

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 976 761**

21 Número de solicitud: 202231097

51 Int. Cl.:

C08B 37/08 (2006.01)

B01D 53/62 (2006.01)

C08K 5/23 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

22.12.2022

43 Fecha de publicación de la solicitud:

08.08.2024

71 Solicitantes:

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA (100.0%)

Calle Pedro Zerolo s/n

38200 La Laguna (Santa Cruz de Tenerife) ES

72 Inventor/es:

DÍAZ DÍAZ, David y

BONARDD, Sebastian

74 Agente/Representante:

PADIMA TEAM, S.L.P.

54 Título: **PELÍCULA POROSA DE QUITOSANO, PROCEDIMIENTO PARA SU FABRICACIÓN Y USO**

57 Resumen:

La presente invención preconiza una película porosa de quitosano que presentan un grosor entre 2,2 y 2,8 μm con poros pseudo-circulares en su superficie que tienen un diámetro de entre 380 y 400 nm. Ventajosamente la superficie de la película porosa de quitosano presenta unidos grupos azo mediante enlaces covalentes, quedando funcionalizada con grupos azos en un porcentaje de entre 15 y 20% de unidades monoméricas modificadas químicamente. Así, la película porosa de quitosano de la presente invención presenta una capacidad de captura de CO_2 de entre 14 y 34 cm^3/g . Es objeto de la presente invención el procedimiento de fabricación de la película porosa de quitosano y su uso como captador de CO_2 .

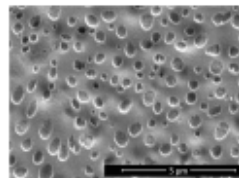


Fig 1

DESCRIPCIÓN

**PELÍCULA POROSA DE QUITOSANO, PROCEDIMIENTO PARA SU
FABRICACION Y USO**

5 SECTOR DE LA TÉCNICA

La presente invención se refiere a una película o film poroso de quitosano flexible que presenta una estructura que ofrece una elevada captura de dióxido de carbono (CO₂).

10

Para lograr este propósito, el film poroso de quitosano de la invención se prepara a partir de un procedimiento de fabricación en el que se modifica covalentemente con funcionalidades azo. También es objeto de la presente invención el uso de la película porosa de quitosano como captador de dióxido de carbono.

15

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

En el estado de la técnica son conocidos procedimiento para obtener conjugados formados por materiales biopoliméricos de quitosano y grupos azo, sin embargo, hasta la fecha el solicitante de la presente invención no localiza divulgaciones de materiales de estas características que permitan ofrecer hasta un 15% más de captura de CO₂ en comparación con lo capturado por materiales biopoliméricos de quitosano sin sustituir.

20

25 DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La película porosa de quitosano de la presente invención permite ofrecer una relevante captura de CO₂. Para ello, se fabrica en primer lugar la película porosa de quitosano flexible y seguidamente se procede a su funcionalización química con grupos azo mediante enlaces covalentes.

30

Concretamente la película de quitosano modificado se obtiene mediante el procedimiento detallado seguidamente, donde se diferencian dos etapas principales, a saber: una primera etapa de fabricación de las películas porosas de quitosano y una segunda etapa de funcionalización o modificación de las películas

35

porosas.

Así, en la primera etapa de fabricación de las películas porosas de quitosano se prepara una disolución de quitosano, utilizando como solvente una disolución
 5 acuosa de ácido acético. Por otra parte, se prepara una disolución acuosa de poli(etilenóxido), de forma que se mezclan la disolución de quitosano con la disolución de poli(etilenóxido) preparadas.

Seguidamente se procede al mezclado de la disolución de quitosano preparada
 10 con la disolución de poli(etilenóxido) preparada.

Esta mezcla se agita hasta su homogenización y se deposita en placas Petri que son calentadas a, al menos, 45 °C durante, al menos, 24 horas en un horno.

Seguidamente, las películas obtenidas son desprendidas de las placas Petri e introducidas durante en una disolución acuosa de NaOH, para finalmente proceder a su neutralización mediante agua Milli-Q (mezcla de agua ultrapura tipo I y agua
 15 purificada tipo II) termostatada. En este sentido, la neutralización tiene lugar al sumergir las películas obtenidas en agua Milli-Q.

20 Así, las películas porosas de quitosano son secadas entre láminas de vidrio en un horno, a una temperatura de al menos 70 °C durante al menos 72 horas, obteniéndose películas flexibles y opacas.

25 Seguidamente, en una segunda etapa, se procede a la modificación de las películas porosas de quitosano obtenidas. Para ello, en un sistema de reflujo, se introducen las películas porosas en una mezcla agua:acetona y, con agitación suave, el sistema se calienta a, al menos, 50 °C durante, al menos, 1 hora.

30 Transcurrido ese tiempo, se introduce 2-hidroxi-4-((4-nitrofenil) diazenil) benzaldehído disuelto en acetona, manteniendo las condiciones de agitación y temperatura por un tiempo de, al menos, 3 horas. Concluido el tiempo de reacción, la película porosa de quitosano es retirada del sistema de reflujo y es lavada con abundante mezcla agua:acetona.

35

Finalmente, la película modificada con grupos azo es llevada a, al menos, 70 °C durante, al menos, 72 horas.

5 El orden seguido para realizar el procedimiento de preparación de la película porosa de quitosano es ventajoso ya que en el orden inverso – hacer primero la funcionalización y una segunda etapa de fabricación de las películas porosas de quitosano – genera inestabilidad debido a las condiciones ácidas para solubilizar al material y las funcionalidades iminas sensibles a ese pH.

10 El material obtenido corresponde a una película porosa de quitosano con un grosor de entre 2,2 y 2,8 μm (micrómetros), con poros pseudo-circulares con un diámetro de entre 380 y 400 nm, de forma que en la superficie de la película porosa de quitosano están unidos grupos azos mediante enlaces covalentes, quedando funcionalizada con grupos azos en un porcentaje de entre 15 y 20% de unidades
15 monoméricas modificadas químicamente. Así, el grado de funcionalización del biopolímero con grupos azos genera que la película porosa de quitosano presenta una capacidad de captura de CO_2 de entre 14 y 34 cm^3/g .

20 Preferentemente, la película porosa de quitosano de la invención presenta una adecuada flexibilidad.

Así, la invención que se preconiza ofrece una alternativa óptima a biopolímeros de quitosano conocidos, que constituye una película flexible porosa a base del biopolímero quitosano, modificada covalentemente con grupos funcionales del tipo
25 azobenceno, la cual ofrece una mayor capacidad de captura de CO_2 , concretamente una capacidad de captura que se encuentra en el intervalo 14 – 34 cm^3/g .

30 Por tanto, la película porosa de quitosano obtenida conforme al procedimiento detallado anteriormente es adecuada para su uso para la captura de CO_2 .

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

35 Para complementar la descripción que seguidamente se va a realizar y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características del invento, de acuerdo

con un ejemplo preferente de realización práctica del mismo, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, un juego de planos en donde con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

5 La figura 1.- Muestra una imagen obtenida mediante microscopía electrónica de barrido de la película porosa de quitosano, sin estar todavía unida a grupos azo, conforme a una realización preferente de la invención.

10 La figura 2.- Muestra los espectros infrarrojos de una película porosa de quitosano (muestra A) y de una película porosa de quitosano posterior a su modificación con grupos azo (muestra B).

15 La figura 3.- Muestra una representación gráfica de los resultados obtenidos para el ensayo de medición de adsorción de CO₂ realizadas a temperaturas de 273 K (figura 3A) y 298 K (figura 3B) para películas de quitosano modificadas con grupos azo (muestra B) y sin modificar (muestra A).

20 La figura 4.- Muestra una representación gráfica de los resultados obtenidos para los ensayos de medición de adsorción de CO₂ y N₂ registradas para películas de quitosano sin modificar (muestra A representada en figura 4A) y conteniendo grupos azo (muestra B representada en figura 4B).

REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION

25 Conforme a una realización preferente de la invención, la película porosa de quitosano se prepara conforme a lo detallado seguidamente:

En primer lugar, se lleva a cabo la preparación de la película porosa de quitosano mediante el procedimiento explicado a continuación:

30

- Se prepara una disolución al 1 % m/v de quitosano ($M_v \sim 839.000$ g/mol, grado de desacetilación ~ 70 %), utilizando como disolvente una disolución acuosa al 1 % v/v de ácido acético glacial.
 - Paralelamente, se prepara una disolución acuosa de poli(etilenóxido) ($M_n =$
- 35 100.000 g/mol) al 0,5 % m/v.

- Posteriormente, 4 ml de la disolución de quitosano son mezclados con 1 ml de la disolución de poli(etilenóxido), agitados magnéticamente durante una hora y depositados en una placa Petri (3,2 cm de diámetro), la cual es introducida durante 24 horas en un horno a 45 °C.
- 5 - La película obtenida es retirada de la placa Petri e introducida durante 8 horas en una disolución acuosa de NaOH (0,5 M) para promover su neutralización.
- Culminado el paso anterior, la película se sumerge en abundante agua Milli-Q a 50 °C, bajo agitación suave, durante 24 horas, cambiando el agua cada

10 8 horas.
- Finalmente, la película obtenida de aspecto opaco es colocada entre dos láminas de vidrio y se lleva a un horno a 70 °C durante 72 horas, promoviendo su secado.

- 15 La película obtenida presenta un aspecto blanquecino opaco y adecuada flexibilidad, además de un grosor aproximado de 2,5 µm y una estructura porosa caracterizada por la presencia de poros pseudo-circulares con un valor de diámetro medio aproximado de 400 nm, tal como puede observarse en la figura 1.

- 20 La incorporación covalente de funcionalidades azo sobre las películas porosas de quitosano obtenidas, se lleva a cabo conforme a lo detallado seguidamente:
 - En un sistema de reflujo, equipado con un agitador magnético, se introducen 50 mg de película porosa en 70 mL de una mezcla agua/acetona (1:1).
 - 25 - El sistema es calentado a 50 °C durante 1 hora, para luego adicionar directamente 25 mg de 2-hidroxi-4-(4-nitrofenildiazenil)benzaldehído (Azo-CHO) disueltos en 5 mL de acetona, manteniendo las condiciones de agitación y temperatura durante 3 horas.
 - Concluido el tiempo de reacción, la película es retirada del sistema y lavada

30 con abundante mezcla agua:acetona (1:1) durante 24 horas, cambiando la mezcla cada 8 horas, para finalmente ser introducida en un horno a 70 °C por 72 horas. La película obtenida adquiere una tonalidad roja producto de la adición de funcionalidades azo a su estructura.

 - 35 Por otra parte, la naturaleza covalente de la incorporación de grupos azo sobre las

películas porosas de quitosano, objeto de la presente invención, ha sido demostrada mediante espectroscopía infrarroja. El equipo empleado para realizar estas mediciones es un espectrómetro infrarrojo Cary 630 FTIR, acoplado a un módulo de reflectancia total atenuada (ATR). Los espectros fueron registrados en el intervalo 4000 – 650 cm^{-1} , mediante la acumulación de 50 barridos y con una resolución de 2 cm^{-1} .

Así, la figura 2 recoge el espectro obtenido para una muestra de película de quitosano porosa modificada con grupos azo (muestra B: línea punteada) y el espectro obtenido para una muestra de película de quitosano sin modificar (muestra A: línea continua). De esta forma, el eje de abscisas corresponde a los valores de número de onda, expresado en cm^{-1} , y en el eje de ordenadas corresponde a los valores de transmitancia, expresado en %.

Los resultados obtenidos permiten verificar la aparición de una nueva banda centrada a 1515,7 cm^{-1} , característica de las bases de Schiff, corroborando que para la muestra de película porosa de quitosano modificada con grupos azo (muestra B: línea punteada) la reacción entre los grupos amino del quitosano y el aldehído de las entidades Azo-CHO, se llevó a cabo efectivamente. Igualmente, cabe señalar el espectro obtenido para la muestra de película de quitosano sin modificar (muestra A: línea continua) no presenta banda alguna en torno a 1515,7 cm^{-1} al no incluir grupos azo.

Adicionalmente, se mide el contenido de carbono (C), hidrógeno (H) y nitrógeno (N) en las siguientes muestras:

- Muestra 1 de película porosa de quitosano conforme a la primera etapa de la presente invención.
- Muestra 2 de película porosa de quitosano conforme a la primera etapa de la presente invención y que ha sido modificada con grupos azo conforme a la segunda etapa de la presente invención.
- Muestra 3 de película de quitosano no-porosa.
- Muestra 4 de película de quitosano no-porosa que ha sido modificada con grupos azo conforme a la segunda etapa de la presente invención.

La composición elemental de las muestras fue determinada mediante el uso de un analizador elemental CNHS FLASH EA 1112, el cual permite la detección simultánea del porcentaje en C, N, H y S a través del análisis de los gases emanados por la muestra posterior a su proceso de oxidación completa.

Pues bien, la tabla 1 recoge el contenido de C, H y N, expresados en %, para cada una de las muestras detalladas.

Tabla 1. Composición elemental (C, H, N) de muestras.

	C (%)	H (%)	N (%)
Muestra 1: película porosa quitosano	41,99	6,51	7,71
Muestra 2: película porosa quitosano + Azo	44,53	5,85	9,06
Muestra 3: película no-porosa quitosano	41,29	6,35	8,07
Muestra 4: película no-porosa quitosano + Azo	43,15	6,00	8,61

Los datos recogidos en la tabla 1 corroboran la incorporación de funcionalidades azo para la muestra 2, ya que dicha muestra presenta un valor mayor en el contenido de nitrógeno respecto el resto (9,06%). En base a estos resultados, se estima que entre un 15 a 20 % de unidades monoméricas fueron modificadas químicamente.

Por otro lado, los datos recogidos permiten verificar el efecto de la inclusión de porosidad en las películas de quitosano, ya que supone un aumento de su área superficial que promueve un mayor grado de modificación. Así, los datos obtenidos en la tabla 1 permiten realizar una comparativa de los valores de contenido de nitrógeno obtenido para las muestras modificadas (muestras 1 y 2) y sin modificar (muestras 3 y 4). De esta manera, mientras que para muestras porosas, la razón del contenido de nitrógeno entre la muestra modificada (muestra 2) y no modificada (muestra 1) fue de 1,18; para muestras no porosas, la razón del contenido de nitrógeno entre la muestra modificada (muestra 4) y no modificada (muestra 3) fue 1,07. Concluyendo que la razón de contenido de nitrógeno es mayor cuando la muestra presenta porosidad.

Finalmente, se detallan los resultados de los ensayos realizados para medición de

la capacidad de captura de CO₂ de la película porosa de quitosano objeto de la invención (muestra B) frente a un material de quitosano poroso sin modificar (muestra A).

- 5 El equipo empleado para realizar estas curvas de captura de CO₂ es un analizador de área superficial y tamaño de poro Quadrasorb SI equipado con un controlador de temperatura externo. Utilizando las muestras desgasificadas a 80 °C durante 12 h, se hicieron las isotermas en el intervalo 1×10^{-3} – 1 bar de presión.
- 10 Los análisis de adsorción de N₂ se realizaron a 77 K utilizando un Autosorb-iQ-MP de Quantachrome. Antes del análisis, las muestras se desgasificaron a 80 °C durante 12 h. Se determinaron las áreas superficiales BET y Langmuir en un intervalo P/P₀ de 0,15 – 0,30.
- 15 Las curvas de adsorción de gases han sido realizadas a temperaturas de 273 K (figura 3A) y 298 K (figura 3B) y determinaron las capacidades de captura de CO₂ de las películas porosas de quitosano modificadas con grupos azo (muestra B) y de las películas porosas de quitosano sin modificar (muestra A).
- 20 Las figuras 3A y 3B exponen los resultados experimentales obtenidos para la muestra A y la muestra B. De esta forma, el eje de abscisas corresponde a los valores de presión relativa (P/P₀) y en el eje de ordenadas corresponde a los valores de CO₂ absorbido, expresado en cm³/g. Se muestran dos gráficas, donde en cada una de ella se muestran los resultados obtenidos a temperaturas de 273
- 25 K (figura 3A) y 298 K (figura 3B), respectivamente.

A partir de las figuras 3A y 3B, se puede observar que la incorporación de funcionalidades azo (muestra B) incrementa de manera considerable la capacidad de captura de CO₂. En este sentido, mientras que la película de quitosano sin

30 modificar (muestra A) presenta una capacidad máxima de captura de 1,43 y 3,28 cm³/g, la película de quitosano modificada con grupos azo (muestra B) logra una máxima capacidad de captura de 33,57 y 14,53 cm³/g, a temperaturas de 273 K y 298 K, respectivamente.

35 Por otra parte, la película porosa de quitosano modificada con grupos azo (muestra

B), no solo repercute en la capacidad de adsorción de CO₂, sino que además aumenta la selectividad con la cual el material adsorbe CO₂ frente a N₂. Esta conclusión se observa en los datos recogidos en las figuras 4A y 4B donde se representan las curvas de adsorción para el CO₂ y el N₂ a una temperatura de 298 K medidas para películas de quitosano sin modificar (muestra A representada en figura 4A) y películas de quitosano modificadas con grupos azo (muestra B representada en figura 4B).

Así, los datos obtenidos muestran que la película porosa de quitosano sin modificar (muestra A) presenta una adsorción similar para ambos gases, mientras que las películas porosas de quitosano modificadas con grupos azo (muestra B) adsorbe de manera más efectiva CO₂. Lo anterior se traduce, de manera cuantitativa, en valores de selectividad ($[\text{CO}_2]/[\text{N}_2]$) de 5,59 para el material modificado, frente a un valor de 0,83 perteneciente al sistema sin modificar. Ambos valores medidos a una temperatura de 298 K y 1 bar de presión.

Finalmente, destacar que la película porosa de quitosano objeto de la presente invención ha sido obtenida sin la necesidad de disolverlo. En este sentido, los ensayos detallados confirman que, bajo las condiciones propuestas, la reacción química entre la película porosa de quitosano y la molécula Azo-CHO, tiene lugar de manera efectiva en un sistema heterogéneo, en el cual la previa disolución de quitosano no es requisito.

Por otra parte, el procedimiento detallado permite detener el proceso mediante la simple extracción del biopolímero desde el medio de reacción. Además, este enfoque también facilita considerablemente el proceso de purificación del material, el cual se logra de manera eficiente a través de lavados con disolvente.

REIVINDICACIONES

1^a.- Película porosa de quitosano **caracterizada por que** presenta un grosor entre 2,2 y 2,8 μm con poros pseudo-circulares con un valor de diámetro de entre 380 y 400 nm, estando en la superficie de la película porosa de quitosano unidos grupos azo mediante enlaces covalentes, quedando funcionalizada con grupos azos en un porcentaje de entre 15 y 20% de unidades monoméricas modificadas químicamente, de forma que la película porosa de quitosano presenta una capacidad de captura de CO_2 de entre 14 y 34 cm^3/g .

2^a.- Procedimiento de fabricación de la película porosa de quitosano, conforme a la reivindicación 1^a, caracterizado por que comprende las siguientes etapas:

- Preparación de una disolución de quitosano, utilizando como disolvente una disolución acuosa de ácido acético.
- Preparación de una disolución acuosa de poli(etilenóxido).
- Mezclado de la disolución de quitosano con la disolución de poli(etilenóxido) y agitación.
- Depósito de la mezcla homogeneizada en placas Petri que son calentadas a, al menos, 45°C durante, al menos, 24 horas para la obtención de películas.
- Retirada de las películas obtenidas de las placas Petri e introducción en una disolución acuosa de NaOH.
- Neutralización de las películas al sumergirlas en agua Milli-Q.
- Secado en un horno de las películas que se encuentran dispuestas entre dos láminas de vidrio para obtener películas porosas de quitosano.
- Introducción de las películas porosas de quitosano en un sistema de reflujo, en una mezcla agua/acetona y calentamiento a, al menos, 50 °C durante, al menos, 1 hora con agitación.
- Adición de 2-hidroxi-4-(4-nitrofenildiazenil)benzaldehído disuelto en acetona, manteniendo las condiciones de agitación y temperatura de la etapa anterior durante, al menos, 3 horas.
- Retirada de la película porosa de quitosano del sistema de reflujo de la etapa anterior.
- Lavado de la película porosa de quitosano con abundante mezcla agua:acetona.
- Introducción de la película porosa de quitosano en un horno a, al menos, 70 °C durante, al menos, 72 horas.

Donde la película porosa de quitosano obtenida presenta en su superficie unidos grupos azos mediante enlace covalentes, quedando funcionalizada con grupos azos en un porcentaje de entre 15 y 20% de unidades monoméricas modificadas químicamente, de forma que la película porosa de quitosano obtenida presenta una capacidad de captura de CO₂ de entre 14 y 34 cm³/g

3^a.- Uso de la película porosa de quitosano obtenida del procedimiento, según reivindicación 2^a, para la captura de CO₂.

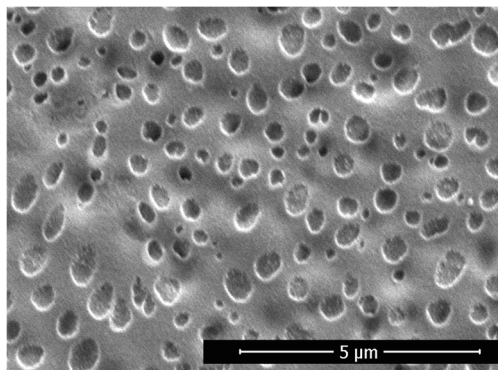


Fig 1

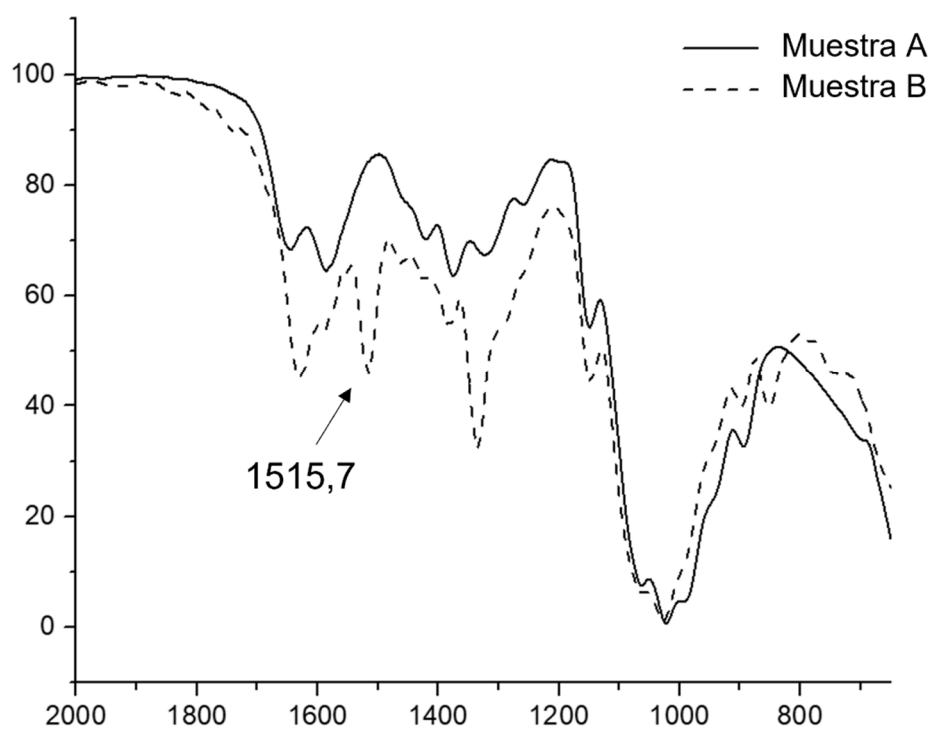


Fig. 2

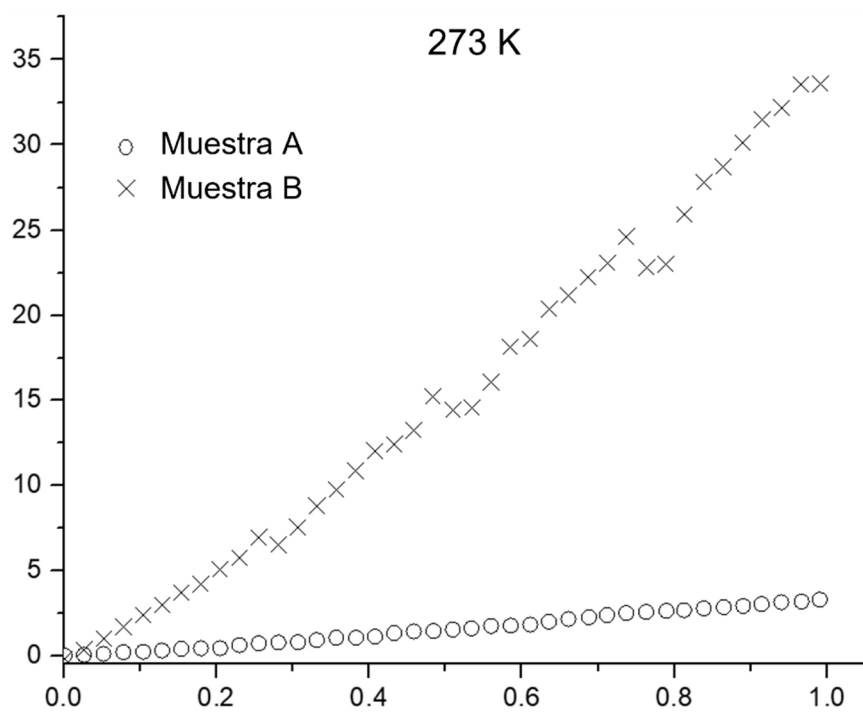


Fig. 3A

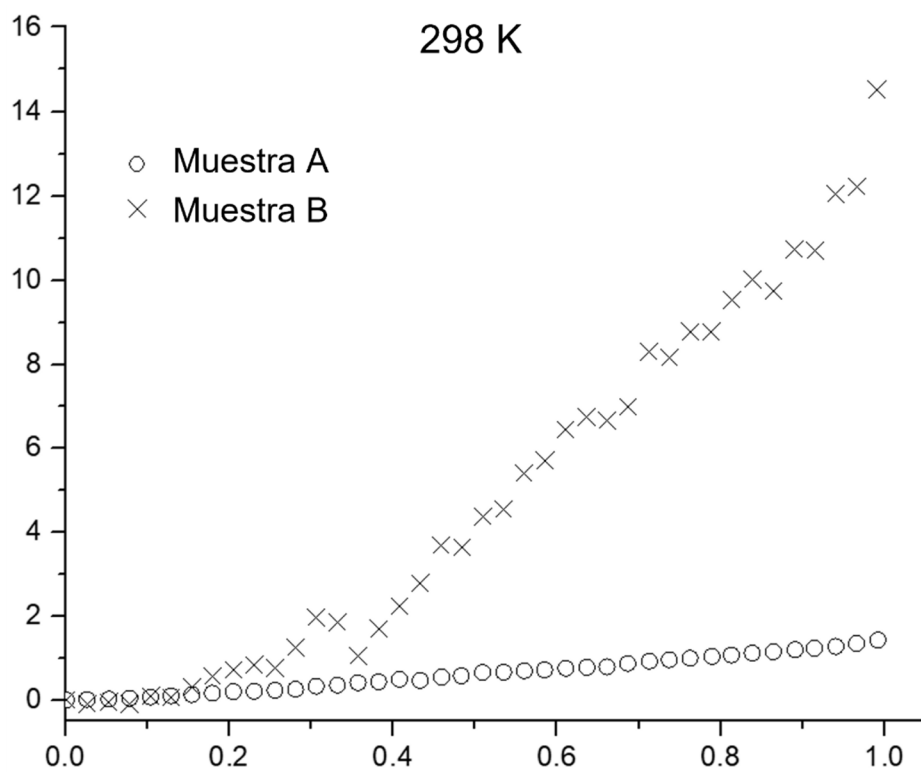


Fig. 3B

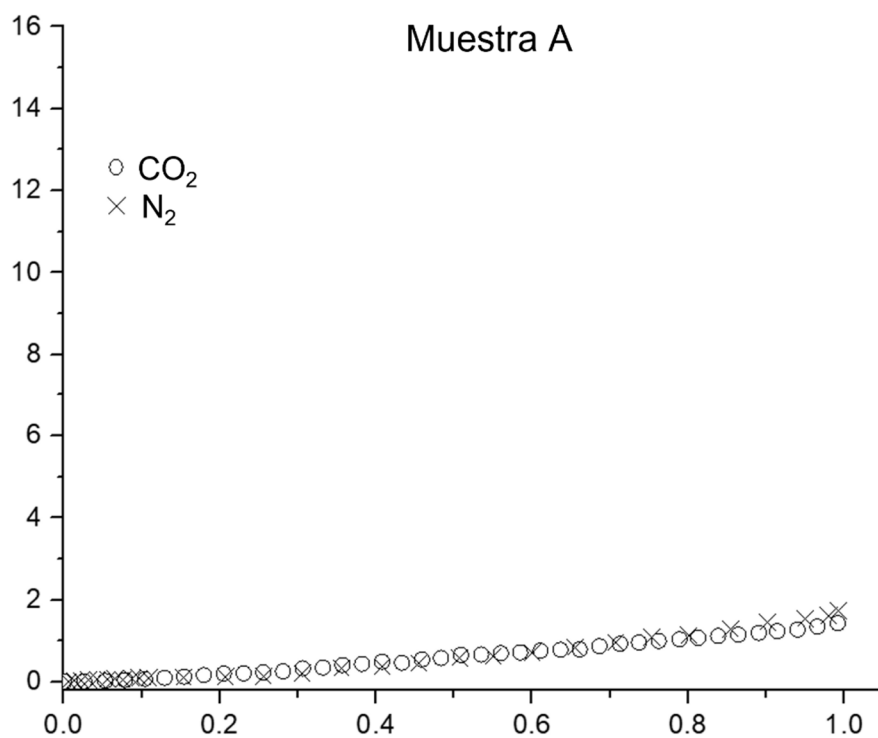


Fig. 4A

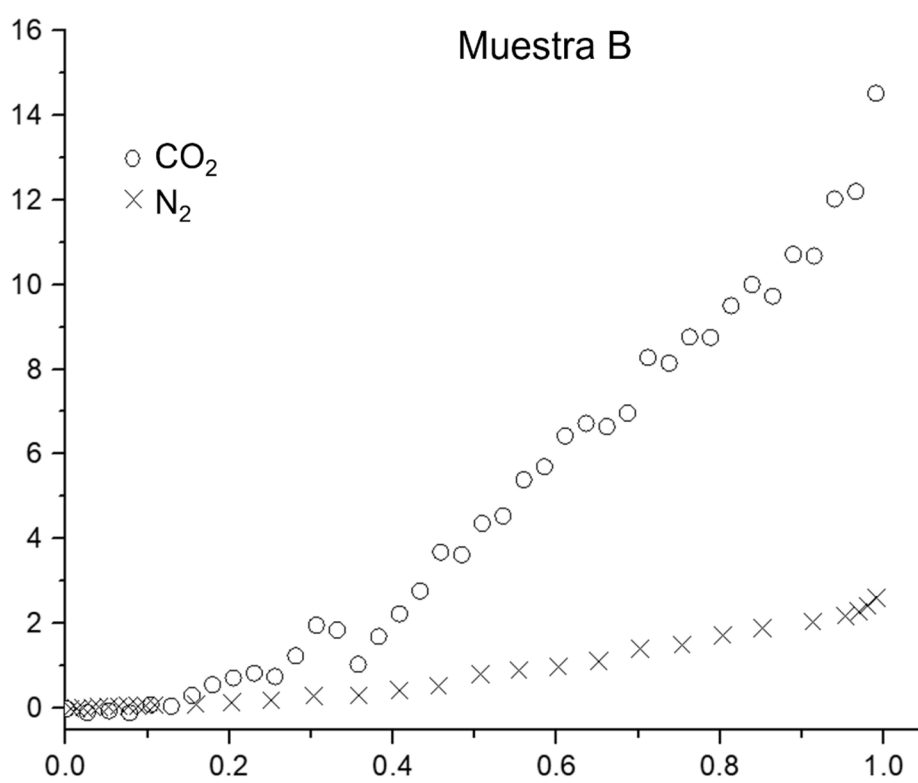


Fig. 4B



- ②① N.º solicitud: 202231097
②② Fecha de presentación de la solicitud: 22.12.2022
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	PEREIRA FS. "ESTUDOS DE BIOPOLÍMEROS A BASE DE QUITINA E QUITOSANA QUIMICAMENTE TRANSFORMADOS PARA QUELAÇÃO DE METAIS E PARA A CAPTURA E FIXAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO", UNESP- UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. "JULIO DE MESQUITA FILHO" LABORATÓRIO DE QUÍMICA ORGÂNICA FINA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS – POSMAT, Tesis doctoral, 2016 [en línea] [recuperado el 16/06/2023]. Recuperado de internet: https://repositorio.unesp.br/handle/11449/139534 , todo el documento; en particular: resumen (último párrafo); apartados 3.2.5, 3.2.17, 4.1, 4.1.2, 4.7.2 y conclusiones (primer y último párrafos).	1-3
A	BONARDD SEBASTIAN et al.: "Porous chitosan-based nanocomposites containing gold nanoparticles. Increasing the catalytic performance through film porosity", International Journal of Biological Macromolecules, 20220727 ELSEVIER BV, NL. Adali Terin, 27/07/2022, Vol. 217, Páginas 864 - 877, ISSN 0141-8130, DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2022.07.197, todo el documento; en particular: apartado 2.2. "Nanocomposite preparation and catalytic assessment".	1-3
A	CN 108607510 A (UNIV NORTHWEST MINZU) 02/10/2018	1-3
A	CN 113797897 A (XIAN GREEN CARBON RESOURCES RECYCLING TECH CO LTD) 17/12/2021	1-3
A	KR 20210070749 A (UNIV KONKUK IND COOP CORP) 15/06/2021	1-3
A	CN 111604028 A (UNIV HEILONGJIANG) 01/09/2020	1-3

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
21.06.2023

Examinador
A. Maquedano Herrero

Página
1/2

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C08B37/08 (2006.01)**B01D53/62** (2006.01)**C08K5/23** (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C08B, B01D, C08K

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, BIOSIS, HCAPLUS, COMPENDEX, EMBASE, INSPEC, MEDLINE, XPESP, SCISEARCH, INTERNET