) si know-how-ul asociata produceri si utilizării surselor radioactive pentru diverse aplicații in condiții de siguranța.

Din punctul de vedere al aplicabilității industriale avem in Romania infrastructura industrială de iradiere gama la IRASM care oferă servicii de iradiere industrială. [<https://www.nipne.ro/IRASM.php>].

Din punctul de vedere al aplicabilității la nivel de șarje de laborator, INCDIE ICPE-CA dețin un Iradiator de laborator cu sursa de Co-60, cu activitatea sursei: 5000 Ci (185 TBq), doza debit: minimum 3000 Gy/h (fără atenuator),- canistră rotativă cu volum util de iradiere: minimum 4 litri.

In continuare se dau 3 exemple de realizare a invenției in legătura cu Fig.1....., Fig.4, si Tabelul1, care reprezintă următoarele:

Fig. 1 Flux tehnologic de producție

Fig. 2a Spectre UV-Vis pentru exemplul 1, conform invenției.

Fig. 2b Spectre UV-Vis pentru exemplul 2, conform invenției.

Fig. 2c Spectre UV-Vis pentru exemplul 3, conform invenției.

Fig.3. Reprezentare grafica a fracției granulometrice obținută prin măsurători DLS, conform invenției.

Fig. 4 Poze –caracterizări funcționale-activitate antibacteriana, conform invenției.

Tabel 1. a) Parametrii spectrali pentru Spectrele UV-Vis pentru exemplul 1-3, conform invenției.

Tabel 1. b) Parametrii dimensionali obținuți prin măsurători DLS, pentru exemplul 1-Lotul 2, conform invenției.

In continuare se dau 3 exemple de realizare a invenției, diferența consta in compoziția soluției și doza de iradiere. Schema procedurii de obținere general este prezentată in Fig.1.

Procedura de obținere, in general, consta in următoarele 3 etape: A. etapa de obținere de extract, B. etapa de biosinteza a NP de Ag pe țesături de bumbac cu suprafață de aproximativ 1cm^2 , urmat de C. etapa de iradiere cu raze gama cu doza între 25...100kGy.

Pentru biosinteza NpAg au fost utilizate doua soluții stoc: (1) Extract de alge *Chlorella* (*Alga Chlorella*, 5g, macerat in 200ml apa 24h și la întuneric, la temperatura camerei, lichidul limpede obținut se considera extract, (notată cu soluția S1). In soluția (1) și soluția (2) soluție stoc de AgNO_3 10 mM, amestecate in cantități egale, sunt introduse mostrele de țesături de bumbac. Soluțiile astfel obținute sunt iradiate cu raze gama la doze variind între 25...100 kGy. Iradierea are loc intru-un iradiator de laborator cu sursa de Co și doza debit de 0.58 kGy/h. Soluțiile astfel obținute după iradiere se notează $S3_{doza}$ ($S3_{25}$, $S3_{50}$, $S3_{75}$, $S3_{100}$). Soluțiile iradiate au fost caracterizate din punct de vedere morfologic (măsurători optice ale spectrelor UV-Vis, DLS, SEM) și funcțional (activitate antimicrobiană).

Exemplu 1: Extractului de *Chlorella* (neffotată cu soluția S1.1) i se reglează pH-ul la 10, adăugând o baza (KOH sau NaOH), se stabilizează cu un carbohidrat (2.5 g/100 ml zahar) substanța cu rol de stabilizator și tampon, și agent antioxidant AIP(alcool izopropilic) 25% v/v (raportată la S1). Soluția astfel obținută se va nota S1.1_s.

O soluție stoc de 10 mM Ag^+ (AgNO_3) (notată cu soluția S2) se adaugă in S1.1_s in cantități egale. Soluția astfel obținută (notată cu soluția S3.1) se supune iradierii cu raze gama la doze variind între 25...100 kGy. Soluțiile astfel obținute după iradiere se notează: S3.1₂₅; S3.1₅₀; S3.1₇₅; S3.1₁₀₀.

Exemplu 2: se procedează ca in cazul Exemplului 1 dar nu se adaugă carbohidratul. Soluția astfel obținută (notată cu soluția S3.2) se supune iradierii cu raze gama la doze variind între 25...100 kGy. Soluțiile astfel obținute după iradiere se notează: S3.2₂₅; S3.2₅₀; S3.2₇₅; S3.2₁₀₀. Caracterizările din punct de vedere morfologic și funcțional sunt prezentate in Tabelul 1 și Fig. 2...4.

Exemplu 3: se procedează ca in cazul Exemplului 1 dar nu se alcoolizează extractul. Soluțiile astfel obținute după iradiere se notează: S3.3₂₅; S3.3₅₀; S3.3₇₅; S3.3₁₀₀.

Soluțiile finale obținute conform invenției, notate S3 /respectiv a Np Ag sunt caracterizate din punct de vedere morfologic și funcțional și sunt prezentate in Tabelul 1 a, b, și Fig. 2 - 4.

Conform spectrelor UV-Vis soluțiile prezintă maxime de absorbție caracteristice cuprinse între 405...416 nm, indicând prezența NpAg [18, 45], și o rază medie calculată conform spectrelor UV-VIS de 1-2 nm [22]. Datele sunt prezentate în Tabel 1 și Fig. 2-3. Metoda UV-Vis este calitativă.

Intensitatea spectrelor de absorbție UV-Vis este direct proporțională cu numărul de particule, în timp ce maximum de absorbție este invers proporțional cu mărimea particulelor [Benjamin J. Wiley et al., în 2006]. În toate loturile experimentale se observă o scădere a mărimii particulelor (scădere a maximului de absorbție) cu creșterea dozei.

Conform măsurătorilor de determinare a fracțiilor granulometrice din lichide prin măsurători de tip "Împrăștierea Dinamică a Luminii" (Dynamic Light Scattering-DLS) se obține un diametru efectiv a NpAg mai mic de 10 nm (model de reprezentare grafică a fracției granulometrice în fig. 3 și Tabel 1b.)

Conform datelor prezentate, se constată că compoziția optimă este Exemplul 1, datorită adăugării de stabilizatori (carbohidrați) și antioxidanți (AIP), urmată de Exemplul 2 și 3. Cea mai mare influență pozitivă o are alcoolizarea soluției urmată de stabilizarea cu carbohidrați.

Evaluarea efectului antimicrobian al materialelor textile funcționale, impregnate cu NpAg biosintetizate asistate de iradiere gamma cu doze c de 25...100kGy, a fost realizată printr-o metodă calitativă, folosind o versiune adaptată a metodei de difuzie a discului, conform standardului CLSI (CLSI, 2020)[8, 27]. Din fiecare tulpină testată (bacterie gram pozitivă-Staphylococcus aureus ATCC 6538- S.a și bacterie gram-negativă Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 – Ps.ae.), s-a preparat o suspensie de celule în apă distilată sterilă (ADS), cu densitate 0,5 MFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml). Suspensiile microbiene (200 μ l/placă) au fost însămânțate pe mediul solid Muller Hinton (MH), mediu propice dezvoltării bacteriilor folosite în testare. Plăcile au fost lăsate la temperatura camerei, timp de 5 minute și ulterior, au fost adăugate probele de material textile funcționalizate, fiecare cu o dimensiune de aproximativ 1 cm^2 .

Probele au fost incubate la 37°C , timp de 24 de ore. După incubare, diametrul zonei de inhibare a creșterii (mm) a fost evaluat. Pentru a determina efectul antimicrobian al materialelor testate s-a efectuat raportul dintre aria zonei de inhibiție și aria probei. Toate testele au fost efectuate în două exemplare.

Rezultate și interpretări În urma evaluării calitative a activității antimicrobiene a materialelor textile funcționalizate, s-a observat faptul că toate probele supuse testării prezintă acest caracter



antimicrobian, diferențindu-se cele din lotul 2, care au prezentat o activitate ridicată asupra ambelor tulpinilor bacteriene utilizate. Se remarcă faptul că toate probele (lotul I și lotul II) au prezentat un efect antimicrobian mai ridicat în cazul speciei *Pseudomonas aeruginosa*, față de *Staphylococcus aureus*. Probele au fost urmărite pentru încă 24h de la analizarea experimentului. Probele nu au suferit modificări ale zonei de inhibiție, ceea ce demonstrează faptul că materiale testate își mențin proprietățile antimicrobiene pe termen lung.

Conform Fig. 4., respectiv Tabelului 1c, modelele experimentale 1 și 2 prezintă activitate antimicrobiană pentru bacteriile testate. În toate cazurile activitatea antibacteriană crește cu creșterea dozei. Lotul 2 stabilizat cu antioxidanți, fără carbohidrați, prezintă cea mai mare activitate antibacteriană.

Bibliografie

1. Abo-State M.A.M. Journal of Ecological Health and Environment, 3 (3) (2015), pp. 91-98
2. Afshar P. Curr. Nanosci. 12, (2016) 90
3. Amendola V. Langmuir, Vol. 23, No. 12, 2007 6767.
4. Ashour A.H.. Particology Vol. 40, October 2018, Pages 141-151.
<https://doi.org/10.1016/j.partic.2017.12.001>
5. Anthony K.J.P., Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 20 (4) (2014), pp. 1505-1510
<https://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.07.039>
6. Tomohiro Bito,.Nutrients 2020, 12, 2524; doi:10.3390/nu12092524.
7. Melvin Calvin-bibliography-American biochemist - [https:// www.britannica.com/ biography/ Melvin-Calvin](https://www.britannica.com/biography/Melvin-Calvin).
8. CLSI, 2020- Adaptare metoda dupa CLSI, 2020 : Satlin, M. J., Lewis, J. S., Weinstein,
9. Darroudi M, Int J Mol Sci. 2011;12(9):6346-56. doi: 10.3390/ijms12096346. Epub 2011 Sep 23. PMID: 22016663
10. Durán, N., *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 3(2), 203–208. doi:10.1166/jbn.2007.022
11. Eshghi M, Antibiotics (Basel). 2018 Jul 30;7(3):68. doi: 10.3390/antibiotics7030068. PMID: 30061517; PMCID: PMC6165499.
12. Elaheh K. Powder Technology Volume 237, March 2013, Pages 97-101
13. Hamouda R. A.,MIC and Antibacterial Activity against Pathogenic Bacteria 11(7):1–12, 2019.
14. Hasson S. O. Nano Biomed. Eng., 2019,Vol. 11, Iss. 2, 200-214. doi: 10.5101/nbe.v11i2.p200-214.
15. Ion I.,Conference paper: 4th International Conference on Emerging Technologies in Materials Engineering 4-5.10. 2021, Bucharest, Romania. DOI: 10.13140/RG.2.2.34722.56007.
16. Ion I., Conference papers: Presented at the 17th International Symposium “Priorities of Chemistry for a Sustainable Development” PRIOCHEM, Bucharest, Romania, 27-29 Oct 2021. Poster presentation. DOI: 10.13140/RG.2.2.36190.56646.
17. Korshed, P., *Journal of Interdisciplinary Nanomedicine*. doi:10.1002/jin2.54
18. Lungu Valentina Magdalena. J Nanopart Res (2014) 16: 2203. <https://doi.org/10.1007/s11051-013-2203-3>
19. Lungulescu, Revista de Chimie, 70 (8), 2019, pp. 2826- 2830. DOI: 10.37358/rc.19.8.7436
20. Lungulescu E.-M., Materiale Plastice, 57 (4), 2021pp. 88-95. DOI: 10.37358/MP.20.4.5409.
21. Lungulescu, E.-M. Nanomaterials 2021, 11, 3388. <https://doi.org/10.3390/nano11123388>
22. D. Manikandan, Physica B 325 (2003) 86–91.
23. Mahajan A., Synthetic Communications, 49:15, 2019, 1926-1937, DOI: 10.1080/00397911.2019.1610776
24. Mulvaney P. Et.al. Langmuir, 12 (1996), pp. 788-800.
25. Soleimani M.. Avicenna J Med Biotechnol. 2017 Jul-Sep; 9(3): 120–125.
26. Nada, H.G. J Clust Sci (2021). <https://doi.org/10.1007/s10876-021-02122-4>
27. Patel M. P., (2020). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) position statements on polymyxin B and colistin clinical breakpoints. Clinical Infectious Diseases
28. Pohle, D., *Polymers and Polymer Composites*, 15(5), 2007, 357–363.
29. M Radetić,: Photochemistry Reviews 16, 62-76, 2013.
30. M. Radetic. J. Mater Sci (2013) 48:95-107.
31. Rajkumar R, Environmental Technology & Innovation 21, 2021, 101282. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101282>
32. Sahanab S. M. M., J. of Radiation Research and App. Sci. 14(1), 2021, Pp. 70-81.
33. Nakamura, S.; Int. J. Mol. Sci. 2020, 21, 3204. <https://doi.org/10.3390/ijms21093204>
34. G. S. El-Sayyad, Adv. Powder Technol. 29, 2616–2625.
35. S. Sarkar et al. Polyhedron26(2007)4419-4426.
36. Sang Woo Kim et all Mycobiology 40:1, 53-58, 2012

37. Saifuddin N. et al. E-J. Chem., 6 (2009), pp. 61-70.
38. Ebrahim Shirmohammadi; Int J Infect. 2014 September; 1(3): e21944
39. Sudha S.S. et al. Ind. J. Exp. Biol., 52 (2013), pp. 393-399.
40. Vigneshwaran, N., *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 7(6), 2007, 1893-1897. doi:10.1166/jnn.2007.737
41. Belasco Warren, Technology and Culture. 38 (3): 608-34, 1997. doi:10.2307/3106856. JSTOR 310685
42. N. Yan,; Int. J. Mol. Sci. 2016, 17, 962.
43. T. Yuranova et al. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 161 (2003) 27-34, DOI: 10.1016/S1010-6030(03)00204-1.
44. Huang, N. M., et al. (2009). *Chemical Engineering Journal* 147 (2009) 399-404. doi:10.1016/j.cej.2008.12.018.
45. B.J. Wiley et. Phys. Chem. B 2006, 110, 15666-15675.
46. Popa M. Fullerenes, Graphenes and Nanotubes, A Pharmaceutical Approach. 2018, 585-599. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813691-1.00014-2>
47. Ahmed S et al., *J Adv Res.* 7 (2015) 17-28, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jare.2015.02.007>
48. Okafor F. et al *Int J Environ Res Public Health* 10(10):5221-38, 2013
49. Morones J.R. et. al. *Nanotechnology*, 16 (2005), pp. 2346-2353
50. V.K. Sharma et al. *Advances in Colloid and Interface Science* 145 (2009) 83-96.
51. Lara HH et al *J Nanobiotechnology* 8:1,2010
52. J. Mittal et al, *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.* 5(4), 043002, 2014.
53. ITANAMI KOUJIROU-1977-06-27-JPS5276478(A)-Chlorella cultivating apparatus;
54. NISHIBE SHIYOUHEI 1978-04-14 JPS5341484 (A)-Chlorella Cultivating method;
55. SEKINE ICHIGOROU 1978-05-08-JPS5350386 (A) Precipitation Concentrating and Pure Separating Culture Method of Chlorella by acetic acid;
56. ARAKAWA KIYUEMON 1978-03-06-JPS5324068 (A)-Production of Drinking Agent Containing Chlorella;
57. HIRANUMA YOSHIKI - 1977-01-12 JPS523869 (A) - Nutritious Agent Loaded with Boiled water extracted Chlorella extract solution;
58. NAKASONE TOSHIO 1977-10-08 JPS52120172(A)-Production of Chlorella curry
59. Parial D. et al. *Eur. J. Phycol.*, 47 (2012), pp. 22-29.
60. Mukherjee P. et al. *Nano Lett.*, 1 (2001), pp. 515-519
61. G.All. Mansoori,
62. *Vigneshwaran N., et al., 2007-aspergillus* ,
63. Yun Y.-S. et al. (1997), *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 69, pg. 451-455

Revendicări

1. Materiale textile cu activitate antibacteriana caracterizate prin aceea ca sunt funcționalizate cu NpAg cu diametru mai mic de 10 nm, biosintetizate utilizând ca bioreducător un extract de microalge verzi-*Chlorella*, asistate de iradiere cu raze gama cu doze de 25....100kGy, ce prezinta activitate antibacteriana ridicata la bacterii gram pozitive-*Staphiloccocus aureus* si și bacterii gram-negative-*Pseudomonas aeruginosa*.
2. Procedeu de obținere conform revendicării 1, caracterizat prin aceea ca sinteza Np Ag are loc in situ pe țesături de bumbac imersate in într-o soluție bi-componet in cantități egale de extract de microalge-*Chlorella* alcoolizată (pana la 25%v/v AIP), cu pH =10, stabilizata cu carbohidrați (2.5 g/100 ml zahar) si o soluție de săruri precursorare de Ag (10mM), supusa apoi iradierii cu raze gama cu debit de 0,5 kGy/h si doze cuprinse intre 25...100kGy.
3. Procedul de obținere are ca produs secundar o soluție de Np de Ag cu diametru mai mic de 10nm.

Materii prime

Alge Pudra *Chlorella*

H2O

AgNO3

H2O

Reglator Ph

S1

Stabilizator

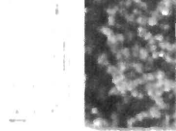
Aditivi:

Antioxidant

S1s

S2

S3



Solutie de NpAg

Caracterizare



Morfostructurala:
UV-VIS, DLS si SEM

Funcionala:
Activitate antimicrobiana

Fig. 1. Flux tehnologic de productie

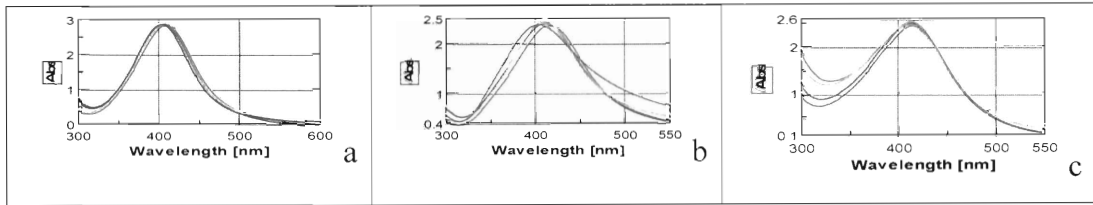


Fig.2. Spectre UV-Vis de absorbție, conform invenției, a) soluțiile S3.125-albastru; S 3.150-verde; S 3175-rosu; S3.1100-vernil, b) soluțiile S3.225-albastru; S 3.250-verde; S 3275-rosu; S3.2100-vernil, c) soluțiile S3.325-albastru; S 3.350-verde; S 3375-rosu; S3.3100-vernil.

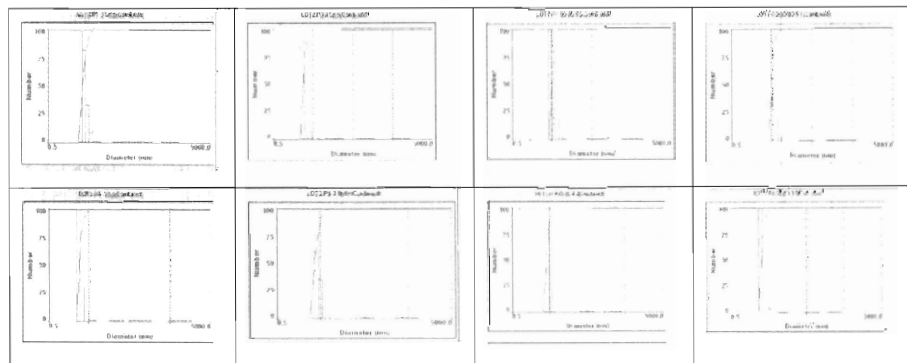


Fig.3.Reprezentare grafica a fracției granulometrice obținută prin măsurători DLS

Exemplul1		Exemplul2	
25kGy(P1) -50kGy(P2)	75kGy(P3)-100kGy(P4)	25kGy(P1) -50kGy(P2)	75kGy(P3)-100kGy(P4)

Fig.4. Activitate antimicrobiană a țesăturilor funcționalizate cu NpAg –PS.AU

Tabel 1. a) Parametrii spectrali pentru Spectrele UV-Vis pentru exemplul 1-3, conform invenției.

Exemplul 1-				Exemplul 2-				Exemplul 3-			
Doza [kGy]	λ_{\max} [nm] [#]	I _{abs} [ua] *	Rm [nm]	Doza [kGy]	λ_{\max} [nm] [#]	I _{abs} [ua] *	Rm [nm]	Doza [kGy]	λ_{\max} [nm] [#]	I _{abs} [ua] *	Rm [nm]
25	409	2.31.	2	25	416	1.82	1	25	412	2.55	2
50	407	2.05	2	50	412	1.87	1	50	413	1.88	2
75	406	2.22	2	75	410	1.90	1	75	411	2.92	2
100	404	2.61	2	100	405	2.43	1	100	415	2.03	2

#plasmonul de rezonata, lungimea de unda unde are loc absorbția maxima exprimata in nanometrii nm,
*intensitate spectrului de absorbție exprimata in unități arbitrare a.u., FWNM [nm] lățimea semi-înălțime, Rm [nm] raza medie calculata din spectrele UV-Vis[22].

Tabel 1. b) Parametrii dimensionali obținuți prin măsurători DLS, conform invenției.

Nr. crt	Doza [kGy]	Exemplul 1		Exemplul 2	
		D[nm]	F.g.p [nm]	D[nm]	F.g.p [nm]
1	25	3.8±0.044	3.1 _(max) -7.3	5.2±0.0028	4.6 _(max) -8.4
2	50	2.9±0.025	2.7 _(max) -4.2	5.1±0.0028	4.4 _(max) -7.9
3	75	3.7±0.045	3.2 _(max) -6.6	4.2±0.024	3.7 _(max) -6.3
4	100	3.8±0.048	3.2 _(max) -7.4	3.1±0.062	3.1 _(max) -8.1

Unde D- Diametru mediu efectiv, F.g.p.-Fracție granulometrica principala,

Tabel 1.c) Raportul ariei zonei de inhibiție si aria materialului textil.

PS-24h	
Lot1	Lot2
4.64	8.64
5.99	6.4
7.54	6.86
7.86	9.48