

CUPRINS

Lista de abrevieri

INTRODUCERE.....1/1

Partea I - STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII.....7

CAPITOLUL I. BIOMATERIALE DE TIP HIDROGEL PE BAZĂ DE POLIZAHARIDE ȘI FITOCOMPUȘI: OBȚINERE, PROPRIETĂȚI, APLICAȚII.....7

I.1. Polizaharide: clasificare, surse, proprietăți, aplicații.....7

I.1.1. Polizaharide de origine marină.....7

I.1.2. Polizaharide din plante.....9

I.1.3. Polizaharide de origine bacteriană.....10

I.1.4. Polizaharide de origine animală.....11

I.2. Fitocompuși: structură, proprietăți și provocări.....12

I.3. Metode de stabilizare a fitocompușilor în hidrogeluri pe bază de polizaharide14

I.3.1. Metode fizice.....15

I.3.2. Metode covalente.....17

I.3.2.1. Grefarea mediată de radicali liberi.....17

I.3.2.2. Grefarea mediată de enzime.....17

I.3.2.3. Grefarea prin intermediul complexului polifenol-boronat.....18

I.3.2.4. Reacția de cuplare prin intermediul perechii EDC/NHS20

I.3.2.5. Grefarea prin formare de baze Schiff20

I.4. Proprietățile sistemelor hibride de tip hidrogel/fitocompuși.....21

I.4.1. Strategii de proiectare a hidrogelurilor pe bază de polizaharide.....21

I.4.2. Biomateriale hibride de tip hidrogel/fitocompuși sub formă de filme/membrane.....29

I.4.3. Biomateriale hibride poroase de tip hidrogel/fitocompuși.....31

I.4.4. Biomateriale hibride de tip hidrogel/fitocompuși sub formă de microparticule.....33

I.4.5. Biomateriale hibride de tip hidrogel/fitocompuși sub formă de fibre.....35

I.5. Aplicații ale biomaterialelor hibride pe bază de polizaharide și fitocompuși.....35

I.5.1. Aplicații biomedicale.....35

I.5.1.1. Managementul clinic al plăgilor.....35

I.5.1.2. Sisteme inteligente de eliberare controlată.....38

I.5.2. Aplicații în industria alimentară.....40

I.6. Concluzii, provocări și perspective.....44

Partea a II-a - CONTRIBUȚII ORIGINALE.....47/4

CAPITOLUL II. BIOMATERIALE MULTIFUNCȚIONALE DE TIP CRIOGEL PE BAZĂ DE XANTAN ȘI EXTRACTE BOGATE ÎN MONOMERI ANTOCIANICI.....47/4

II.1. Considerații generale.....47

II.2. Obținerea și caracterizarea chimică a extractelor bogate în monomeri antocianici..49/4

II.2.1. Extracte polifenolice din *Vaccinium myrtillus* L., *Ribes nigrum* L., *Rubus fruticosus* L.....49

II.2.2. Caracterizarea chimică a extractelor polifenolice din fructe de pădure.....49

II.2.2.1. Caracterizarea chimică calitativă.....49

II.2.2.2. Caracterizarea chimică cantitativă.....55

II.2.3. Activitatea antioxidantă *in vitro* a extractelor polifenolice.....57

II.2.4. Stabilitatea extractelor polifenolice.....59

II.3. Biomateriale hibride pe bază de xantan și extracte din <i>Vaccinium myrtillus</i> L.....	62/4
II.3.1. Prepararea criogelurilor hibride pe bază de xantan și extract de <i>Vaccinium myrtillus</i> L.....	62
II.3.2. Caracterizarea structurală și morfologică a biomaterialelor hibride.....	67
II.3.3. Proprietățile mecanice și reologice.....	72
II.3.4. Comportarea la umflare.....	76
II.3.5. Proprietățile antioxidante și antimicrobiene.....	78
II.3.6. Stabilitatea colorimetrică a biomaterialelor hibride.....	81
II.3.6.1. Variația de culoare în funcție de pH și timp.....	81
II.3.6.2. Variația de culoare în condiții normale de expunere.....	83
II.3.6.3. Evaluarea biomaterialelor hibride ca senzori de pH.....	84
II.3.6.4. Concluzii.....	87

CAPITOLUL III. BIOMATERIALE MULTIFUNCȚIONALE DE TIP CRIOGEL PE BAZĂ DE CHITOSAN ȘI CURCUMINĂ.....90/10

III.1. Considerații generale.....	90
III.2. Criogeluri pe bază de chitosan reticulat cu glutaraldehidă.....	91/10
III.2.1. Evaluarea condițiilor optime de obținere a matricilor pe bază de chitosan – criogelifiere <i>versus</i> gelifiere convențională.....	91
III.2.2. Caracterizarea structurală și morfologică.....	94
III.2.3. Proprietățile mecanice și comportarea la umflare.....	98
III.2.4. Proprietățile antimicrobiene.....	101
III.3. Biomateriale hibride pe bază de chitosan și curcumină.....	102/12
III.3.1. Încapsularea curcuminei în matricile poroase pe bază de chitosan reticulat cu glutaraldehidă.....	102
III.3.2. Caracterizarea structurală și morfologică a biomaterialelor hibride.....	104
III.3.3. Proprietățile antioxidante.....	106
III.3.4. Eliberarea <i>in vitro</i> a curcuminei din matricile poroase pe bază de chitosan reticulat cu glutaraldehidă.....	107
III.3.5. Concluzii.....	109

CAPITOLUL IV. BIOMATERIALE MULTIFUNCȚIONALE DE TIP CRIOGEL PE BAZĂ DE DERIVAȚI DE CHITOSAN ȘI UN EXTRACT DE *HYPERICUM*

<i>PERFORATUM</i> L.....	111/14
IV.1. Considerații generale.....	111
IV.2. Criogeluri pe bază de chitosan funcționalizat cu tiouree.....	112/14
IV.2.1. Evaluarea condițiilor optime de obținere a matricilor pe bază de chitosan și chitosan modificat cu tiouree.....	112
IV.2.2. Caracterizarea structurală și morfologică.....	114
IV.2.3. Proprietățile mecanice și activitatea antimicrobiană.....	118
IV.3. Obținerea și caracterizarea extractului de <i>Hypericum perforatum</i> L.....	120/15
IV.3.1. Analiza chimică calitativă a extractului.....	121
IV.3.2. Analiza chimică cantitativă a extractului.....	124
IV.3.3. Activitatea antioxidantă <i>in vitro</i> a extractului de sunătoare.....	125
IV.3.4. Citocompatibilitatea <i>in vitro</i> a extractului de sunătoare.....	126
IV.4. Biomateriale hibride pe bază de derivați de chitosan și extract de <i>Hypericum perforatum</i> L.....	128/15
IV.4.1. Prepararea criogelurilor hibride pe bază de chitosan modificat cu tiouree și extract de <i>Hypericum perforatum</i> L.....	128
IV.4.2. Caracterizarea structurală și morfologică.....	132

IV.4.3. Proprietățile de umflare în soluții apoase.....	135
IV.4.4. Proprietățile mecanice.....	136
IV.4.5. Proprietățile antioxidante și antimicrobiene.....	139
IV.4.6. Evaluarea <i>in vitro</i> a citocompatibilității.....	142
IV.4.7. Concluzii.....	144

CAPITOLUL V. BIOMATERIALE MULTIFUNCȚIONALE DE TIP CRIOGEL PE BAZĂ DE CHITOSAN DUBLU RETICULAT ȘI TIMOL.....146/20

V.1. Considerații generale.....	146
V.2. Criogeluri pe bază de chitosan și cvasol.....	148/20
V.2.1. Evaluarea condițiilor optime de obținere a rețelelor dublu reticulate.....	148
V.2.2. Caracterizarea structurală și morfologică.....	149
V.2.3. Proprietățile mecanice și comportarea la umflare.....	156
V.3. Biomateriale hibride pe bază de chitosan dublu reticulat și timol.....	161/22
V.3.1. Proprietățile antioxidante.....	162
V.3.2. Proprietățile antibacteriene.....	162
V.3.3. Concluzii.....	164

CAPITOLUL VI. MATERIALE ȘI METODE.....161

VI.1. Materiale.....	169
VI.2. Obținerea extractelor vegetale.....	169
VI.2.1. Obținerea extractelor vegetale bogate în monomeri antocianici.....	169
VI.2.2. Obținerea extractului de <i>Hypericum perforatum</i> L.....	170
VI.3. Caracterizarea extractelor vegetale.....	171
VI.3.1. Determinarea conținutului în polifenoli totali.....	171
VI.3.2. Determinarea conținutului în flavonoide totale.....	172
VI.3.3. Determinarea conținutului total în monomeri antocianici.....	173
VI.3.4. Analiza chimică calitativă prin cromatografie pe strat subțire.....	174
VI.3.5. Analiza chimică calitativă prin HPLC.....	175
VI.3.6. Stabilitatea extractului de <i>Vaccinium myrtillus</i> L.....	177
VI.4. Metode de preparare a biomaterialelor de tip criogel.....	177
VI.4.1. Prepararea matricilor poroase pe bază de xantan.....	177
VI.4.1.1. Prepararea matricilor poroase pe bază de xantan și alcool polivinilic.....	177
VI.4.1.2. Prepararea matricilor poroase pe bază de xantan dublu reticulat.....	178
VI.4.1.3. Prepararea matricilor hibride pe bază de xantan și extract de <i>Vaccinium myrtillus</i> L.....	178
VI.4.2. Prepararea matricilor poroase pe bază de chitosan.....	178
VI.4.2.1. Prepararea matricilor poroase pe bază de chitosan și glutaraldehidă.....	178
VI.4.2.2. Prepararea matricilor hibride poroase pe bază de chitosan, glutaraldehidă și curcumină.....	179
VI.4.2.3. Prepararea matricilor poroase pe bază de chitosan reticulat cu formaldehidă și modificat cu tiouree.....	179
VI.4.2.4. Prepararea biomaterialelor hibride pe bază de chitosan modificat cu tiouree și extract de <i>Hypericum perforatum</i> L.....	180
VI.4.2.5. Prepararea matricilor poroase pe bază de chitosan reticulat cu glutaraldehidă și cvasol.....	180
VI.4.2.6. Prepararea biomaterialelor hibride pe bază de chitosan, glutaraldehidă, cvasol și timol.....	181
VI.5. Caracterizarea biomaterialelor.....	182
VI.5.1. Randamentul în fracție gel.....	182

VI.5.2. Densitatea.....	182
VI.5.3. Porozitatea.....	182
VI.5.4. Spectroscopia în infraroșu cu transformată Fourier.....	183
VI.5.5. Spectroscopia de rezonanță magnetică.....	183
VI.5.6. Microscopia electronică de baleiaj.....	183
VI.5.7. Microscopia de forță atomică.....	184
VI.5.8. Teste de compresie uniaxială.....	184
VI.5.9. Studii de reologie în regim rotațional și oscilator.....	185
VI.5.10. Studii de umflare.....	185
VI.5.11. Capacitatea de umectare a suprafeței materialelor.....	186
VI.6. Determinarea parametrilor de încărcare a matricilor cu fitocompuși.....	186
VI.7. Eliberarea <i>in vitro</i> a curcuminei.....	187
VI.8. Analiza colorimetrică a matricilor poroase pe bază de xantan și extract de <i>Vaccinium myrtillus</i> L.....	188
VI.8.1. Evaluarea răspunsului la amoniac.....	188
VI.8.2. Evaluarea capacității de monitorizare a prospețimii.....	189
VI.9. Determinarea activității antioxidante.....	189
VI.9.1. Determinarea activității antioxidante a fitocompușilor.....	189
VI.9.2. Determinarea activității antioxidante a biomaterialelor.....	190
VI.10. Determinarea activității antimicrobiene.....	191
VI.10.1. Metoda diluției.....	191
VI.10.2. Metoda difuzimetrică.....	192
VI.11. Evaluarea <i>in vitro</i> a citocompatibilității.....	192

CONCLUZII GENERALE.....	194/24
--------------------------------	---------------

PERSPECTIVE.....	197/27
-------------------------	---------------

DISEMINAREA REZULTATELOR

BIBLIOGRAFIE

ANEXE

Mulțumiri

*Cele mai sincere mulțumiri și sentimente de recunoștință se îndreaptă către dna **CS II Dr. Maria Valentina Dinu** și către dna **Prof. Univ. Dr. Ana Clara Aprotosoai**e care, cu multă răbdare, grijă și profesionalism mi-au călăuzit pașii într-un domeniu nou ce a îmbinat armonios formarea mea de farmacist cu pasiunea pentru chimie.*

*Adresez mulțumiri și aleasă recunoștință dlui **CS III Dr. Claudiu-Augustin Ghiorghiță** pentru îndrumarea academică acordată, pentru răbdarea nemărginită și pentru toate discuțiile științifice pe care le-am avut de-a lungul acestor frumoși ani.*

*Mulțumesc membrilor comisiei de îndrumare **CS Dr. Irina-Elena Răschip**, **CS II Dr. Raluca Darie-Niță** și **Prof. Univ. Dr. Doina Humelnicu** pentru sprijinul și orientarea oferite.*

*Mulțumesc membrilor comisiei de doctorat, dnei **Prof. Univ. Dr. Anca Miron**, dlui **CS I Dr. Sergiu Coșeri** și dlui **Prof. Univ. Dr. Leonard Atanase** pentru amabilitatea de a evalua teza de doctorat și pentru sugestiile formulate.*

*Deosebite mulțumiri dnei **CS I Dr. Ecaterina Stela Drăgan** pentru colaborarea frumoasă și pentru sprijinul acordat, dar și pentru discuțiile plăcute despre chimie și viață.*

*Mulțumiri dnei **Martha Marcu** pentru încurajări, pentru plăcinte și ceaiuri, dar și pentru tot ajutorul oferit.*

*Distinse mulțumiri tuturor colegilor din cadrul **Laboratorului „Polimeri Funcționali”**, dar și celor din cadrul **Disciplinei de Farmacognozie** a Universității de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa” pentru îndrumarea oferită.*

*Dragilor mei părinți, **Rodica și Eugen-Cătălin**, le mulțumesc enorm pentru răbdare, pentru educația oferită și pentru susținerea necondiționată. De asemenea, calde mulțumiri se îndreaptă și către soțul meu, **Gabriel** pentru încurajarea constantă oferită pe tot parcursul elaborării tezei.*

*Mulțumiri **Academiei Române** și **UEFISCDI** pentru suportul financiar acordat în perioada stagiului doctoral.*

Cu stimă,

Ioana-Victoria Platon (căs. Bratu-Platon)

INTRODUCERE

Biomaterialele constituie o clasă de materiale biocompatibile, special concepute pentru a interacționa cu sistemele biologice (Biobaku-Mutingwende, 2021; Malviya și Sundram (eds.), 2023), multifuncționalitatea referindu-se la capacitatea lor de a îndeplini simultan mai multe funcții, precum stimularea regenerării tisulare, prevenirea infecțiilor sau eliberarea controlată a unor agenți terapeutici (Swartjes, 2017). În această teză, biomaterialele studiate sunt bazate pe polimeri naturali și molecule bioactive naturale, două clase de compuși cu potențial ridicat în dezvoltarea de sisteme terapeutice avansate.

În ultimele decenii s-au dezvoltat numeroase strategii bazate pe încorporarea moleculelor bioactive naturale în matrici polimerice, urmărindu-se îmbunătățirea stabilității, solubilității și controlul eliberării acestora. Printre sistemele polimerice utilizate în acest scop se numără hidrogelurile, lipozomii, emulsiile sau nanoparticulele (Hu M. și colab., 2022; Li Q. și colab., 2021; Siraj și colab., 2021). Dintre acestea, hidrogelurile au atras un interes deosebit datorită structurii lor tridimensionale, capabile să absoarbă cantități mari de apă fără a se dizolva, imitând astfel caracteristicile mecanice și viscoelastice ale țesuturilor biologice (Dragan și Dinu, 2020; Zheng și Xiao, 2023; Zheng B.-D. și colab., 2023). Cercetările actuale au arătat că încapsularea polifenolilor și terpenelor/uleiurilor volatile (ULV) în hidrogeluri pe bază de polizaharide este o abordare promițătoare pentru: (i) prevenirea oxidării și volatilizării acestora, (ii) îmbunătățirea stabilității și solubilității lor în apă, (iii) prelungirea termenului de valabilitate, (iv) creșterea biodisponibilității și eficacității acestora și (v) eliberarea controlată în organism (Ding și colab., 2022; Madamsetty și colab., 2023; Sudheer și colab., 2023). În consecință, hidrogelurile hibride pe bază de polizaharide/polifenoli sau polizaharide/ULV sub diverse forme (filme/membrane, microparticule, fibre) (Ghiorghita, **Platon** și colab., 2024) s-au remarcat drept sisteme inovatoare pentru numeroase aplicații, inclusiv pentru eliberarea de substanțe medicamentoase, inginerie tisulară, tratamentul rănilor, ambalaje alimentare și/sau chiar alimente funcționale.

Datele de literatură evidențiază faptul că prepararea hidrogelurilor studiate anterior presupune adesea încălzirea amestecurilor precursorare la temperaturi mai mari de 50 °C pentru gelifiere, utilizarea unor fotoinițiatori și a iradierii UV sau a unor inițiatori chimici pentru realizarea reticulării ori prelucrarea intensivă pentru a obține materialele finale. Având în vedere aceste aspecte, pentru prepararea sistemelor hibride hidrogel/compuși

bioactivi prezentate în teza de față a fost aleasă tehnica criogelifierii, o metodă simplă, ce evită încălzirea, protejând astfel bioactivitatea fitocompușilor. De asemenea, în această tehnică se utilizează apa drept solvent având astfel impact redus asupra mediului și permițând o purificare facilă a biomaterialelor. Printre avantajele studiilor descrise în teză se numără și folosirea unor cantități mici de agenți de reticulare (acolo unde a fost cazul) cu toxicitate redusă pentru organism. Din punct de vedere al proprietăților, spre deosebire de hidrogeluri, criogelurile posedă porozitate mai mare, grad mai ridicat de interconectare a porilor, contribuind la o încapsulare mai eficientă și mai uniformă a compușilor bioactivi, dar și densitate redusă și rezistență mecanică mare indiferent de modul de stabilizare (reticulare fizică sau chimică). Tehnica criogelifierii permite obținerea gelurilor utilizând concentrații foarte mici de reactanți datorită faptului că reticularea are loc în microfaza neînghețată și nu în întreaga masă ca la gelifierea convențională ce are loc la temperatura camerei. În plus, autenticitatea derivă și din faptul că extractele vegetale obținute provin din specii indigene din flora spontană sau cultivate în arealul regiunii istorice Moldova, acestea fiind puțin studiate în literatură ca parte a unor biomateriale de tip hidrogeluri.

În acest context, principalele **obiective științifice** ale tezei de doctorat „*Proiectarea de noi biomateriale multifuncționale pe bază de polimeri și diferite molecule bioactive naturale*” au fost:

- Obținerea și caracterizarea extractelor de *Vaccinium myrtillus* L., *Ribes nigrum* L. și *Rubus fruticosus* L. în vederea alegerii extractului potrivit pentru includerea în biomaterialele pe bază de Xn;

- Obținerea și caracterizarea extractului de *Hypericum perforatum* L.;

- Prepararea criogelurilor pe bază de Xn, respectiv CS și optimizarea condițiilor de preparare/compoziției prin analiza proprietăților morfologice, mecanice, de umflare și antimicrobiene;

- Obținerea biomaterialelor hibride prin includerea fitocompușilor/extractelor vegetale selectate în matricile preparate;

- Caracterizarea structurală, morfologică, precum și evaluarea proprietăților mecanice și de umflare a biomaterialelor hibride realizate;

- Urmărirea unor proprietăți specifice biomaterialelor conținând compuși bioactivi (precum stabilitatea, răspunsul la variații de pH, proprietățile antioxidante și antimicrobiene, eliberarea controlată a principiilor active, citocompatibilitate).

Teza de doctorat „*Proiectarea de noi biomateriale multifuncționale pe bază de polimeri și diferite molecule bioactive naturale*” este structurată în două părți care cuprind 6 capitole, după cum urmează:

Partea I a acestei teze de doctorat (**Capitolul I**) oferă o analiză cuprinzătoare a stadiului actual al cercetărilor privind biomaterialele hibride pe bază de polizaharide și compuși bioactivi, fiind evidențiate metodele de obținere, proprietățile funcționale și principalele direcții de aplicare (cum ar fi vindecarea rănilor, eliberarea de substanțe medicamentoase, alimentele funcționale și ambalajele alimentare).

Partea a II-a (Capitolul II-VI), prezintă contribuțiile originale ale cercetării, concretizate în elaborarea și caracterizarea unor biomateriale inovatoare de tip criogel, cu funcționalități multiple și potențial aplicativ în domeniul biomedical și alimentar. **Capitolul II** prezintă atât obținerea și caracterizarea extractelor din *Vaccinium myrtillus* L., *Ribes nigrum* L. și *Rubus fruticosus* L., cât și obținerea și caracterizarea biomaterialelor hibride de tip criogel pe bază de Xn și astfel de extracte bogate în monomeri antocianici. De asemenea, este evidențiată și stabilitatea materialelor preparate, capacitatea acestora de a răspunde la variații de pH și de monitorizare a prospețimii alimentelor. **Capitolul III** prezintă optimizarea condițiilor de obținere a biomaterialelor de tip criogel pe bază de CS, urmată de încorporarea curcuminei (CCM) în matricile selectate și evidențierea proprietăților. În plus, este explorată și abilitatea matricei de a asigura o eliberare controlată a CCM. **Capitolul IV** abordează obținerea și caracterizarea extractului de *Hypericum perforatum* L., dar și optimizarea condițiilor de preparare în vederea obținerii criogelurilor pe bază de CS funcționalizat cu tiouree capabile să încorporeze extractul de *Hypericum perforatum* L. **Capitolul V** are drept obiectiv dezvoltarea unor biomateriale de tip criogel pe bază de CS dublu reticulat și un terpenoid volatil (timol), fiind evidențiate atât aspecte preparative, cât și caracteristicile materialelor. **Capitolul VI** cuprinde materialele și metodele de lucru utilizate pentru realizarea studiilor. În încheierea tezei sunt prezentate **concluziile generale** rezultate din studiile efectuate alături de **perspective**, bibliografia și activitatea de **diseminare a rezultatelor** obținute pe parcursul stagiului doctoral.

PARTEA A II-A. CONTRIBUȚII PERSONALE

CAPITOLUL II. BIOMATERIALE MULTIFUNCȚIONALE DE TIP

CRIOGEL PE BAZĂ DE XANTAN ȘI EXTRACTE BOGATE ÎN

MONOMERI ANTOCIANICI

II.2. Obținerea și caracterizarea chimică a extractelor bogate în monomeri antocianici

Într-o primă etapă s-a urmărit obținerea extractelor polifenolice din trei specii de fructe de pădure cunoscute pentru conținutul ridicat în antociani: afine (*Vaccinium myrtillus* L., **Af**), coacăze negre (*Ribes nigrum* L., **C**) și mure (*Rubus fruticosus* L., **MB** și **MS**). După obținere, extractele polifenolice au fost caracterizate prin metode chimice, metode cromatografice, dar și din punct de vedere al activității antioxidante *in vitro*. De asemenea, s-a evaluat și stabilitatea lor în funcție de pH și timp. Determinările fitochimice au arătat că extractul de **Af** s-a remarcat printr-un profil polifenolic bogat (803 mg echivalenți acid galic/100 g PV), caracterizat prin prezența glicozidelor flavonoidice (rutozidă, hiperozidă etc.), acizilor fenolici (acidul clorogenic) și antocianozide (**cianidin-3-glucozidă**, **C3G**). Evaluarea activității antioxidante *in vitro* a evidențiat potențialul superior al extractului de **Af** de inhibare a radicalului liber 2,2-difenil-picril-hidrazil (peste 80% după 5 minute; $EC_{50} = 46,16 \mu\text{g/mL}$). Din aceste considerente, extractul de **Af** a fost selectat pentru a fi studiat în continuare.

II.3. Biomateriale hibride pe bază de xantan și extracte din *Vaccinium myrtillus* L.

Necesitatea încapsulării extractului de **Af** în matrici polimerice a fost evidențiată de stabilitatea limitată în soluții apoase (2 -12 zile, în funcție de pH). Astfel, partea a doua a studiului experimental a urmărit dezvoltarea și caracterizarea sistemelor hibride pe bază de Xn și extract de **Af**. Pentru a determina modul în care strategia de preparare și compoziția influențează proprietățile biomaterialelor, s-au obținut criogeluri pe bază de Xn și APV prin cicluri de îngheț-dezgheț (**CG/S1.x**) (**Figura II.10A**), precum și criogeluri pe bază de Xn reticulate chimic cu 1,4-butandiol-diglicidil eter, uscate fie prin liofilizare (**CG/S2a.x**), fie la etuvă (**CG/S2b.x**) (**Figura II.10B**).

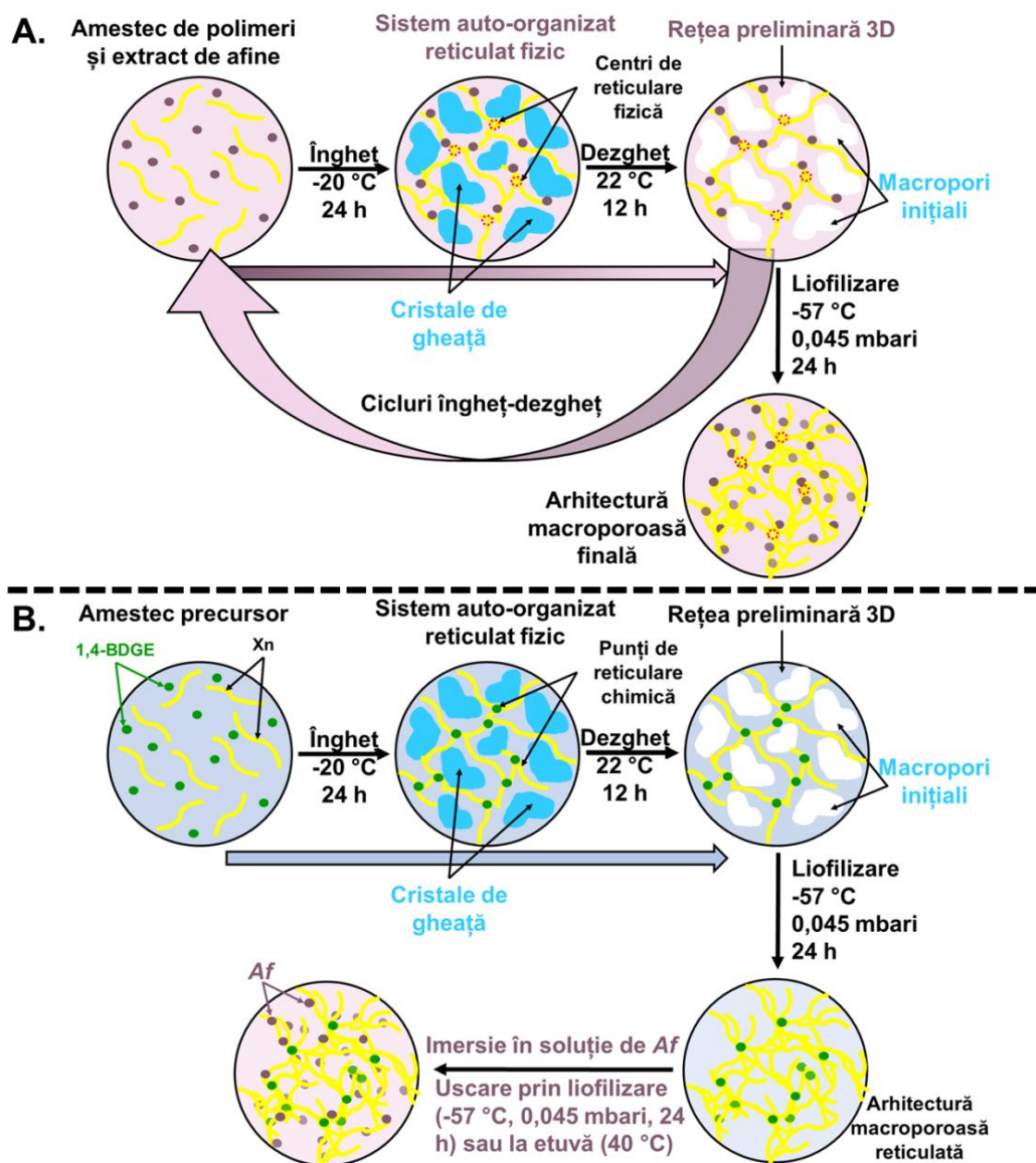


Figura II.10. Reprezentarea schematică a etapelor parcurse la obținerea criogelurilor hibride pe bază de Xn și extracte din *Vaccinium myrtillus* L. (A) **strategia 1**: amestecul de polimeri (Xn și APV) și extract de Af a fost supus la trei cicluri succesive de îngheț-dezghițet, apoi a fost liofilizat; (B) **strategia 2**: criogenarea amestecului precursor (Xn și agent de reticulare – 1,4-BDGE) a fost urmată de dezghițetarea, purificarea și uscarea fie prin liofilizare, fie la etuvă și sorbția extractului de Af finalizată printr-o nouă etapă de uscarea prin liofilizare.

Valorile randamentului în fracție de gel (RFG) au crescut odată cu creșterea conținutului de extract de Af (de la 78,41% la 87,64%) din matricile de tip criogel, ceea ce indică o creștere a stabilității gelurilor reticulate fizic prin adăugarea extractului. Această stabilitate sporită se datorează consolidării structurii 3D finale prin legături de hidrogen

și/sau interacțiuni π - π între grupele funcționale ale Xn, APV și cele ale compușilor identificați în extractul de *Af* (rutozidă, acid clorogenic, hiperozidă, C3G). În cazul matricilor dublu reticulate, s-a observat că metoda de uscare influențează semnificativ valorile *RFG*, acestea fiind mai mari atunci când uscarea s-a realizat în etuvă.

Includerea extractului de *Af* a fost confirmată de analiza FTIR, iar analiza SEM a evidențiat o morfologie poroasă în cazul criogelurilor liofilizate (**Figura II.15**). Pe de altă parte, filmele (**CG/S2b.x**, **Figura II.15**) au prezentat o structură continuă, metoda de uscare conducând la colapsarea porilor formați prin criogelifiere. Dimensiunile medii ale porilor și pereților porilor depind de compoziția materialelor. Adăugarea unei cantități mai mare de extract conduce atât la formarea de pereți cu o structură mult mai compactă, cât și la diminuarea semnificativă a dimensiunii medii a porilor de la 132,53 μm (**CG/S1.0**) la 42,66 μm (**CG/S1.3**). Aceste caracteristici sunt consecința directă a creșterii densității de interacțiuni fizice determinată de prezența extractului polifenolic de *Af*.

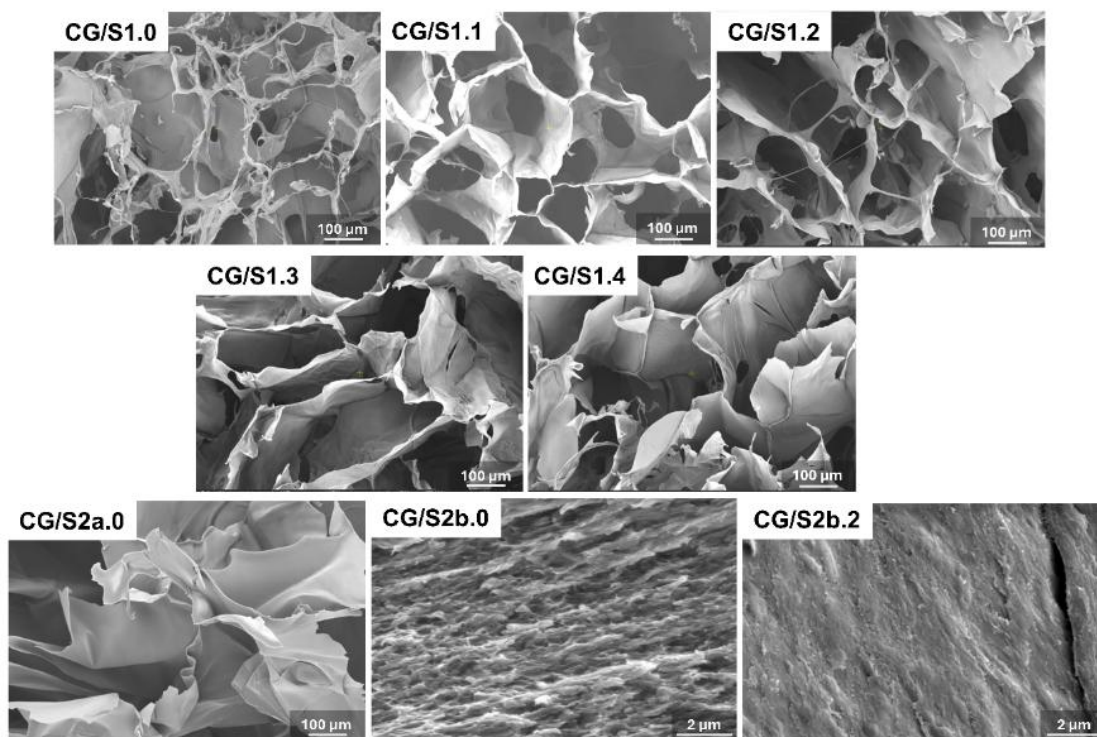


Figura II.15. Micrografiile SEM pentru criogelurile pe baza de Xn cu diverse compoziții.

Creșterea cantității de extract din compoziția biomaterialelor a influențat proprietățile mecanice. În cazul criogelurilor liofilizate a condus la rigidizarea matricii și îmbunătățirea rezistenței la compresie (de la 215 kPa, **CG/S1.0** la 247 kPa, **CG/S1.4**). Matricile dublu reticulate s-au evidențiat prin valori mai mari ale rezistenței la compresie, între 340-498

kPa, datorită ranforsării suplimentare oferite de reticularea chimică. De asemenea, încorporarea extractului a accentuat caracterul hidrofob al criogelului (prin creșterea valorilor unghiului de contact de la 75° **CG/S1.0** la 87°, **CG/S1.2**) și a redus raportul de umflare de la 53 la 39. Matricile pe bază de Xn au fost capabile să păstreze activitatea antioxidantă a extractului, **CG/S1.4** inhibând radicalul liber DPPH în proporție de 93%. De asemenea, prezența acestui extract a avut rol benefic asupra capacității de inhibare a creșterii bacteriene atingând o eficacitate de 100% în cazul tulpinilor standard de *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* și *Listeria monocytogenes*.

Un alt aspect important a fost stabilitatea crescută a extractului datorită includerii în biomaterialele pe bază de Xn, evidențiată prin menținerea relativ constantă a parametrilor colorimetrici timp de 42 de zile (sub influența unui pH acid sau alcalin, **Figura II.25**) sau până la 50 de zile în condiții normale (**Figura II.26**).

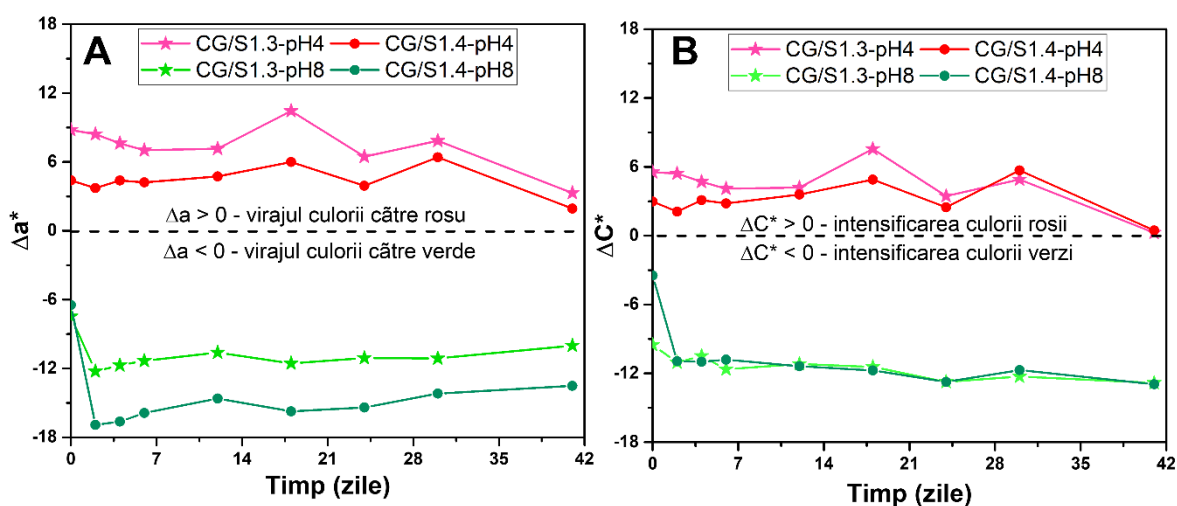


Figura II.25. Variația de culoare pe axa de culoare roșu – verde, a^* (A) și a cromaticității C^* (B) pentru criogelurile Xn-APV cu conținut diferit de extract de Af la pH = 4 și pH = 8.

Criogelul **CG/S2a.1** stabilizat prin reticulare chimică a prezentat un timp de răspuns rapid (< 1 h) și o diferență colorimetrică detectabilă ($\Delta E > 5$) la concentrații de amoniac cuprinse între 50 și 200 ppm (**Figura II.27A**), ceea ce a permis testarea sa ca potențial indicator de prospețime pentru alimente bogate în proteine. A fost demonstrată și reversibilitatea virajului culorii criogelului, aceasta trecând de la roz la albastru în contact cu vaporii de amoniac și apoi înapoi în roz în contact cu vaporii de acid acetic (**Figura II.27D**).

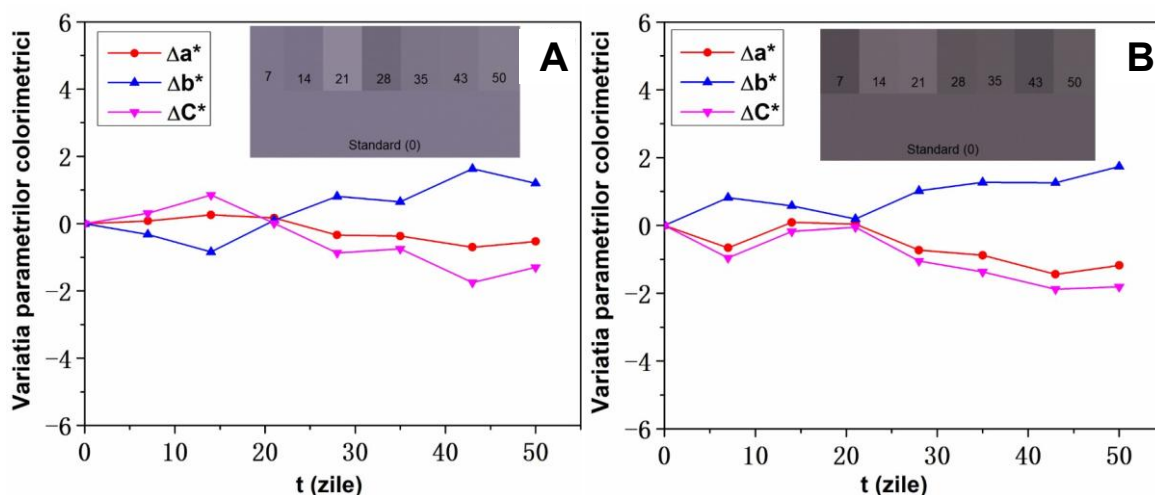


Figura II.26. Variația de culoare pe axa de culoare roșu – verde (a^*), galben-albastru (b^*) și a cromaticității pentru criogelurile **CG/S1.2** (A) și **CG/S2b.1** (B) (inset: simularea paletii de culori cu înregistrare în intervalele 7, 14, 21, 28, 35, 43, 50 zile)

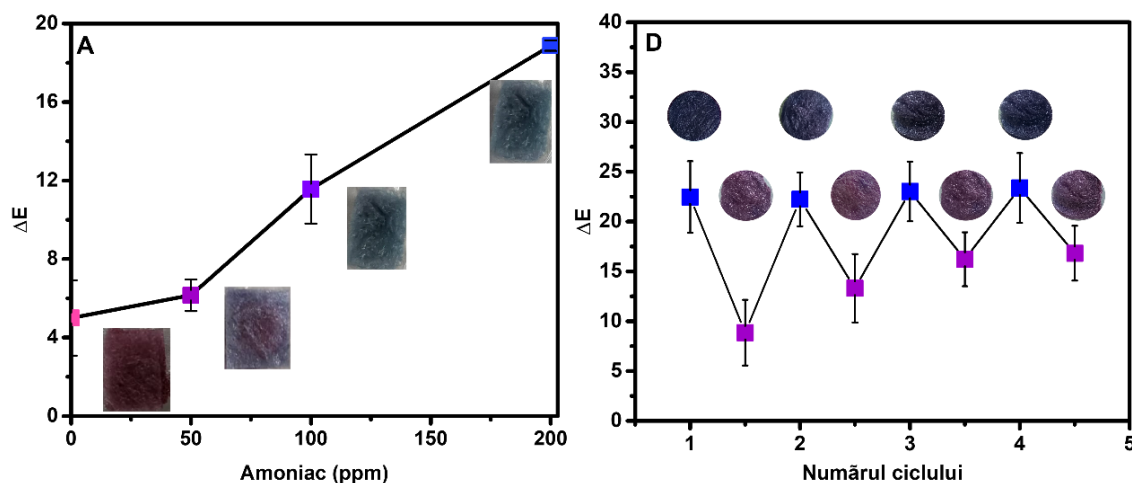


Figura II.27. (A) Diferența de culoare (ΔE) în cazul **CG/S2a.1** aflat în contact timp de o oră cu vaporii unor soluții de amoniac de diferite de concentrații. (D) Reversibilitatea culorii criogelului **CG/S2a.1** supus unor cicluri succesive de contact cu vaporii de amoniac, respectiv de acid acetic.

După expunerea succesivă la medii acide și alcaline de patru ori, criogelul și-a menținut capacitatea cromatogenă, prezentând astfel potențial de reciclare (**Figura II.27D**). Plasarea criogelului **CG/S2a.1** în contact cu două exemplare de caras timp de 24 h la 25 °C, respectiv patru zile la 4 °C a condus la schimbarea vizibilă a culorii criogelului, din roz în albastru, ca urmare a difuziei aminelor volatile din carnea aflată în descompunere (**Figura II.28**).

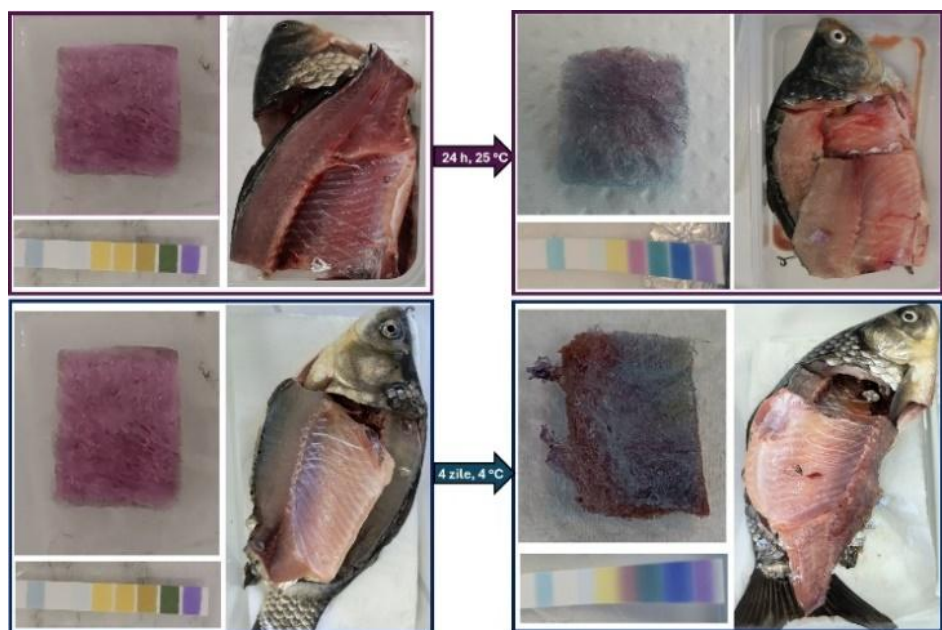


Figura II.28. Aspectul criogelului CG/S2a.1, a hârtiei de pH și a carasului înainte și după păstrarea la 25 °C timp de 24 de ore, respectiv la 4 °C timp de patru zile.

În concluzie, extractul de afine a fost stabilizat prin interacțiuni fizice în materialele pe bază de Xn preparate atât prin stabilizare fizică, cât și prin reticulare dublă. Aceste biomateriale hibride îmbină rezistența mecanică și stabilitatea structurală cu proprietățile antioxidante, antimicrobiene și cromatogene ceea ce le recomandă ca senzori de pH pentru aplicații de ambalaje alimentare inteligente.

CAPITOLUL III. BIOMATERIALE MULTIFUNCȚIONALE DE TIP CRIOGEL PE BAZĂ DE CHITOSAN ȘI CURCUMINĂ

III.2. Criogeluri pe bază de chitosan reticulat cu glutaraldehidă

În acest capitol s-a investigat prepararea unor noi sisteme pe bază de CS reticulat cu GA prin metoda criogelifierii, respectiv a gelifierii la temperatura camerei. Proprietățile gelurilor obținute au fost influențate de concentrația de CS, raportul de reticulare, și temperatura de gelifiere (Platon și colab., 2023).

Informații cu privire la compoziția, condițiile de preparare și aspectul tuturor hidrogelurilor poroase, precum și valorile randamentului în fracție de gel (*RFG*, %) și ale densității sunt prezentate în **Tabelul III.1**.

Tabel III.1. Condițiile de preparare, aspectul, *RFG* (%) și densitatea hidrogelurilor poroase de tip CS-GA.

Codul probei	CS, %	^a GA, %	^b GA, μmoli	^c T, °C	Aspect	^d <i>RFG</i> , %	^e Densitate (g/cm ³)
CG0.5GA5	0,5	5	0,14	-20	Opac, galben	86	0,00932
CG0.5GA7.5	0,5	7,5	0,22	-20	deschis	89	0,01066
CG0.5GA10	0,5	10	0,29	-20		89	0,01327
CG1GA5	1	5	0,14	-20		Opac, galben deschis	86
CG1GA7.5	1	7,5	0,22	-20	86		0,01357
CG1GA10	1	10	0,29	-20	87		0,01422
CG2GA5	2	5	0,14	-20	Opac, maro	97	0,01531
CG2GA7.5	2	7,5	0,22	-20	închis	97	0,01972
CG2GA10	2	10	0,29	-20		87	0,02145
HG0.5GA10	0,5	10	0,29	21	Nu se formează geluri		
HG1GA10	1	10	0,29	21	Nu se formează geluri		
HG2GA10	2	10	0,29	21	Transparent, galben deschis	94	

^a reprezintă concentrația soluțiilor stoc de GA, ^b reprezintă cantitatea de GA în μmoli adăugată în amestecul de reacție calculată la 1 mmol de NH₂, ^c temperatura de gelifiere.; ^{d, e} - media rotunjită a 3 măsurători.

Valorile *RFG* pentru matricile de tip criogel au variat între 86% și 89%, obținându-se geluri cu un randament foarte bun și atunci când s-a utilizat atât o concentrație mică de CS (0,5%), cât și o cantitate redusă de reticulant (0,14 μ moli). Acest fapt demonstrează faptul că prin criogelifiere pot fi obținute geluri la concentrații mici de reactanți fapt ce nu este posibil în cazul gelifierii convenționale la temperatura camerei.

Analiza structurală prin spectroscopie FTIR a confirmat reticularea cu succes a CS cu GA, iar examinarea morfologică prin SEM a evidențiat o structură poroasă, asemănătoare unui fagure de miere. Corelația dintre compoziție și dimensiunea porilor este cel mai bine evidențiată în cazul probelor *CG2GA5*, *CG2GA7.5* și *CG2GA10*, aceasta prezentând un trend descendent, concretizat printr-o creștere a frecvenței relative a porilor cu dimensiuni situate în intervalul 30-50 μ m pe măsură ce raportul de reticulare și concentrația de CS au crescut. Acest lucru se datorează formării unui număr mai mare de puncte de reticulare. Micrografia probei *HG2GA10* a arătat că prepararea la temperatura camerei duce la formarea unor pori slab conturați ca urmare a unei gelifieri în masă.

Studiul comportamentului la umflare a furnizat informații despre stabilitatea gelurilor în timp, în contact cu soluții de pH 2 și PBS, precum și despre cinetica echilibrului de umflare. Astfel s-a demonstrat instabilitatea criogelurilor *CG0.5GA10*, acestea desfacându-se după aproximativ 30 min în pH 2, și după aproximativ 1 oră în PBS.

Criogelurile obținute din soluții de 1% și 2% CS au prezentat proprietăți mecanice excelente (**Figura III.6**), *CG2GA10* remarcându-se în special prin capacitatea de a-și menține forma inițială după 10 cicluri succesive de compresie-relaxare. În contrast, hidrogelul preparat prin gelifiere la temperatura camerei a prezentat o structură internă dezorganizată, caracterizată prin pori slab conturați și proprietăți mecanice inferioare.

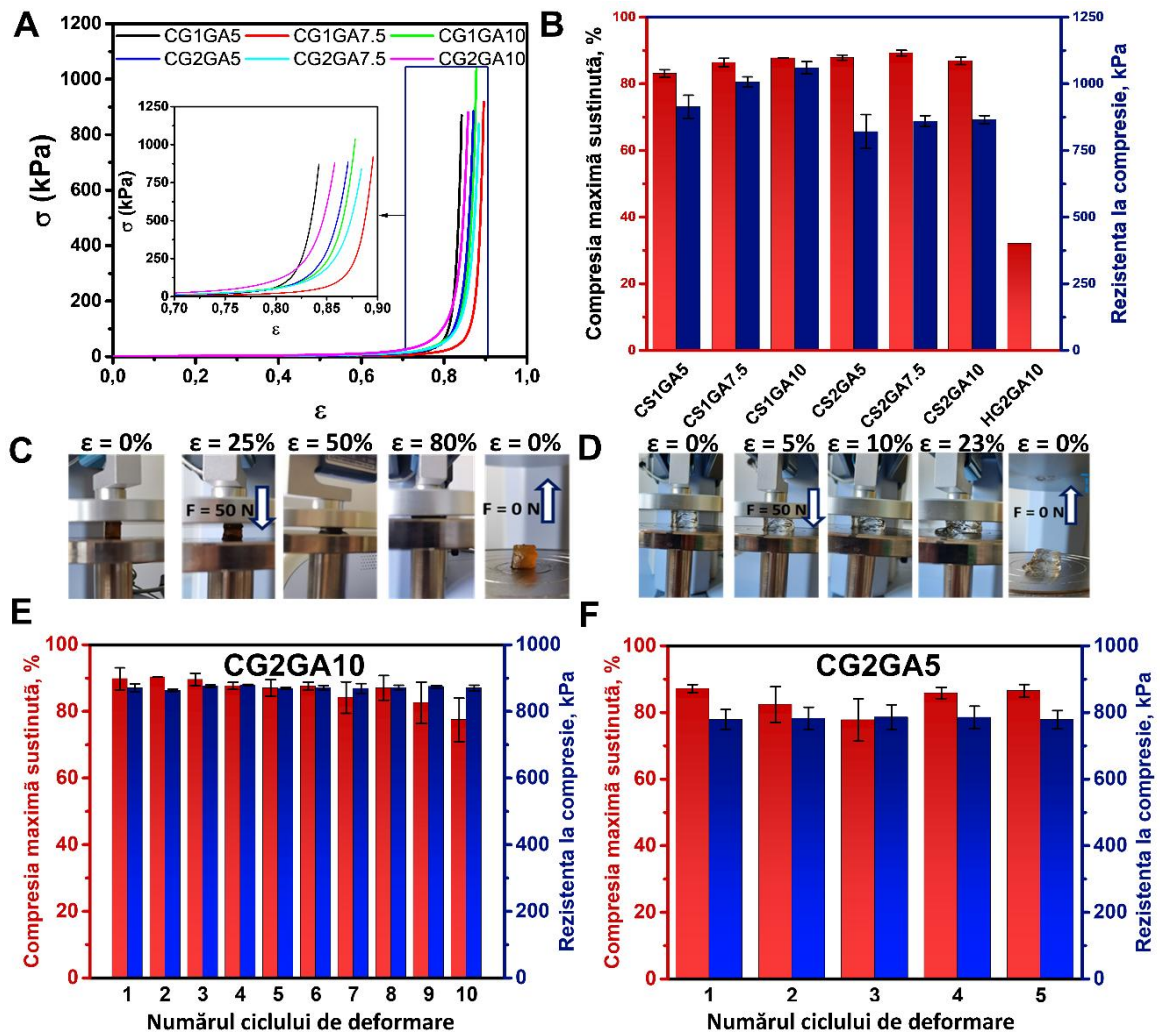


Figura III.6. Curbele tensiune-deformare pentru criogelurile CS-GA cu diferite compoziții (A); Compresia maximă susținută (roșu) și rezistența la compresie (albastru) pentru criogelurile CS-GA cu diferite compoziții (B); Imagini optice cu comportamentul probelor **CG2GA10** (C) și **HG2GA10** (D) în timpul aplicării și îndepărtării forței de deformare; Compresia maximă susținută și rezistența la compresie în cicluri succesive compresie-relaxare pentru probele **CG2GA10** (E) și **CG2GA5** (F) (Platon și colab., 2023).

Testele de activitate antimicrobiană au demonstrat că criogelurile au proprietăți antibacteriene remarcabile împotriva unor tulpini Gram-pozitive (*S. aureus*, *L. monocytogenes*) și Gram-negative (*E. coli*, *S. typhimurium*).

III.3. Biomateriale hibride pe bază de chitosan și curcumină

În a doua etapă a studiului, a fost investigată încorporarea CCM, un polifenol valoros, în structura criogelurilor. Analiza FTIR a confirmat încorporarea cu succes a CCM, în timp ce evaluarea morfologică a indicat modificări structurale, manifestate prin reducerea dimensiunii porilor. Pentru evaluarea aplicabilității biomedicale, biomaterialele

hibride pe bază de CS și CCM au fost testate în ceea ce privește cinetica de eliberare a polifenolului într-un mediu care simulează mediul gastrointestinal.

Mecanismul de eliberare a CCM a fost investigat prin modelarea matematică a datelor experimentale utilizând modelele cinetice Higuchi, Korsmeyer-Peppas și modelul de ordinul întâi (Figura III.14).

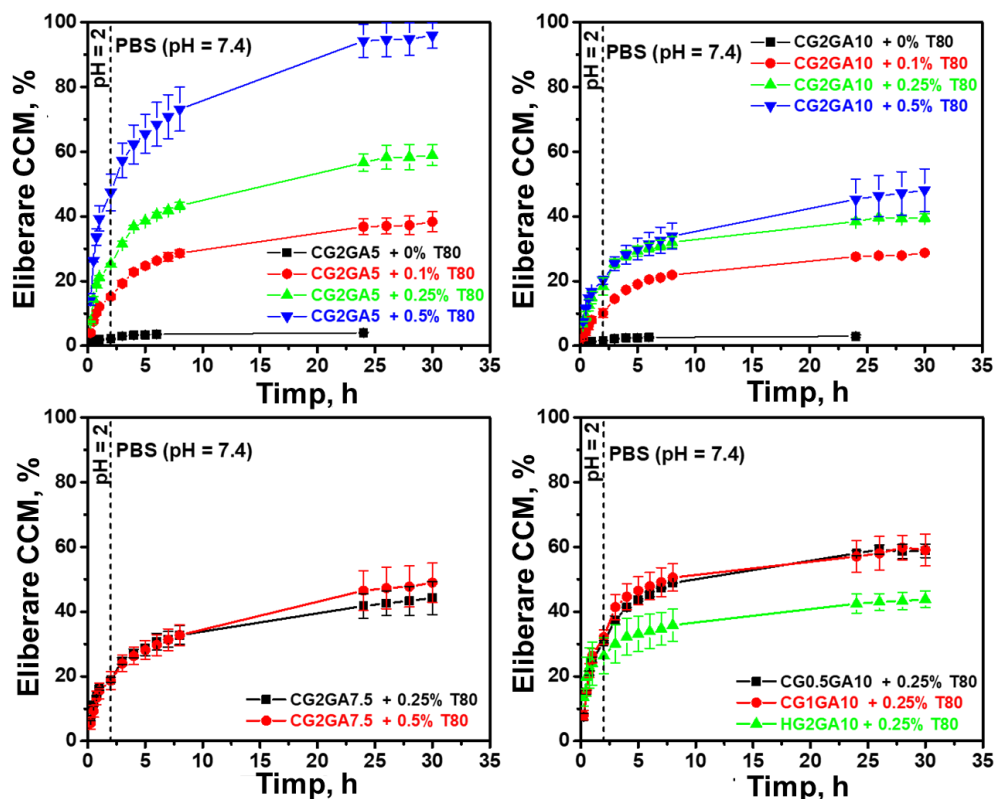


Figura III.14. Cinetica de eliberare a CCM din: (A) criogelurile *CG2GA5* la diferite concentrații de T80, (B) criogelurile *CG2GA10* la diferite concentrații de T80, (C) criogelurile *CG2GA7.5* la diferite concentrații de T80, și (D) criogelurile *CG0.5GA10*, *CG1GA10* și din hidrogelul *HG2GA10* utilizând 0,25 % T80 (Platon și colab., 2023).

Pe baza valorilor exponentului de difuzie n_r din ecuația Korsmeyer-Peppas, a fost identificat un mecanism de eliberare pseudo-Fickian, controlat de difuzie.

În concluzie, tehnica criogelifierii permite obținerea gelurilor la concentrații mici de reactanți. Încapsularea CCM în criogeluri pe bază de CS reticulat cu GA reprezintă o strategie promițătoare de protejare a bioactivității acestui polifenol. De asemenea, aceste biomateriale sunt capabile să asigure o eliberare prelungită a CCM.

CAPITOLUL IV. BIOMATERIALE MULTIFUNCȚIONALE DE TIP CRIOGEL PE BAZĂ DE CHITOSAN ȘI UN EXTRACT DE *HYPERICUM PERFORATUM L.*

În cadrul acestui studiu s-a urmărit dezvoltarea de criogeluri pe bază de CS funcționalizat cu tiouree pentru încorporarea extractului *Hypericum perforatum L.* (HYP_E) (Platon și colab., 2024).

IV.2. Criogeluri pe bază de chitosan funcționalizat cu tiouree

Într-o primă etapă s-a realizat optimizarea condițiilor de obținere a matricilor biopolimerice prin modificarea CS cu tiouree și reticularea cu formaldehidă (FA) (**Figura IV.2**) (Ghiorghita, Lazar, Platon și colab., 2023). Rezultatele caracterizării structurale (FTIR; ¹³C-RMN – **Figura IV.4**), morfologice (SEM), mecanice și ale activității antibacteriene pe *S. aureus* și *E. coli* au condus la selectarea parametrilor ideali pentru proiectarea acestor biomateriale.

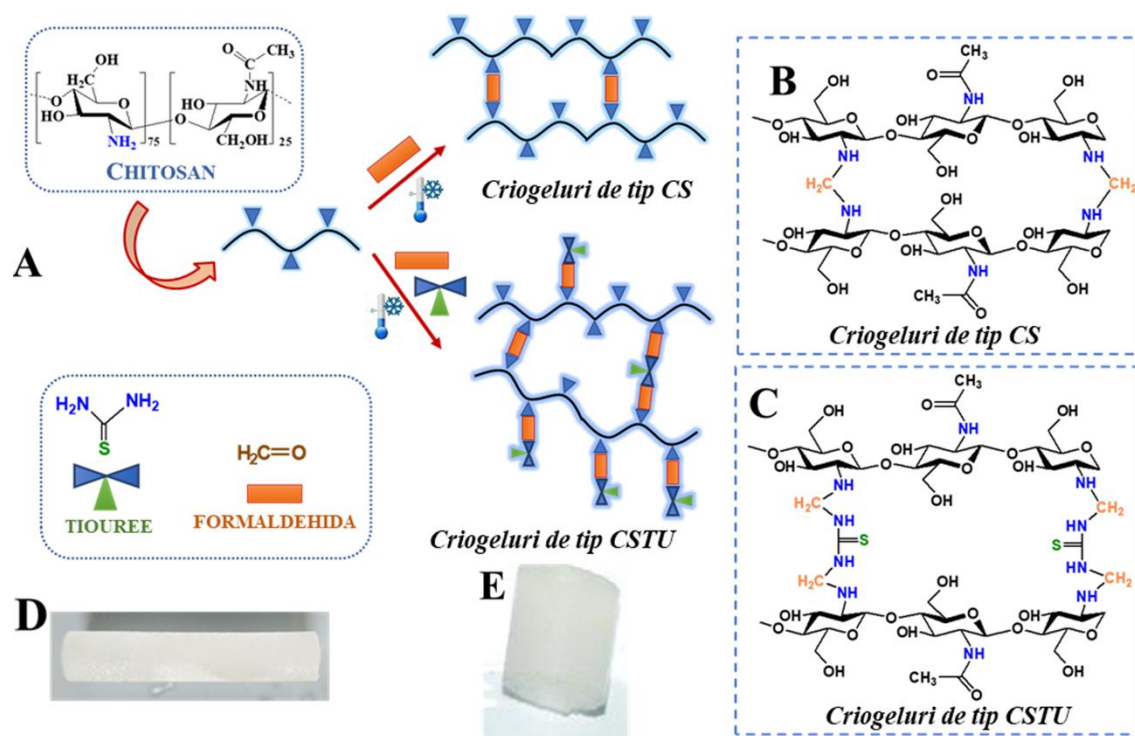


Figura IV.2. Schema de preparare a criogelurilor CS și CSTU reticulate cu FA (A). Structurile chimice ale criogelurilor de tip CS (B) și CSTU (C) care ilustrează modul de reticulare cu FA și de grefare a TU. Imagini optice ale criogelului CS, sub formă de monolit (D), în stare umedă (E) (Ghiorghita, Lazar, Platon și colab., 2023)

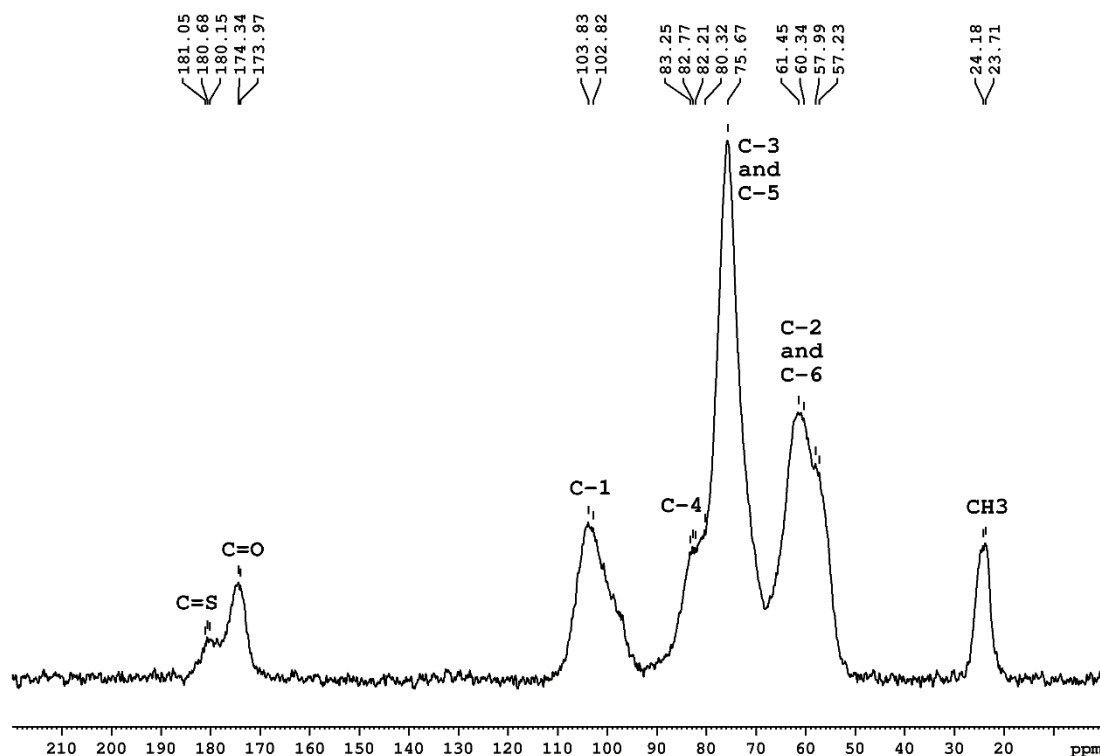


Figura IV.4. Spectrul ^{13}C CP-MAS al criogelului CSTU2.5.

IV.3. Obținerea și caracterizarea extractului de *Hypericum perforatum* L.

S-a obținut *Hypericum perforatum* L prin extracție cu etanol 70%. Prin analiză calitativă efectuată prin CSS și HPLC în compoziția extractului s-au identificat naftodiantrone (hipericine), derivați de floroglucinol (hiperforină, adhiperforină), numeroase flavonoide (rutozidă, hiperozidă, izocvercitrină, cvercitrină, cvercetol, apigenin-7-O-glucozidă, biapigenină, kemferol), dar și acizi fenolici precum acidul clorogenic. Conținutul total în polifenoli a fost determinat ca fiind 330,8 mg GAE/g extract. Investigarea activității antioxidante a evidențiat concentrația optimă a extractului capabilă să inhibe > 90% din radicalii liberi DPPH.

IV.4. Biomateriale hibride pe bază de derivați de chitosan și extract de *Hypericum perforatum* L.

Au fost obținute noi criogeluri hibride de tip CSTU reticulate cu FA, în care a fost încapsulat încă din etapa de preparare extractul de HYP_E (**Figura IV.15**). Toate compozițiile au avut valori ale *RFG* peste 90%, indicând o conversie excelentă a componentelor în geluri (**Platon și colab., 2024**).

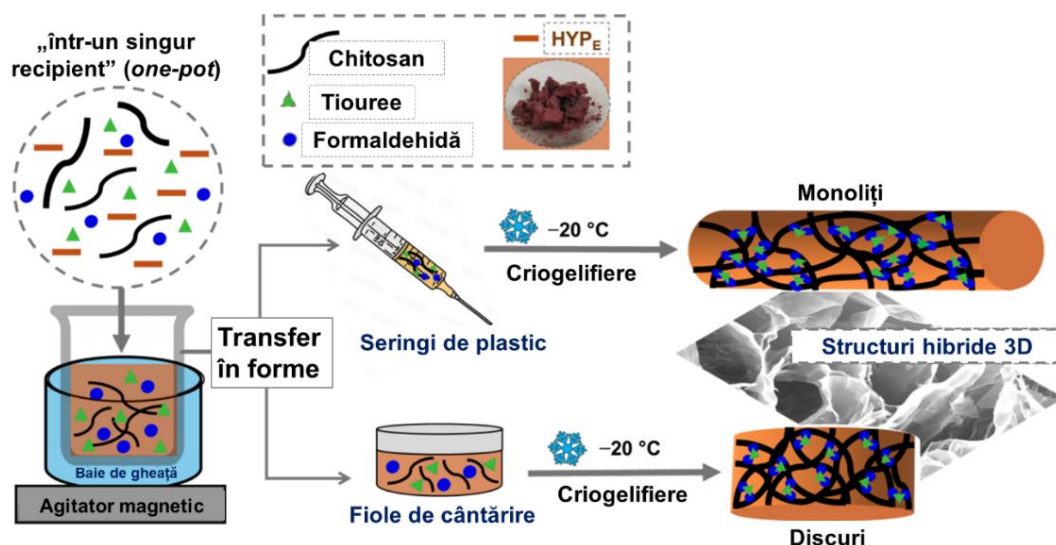


Figura IV.15. Ilustrarea strategiei de preparare pentru criogelurile hibride HYP_x.

Imaginile optice ale criogelurilor hibride, atât sub formă de disc, cât și sub formă de monolit, au confirmat includerea HYP_E în rețeaua polimerică 3D (**Figura IV.16**).



Figura IV.16. Imagini optice cu criogelurile în stare uscată, respectiv umedă, preparate sub formă de monoliți sau de discuri și conținând diferite cantități de HYP_E.

Prin caracterizarea structurală (FTIR, ¹³C-RMN), dar și morfologică s-a evidențiat includerea cu succes a extractului și păstrarea structurii poroase caracteristice hidrogelurilor preparate prin criogelifiere și uscate prin liofilizare. Dimensiunea porilor criogelurilor HYP0 au variat între 70 și 120 μm. După încorporarea HYP_E, dimensiunea lor a scăzut la aproximativ 40 – 90 μm, evidențiind astfel interacțiunea puternică dintre componentele HYP_E și grupele funcționale ale matricei CS.

Indiferent de conținutul în HYP_E, densitatea criogelurilor hibride a variat între 0,0180 g/cm³ și 0,0264 g/cm³ (**Figura IV.18B**), iar porozitatea a fost de aproximativ 98%, ceea ce

le încadrează în categoria materialelor ultrașoare de tip aerogel. Rezultatele studiilor de umflare au dovedit caracterul superabsorbant al materialelor preparate (**Figura IV.22B**), la pH 2 acestea prezentând valori ale capacității de umflare între 14266% și 31605%.

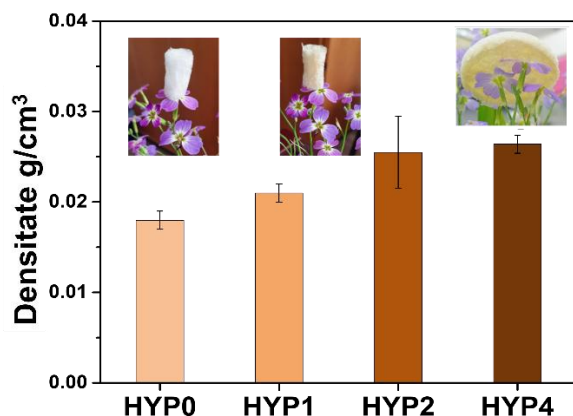


Figura IV.18B. Densitatea criogelurilor hibride preparate cu diferite cantități de HYPE; insetul prezintă imaginile optice ale criogelurilor liofilizate plasate pe flori de *Oxalis* pentru a indica greutatea lor foarte redusă (**Platon și colab., 2024**).

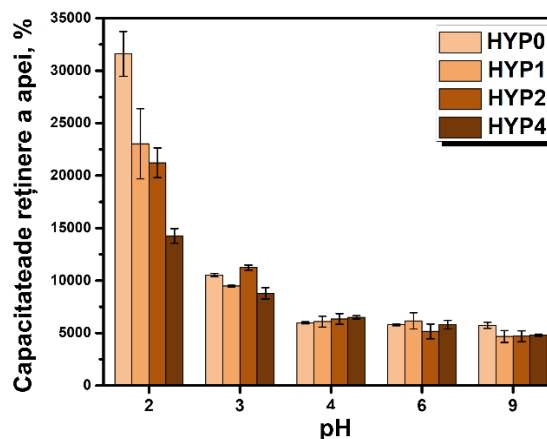


Figura IV.22B. Capacitatea de umflare în funcție de pH după 24 h (**Platon și colab., 2024**).

Rigiditatea rețelei în stare uscată și elasticitatea remarcabilă a probelor în stare umflată a fost pusă în evidență prin teste de compresie uniaxială (**Figura IV.23**). Interacțiunile fizice dintre HYP_E și rețeaua tridimensională polimerică au determinat creșterea rezistenței la compresie. Criogelurile au prezentat abilitatea de a reveni la forma inițială după îndepărtarea forței aplicate datorită circulației reversibile a apei (**Figura IV.23H**).

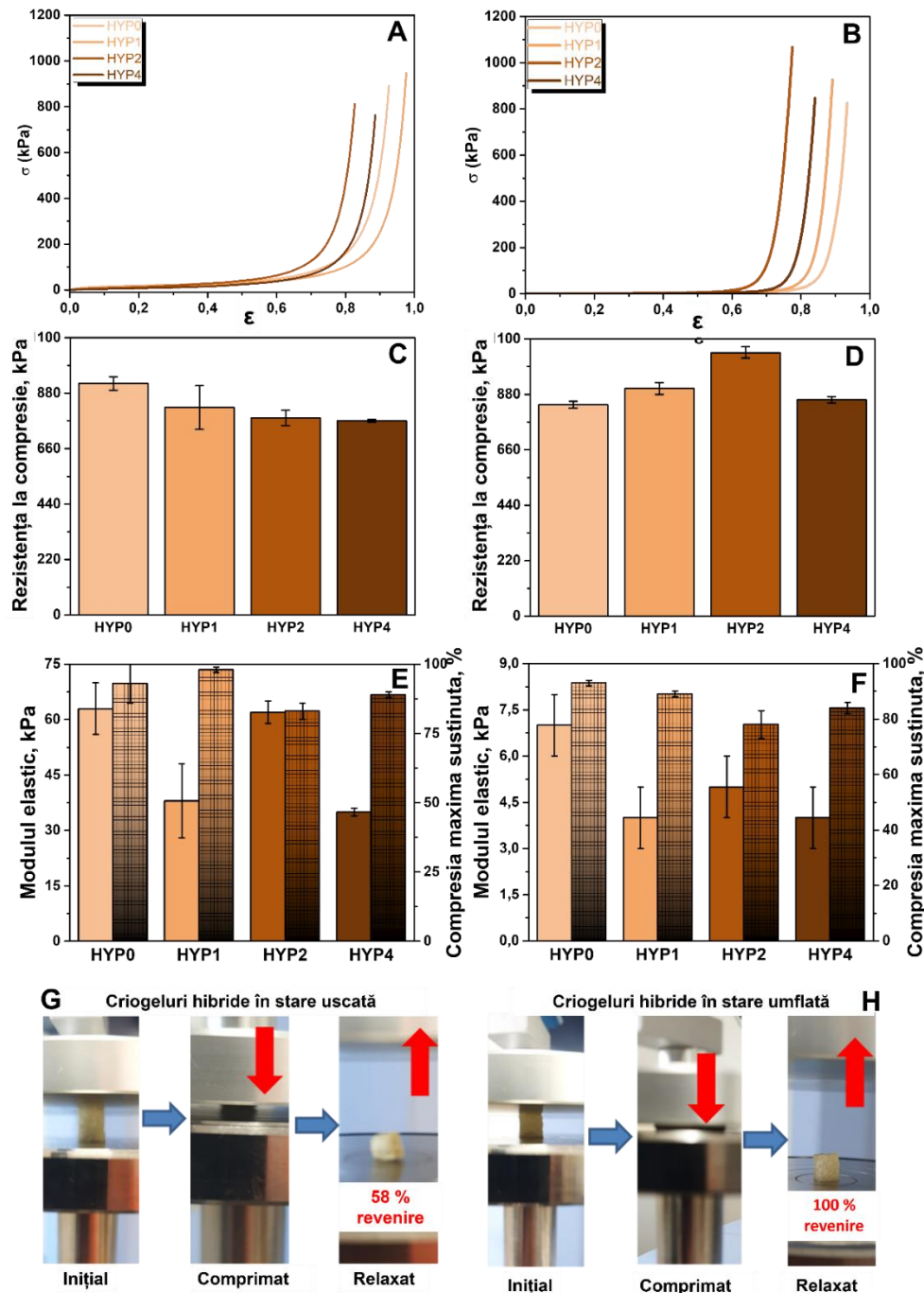


Figura IV.23. Curbele tensiune-deformare (A,B), rezistența la compresie (C, D), modulul elastic și compresia maximă susținută (E, F) ale criogelurilor hibride în stare uscată (A, C, E, G) și umflată (B, D, F, H). Imagini optice cu criogelurile hibride uscate (G) și umflate (H) (proba **HYP4**) înainte și după compresie 100%, demonstrând recuperarea formei în proporție de 58% pentru proba uscată și 100% pentru cea umflată (Platon și colab.2024).

În ceea ce privește activitatea antioxidantă a extractului, acesta a înregistrat o diminuare prin includerea în matricile pe bază de CSTU (Figura IV.24A). Cu toate acestea, în cazul activității antimicrobiene s-a remarcat un sinergism între cele două componente cu potențarea acțiunii și lărgirea spectrului (Figura IV.24B).

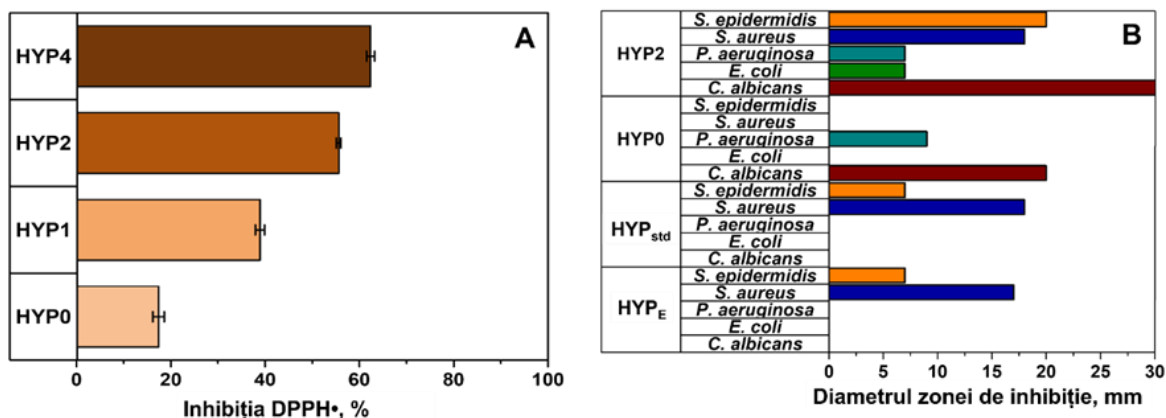


Figura IV.24. (A) Activitatea de captare a radicalilor liberi DPPH exercitată de criogelurile hibride CSTU/HYP_E; (B) Activitatea antimicrobiană a extractelor HYP_E și HYP_{std} și a criogelurilor (**Platon și colab., 2024**).

Criogelurile CSTU cu sau fără HYP_E s-au dovedit citocompatibile față de linia celulară NHDF, viabilitatea celulară fiind de peste 85% (**Figura IV.25**).

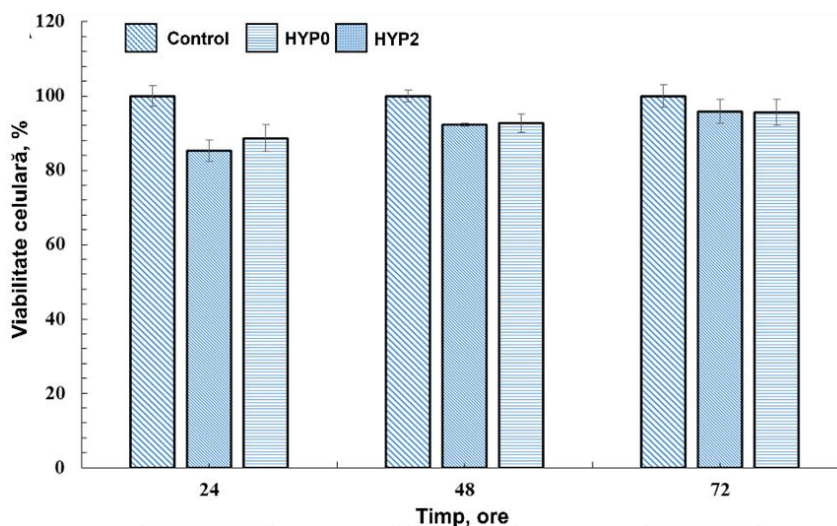


Figura IV.25. Viabilitatea celulară (%) măsurată prin testul MTT pentru cultura NHDF în contact direct cu criogelurile HYP0 și HYP2 (**Platon și colab., 2024**).

În concluzie, s-a reușit stabilizarea extractului de sunătoare în matricile pe bază de CSTU reticulat cu FA. Caracterul superabsorbant, proprietățile mecanice excelente, efectele antioxidante și antimicrobiene, dar și citocompatibilitatea acestor biomateriale evidențiază multifuncționalitatea biomaterialelor hibride preparate.

CAPITOLUL V. BIOMATERIALE MULTIFUNCȚIONALE DE TIP CRIOGEL PE BAZĂ DE CHITOSAN DUBLU RETICULAT ȘI TIMOL

V.2. Criogeluri pe bază de chitosan și cavasol

În acest capitol s-au prezentat strategiile de preparare utilizate pentru proiectarea de compozite poroase pe bază de CS și monoclorotriazinil- β -ciclodextrină (MCT- β -CD sau cavasol) sub formă de monoliți. Stabilizarea matricilor s-a realizat prin reticularea dublă a CS cu GA și MCT- β -CD, utilizând două strategii: fie prin amestecarea inițială a reactanților, fie printr-o reticulare succesivă, mai întâi cu GA și apoi cu MCT- β -CD (**Figura V.1**). În ambele cazuri, reticularea cu GA a fost efectuată prin criogelifiere, iar reticularea cu MCT- β -CD a fost realizată prin încălzire, tratamentul termic optim fiind de 1 h la 70 °C și 3 h la 80 °C (Dragan, **Platon** și colab., 2025).

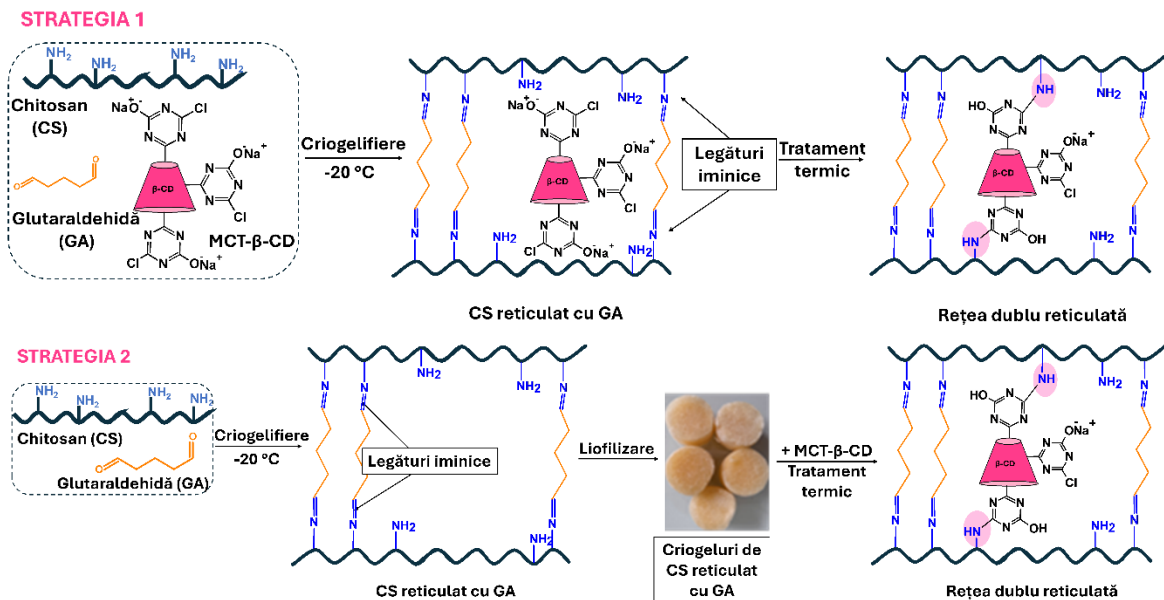


Figura V.1. Reprezentarea schematică a strategiilor utilizate la fabricarea criogelurilor pe bază de CS pentru includerea timolului (Dragan, **Platon** și colab., 2025).

Reticularea criogelurilor compozite de CS cu MCT- β -CD a fost confirmată prin spectroscopie FTIR (**Figura V.3**), ^{13}C -RMN (**Figura V.4**) și EDX, precum și prin caracteristicile morfologice.

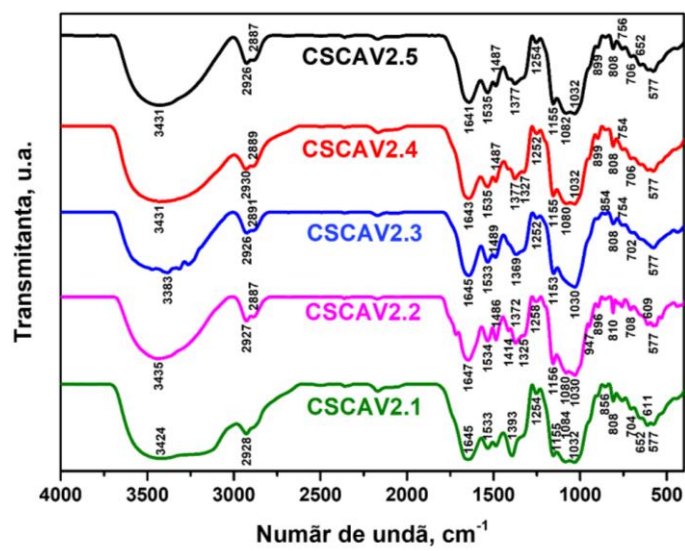


Figura V.3. Spectrele FTIR ale biocompozitelor pe bază de CS preparate prin strategia 2 (Dragan, Platon și colab., 2025)

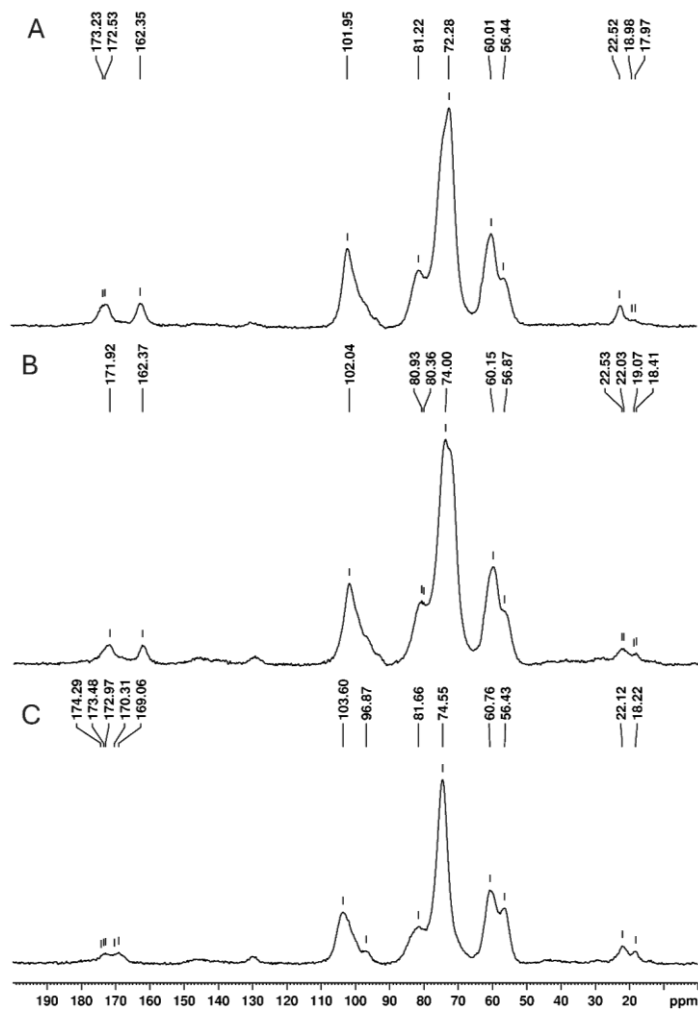


Figura V.4. Spectrele ¹³C CP-MAS corespunzătoare CS207_5%GA (A), CSCAV.1.3 (B), CSCAV.2.3 (C), înregistrate la 100,6 MHz (Dragan, Platon și colab., 2025).

Dimensiunea medie a porilor a variat între 73 μm și 149 μm , în funcție de strategia de preparare, concentrația reactanților și tratamentul termic. Proprietățile mecanice ale biocompozitelor CSCAV au fost evaluate prin măsurători de compresie uniaxială. Rezultatele au arătat că toate biocompozitele pot susține o deformare de peste 74 %, caracteristică materialelor poroase obținute prin procesul de criogelifiere. Rezistența la compresie a fost mai mare în cazul compozitelor obținute prin reticulare succesivă, atingând valori de până la 294 kPa (CSCAV2.3).

V.3. Biomateriale hibride pe bază de chitosan dublu reticulat și timol

Biocompozitele poroase pe bază de CS au fost capabile să încorporeze timolul, terpenă cu proprietăți antioxidante remarcabile (Figura V.8A). Biomaterialele hibride CSCAV/timol au prezentat proprietăți excelente de inhibare a radicalului liber DPPH, cu un grad de inactivare de peste 85% (Figura V.8B și C). De asemenea, activitatea antioxidantă a fost menținută la un nivel superior de 50% pe durata păstrării criogelului CSCAV1.3 cu timol pe parcursul a 15 zile (Figura V.8D).

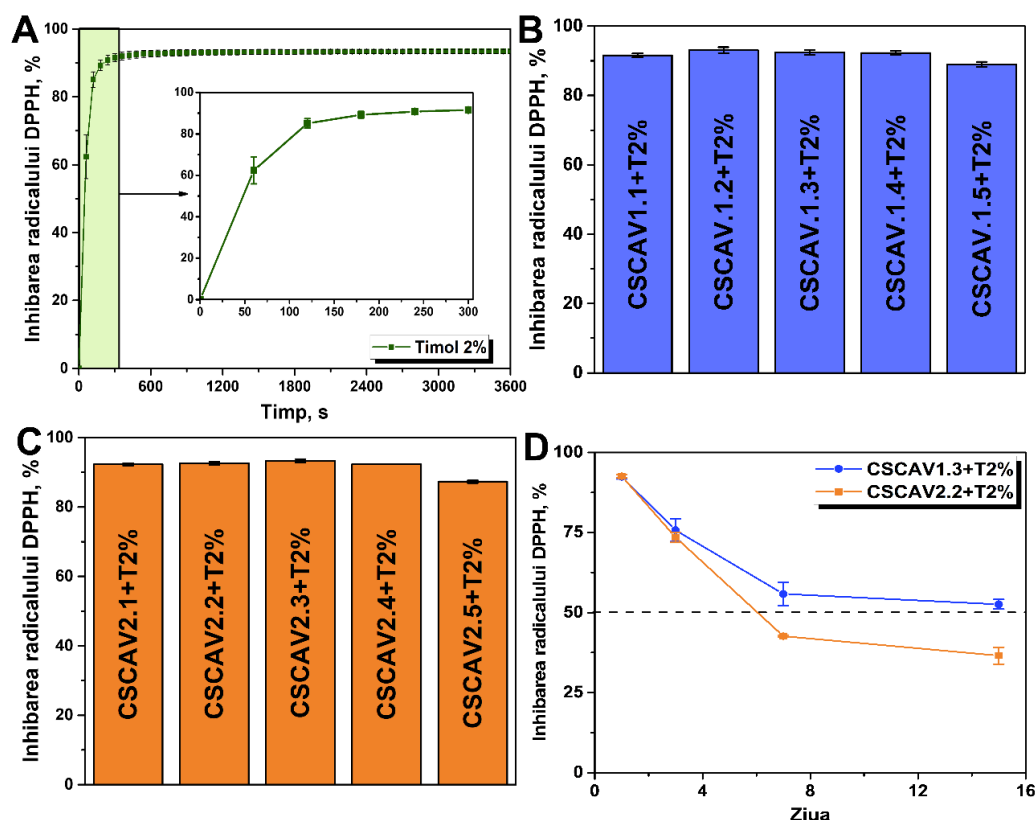


Figura V.8. Activitatea antioxidantă a timolului (A) și a biocompozitelor preparate prin strategia 1 (B), respectiv strategia 2 (C); stabilitatea activității de inhibare a radicalului liber DPPH în funcție de timp și de strategia de preparare (D) (Dragan, **Platon** și colab., 2025).

Compozitele cu sau fără timol au demonstrat o eficiență antibacteriană crescută împotriva *S. aureus* (până la 100 %), indiferent de strategia de preparare. În schimb, pentru *E. coli*, activitatea antibacteriană a materialelor fără timol a variat între 40 % (CSCAV1.3) și 63 % (CSCAV1.4), în timp ce toate compozitele cu timol obținute prin strategia 1 au înregistrat o eficiență antibacteriană de 100 % (Dragan, **Platon** și colab., 2025).

În concluzie, structura internă poroasă, proprietățile mecanice excelente, capacitatea mare de umflare, precum și activitățile antioxidante și antimicrobiene remarcabile reprezintă caracteristicile cheie care recomandă biocompozitele prezentate pentru aplicații biomedicale. Rezultatele obținute oferă informații valoroase pentru selectarea parametrilor optimi în vederea obținerii celor mai eficiente materiale destinate acestor aplicații.

CONCLUZII GENERALE

1. Biomateriale multifuncționale de tip criogel pe bază de xantan și extracte bogate în monomeri antocianici

În cadrul acestui capitol, au fost prezentate aspectele preparative, proprietățile și aplicațiile biomaterialelor hibride pe bază de xantan (Xn) și extracte bogate în monomeri antocianici.

- Au fost realizate extracte din trei specii de fructe de pădure (afine, coacăze și mure) recoltate din arealul regiunii istorice Moldova, iar acestea au fost analizate calitativ, cantitativ, precum și din punct de vedere al proprietăților antioxidante și al stabilității.

- Determinările fitochimice au indicat faptul că extractul de afine (*Af*) are cel mai bogat profilul polifenolic și cea mai intensă activitate antioxidantă față de radicalul liber DPPH.

- Extractul de *Af* a prezentat **stabilitate limitată** în soluții apoase (2-12 zile, în funcție de pH), ceea ce subliniază **necesitatea încapsulării** acestuia **în matrici polimerice**.

- S-au obținut criogeluri pe bază de Xn și alcool polivinilic (APV) prin cicluri de îngheț-dezghet, precum și criogeluri pe bază de Xn reticulate cu 1,4-butandiol diglicidil eter (1,4-BDGE), uscate fie prin liofilizare, fie la etuvă.

- Biomaterialele obținute au fost caracterizate structural (FTIR) și morfologic (SEM) confirmând includerea extractului de *Af* și evidențiind o morfologie poroasă.

- Creșterea cantității de extract a influențat pozitiv proprietățile mecanice și reologice ale criogelurilor, determinând rigidizarea matricii și îmbunătățirea rezistenței la compresie și a modulului elastic.

- Încorporarea extractului a accentuat caracterul hidrofob al criogelurilor (prin creșterea valorilor unghiului de contact) și a redus capacitatea de umflare.

- Matricile pe bază de Xn au păstrat **activitatea antioxidantă** a extractului, iar prezența acestuia a avut rol benefic asupra capacității de **inhibare a creșterii bacteriene** atingând o eficiență de 100% împotriva *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* și *Listeria monocytogenes*.

- Includerea extractului de *Af* în biomaterialele pe bază de Xn **i-a îmbunătățit stabilitatea**, evidențiată prin menținerea relativ constantă a parametrilor colorimetrici timp de **42 de zile** (în condiții de pH acid sau alcalin) și până la **50 de zile** în condiții normale.

- Biomaterialele pe bază de Xn și extract de *Af* au prezentat un **răspuns rapid și ușor detectabil la concentrații diferite de amoniac**.

- Biomaterialele pe bază de Xn și extract de *Af* au putut fi testate cu succes ca **indicatori de prospețime** pentru alimente bogate în proteine (caras).

2. Biomateriale multifuncționale de tip criogel pe bază de chitosan și curcumină

În acest capitol s-a investigat prepararea unor noi sisteme pe bază de chitosan (CS) reticulat cu glutaraldehydă (GA) prin metoda criogelifierii, respectiv a gelifierii la temperatura camerei.

- Analiza structurală prin spectroscopie FTIR a confirmat reticularea cu succes a CS cu GA, iar examinarea morfologică prin SEM a evidențiat o structură poroasă, asemănătoare unui fagure de miere.

- Studiul comportamentului la umflare a furnizat informații despre stabilitatea gelurilor în timp, precum și despre cinetica echilibrului de umflare.

- S-au identificat parametrii optimi pentru obținerea unor **criogeluri cu proprietăți mecanice excelente și capacitate de a reveni la forma inițială** după 10 cicluri succesive de compresie-relaxare.

- S-au pus în evidență **proprietățile morfologice și mecanice superioare ale criogelurilor în comparație cu ale hidrogelurilor convenționale.**

- Testele de **activitate antimicrobiană** au demonstrat că criogelurile au proprietăți antibacteriene remarcabile împotriva unor tulpini Gram-pozitive (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*) și Gram-negative (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*).

- Incorporarea curcuminei în biomateriale a determinat o reducere a dimensiunii porilor, iar mecanismul de eliberare a curcuminei a fost de tip pseudo-Fickian, controlat de difuzie.

- Biomaterialele au fost capabile să **mențină activitatea antioxidantă** a curcuminei.

3. Biomateriale multifuncționale de tip criogel pe bază de chitosan și un extract de *Hypericum perforatum* L.

În cadrul acestui studiu, s-au dezvoltat criogeluri pe bază de CS funcționalizat cu tiouree (TU) pentru încorporarea extractului *Hypericum perforatum* L. (HYP_E).

- Condițiile de obținere a matricilor biopolimerice au fost optimizate prin modificarea CS cu TU și reticularea cu formaldehydă, iar caracterizarea structurală (FTIR, ¹H-RMN, ¹³C-RMN), morfologică (SEM) a fost completată cu testarea proprietăților mecanice și antibacteriene pe *S. aureus* și *E. coli*.

- A fost obținut și caracterizat calitativ și cantitativ extractul de *Hypericum perforatum* L.

- A fost determinată concentrația optimă a extractului capabilă să inhibe > 90% din radicalii liberi DPPH.

- Includerea extractului în biomateriale nu a modificat structura internă poroasă caracteristică.

- A fost dovedit caracterul **superabsorbant** al materialelor preparate. Capacitatea de umflare a criogelurilor cu HYP_E a fost superioară unor pansamente comerciale pe bază de polimeri naturali sau sintetici.

- Au fost puse în evidență atât rigiditatea rețelei în stare uscată, cât și dobândirea elasticității în prezența apei.

- Prezența extractului în biomateriale a determinat creșterea rezistenței la compresie.

- Criogelurile au prezentat **abilitatea de a reveni la forma inițială** după îndepărtarea forței aplicate.

- S-a remarcat un sinergism între matricea biopolimerică și extract cu potențarea acțiunii și **lărgirea spectrului antimicrobian**.

- Atât extractul, cât și criogelurile preparate au prezentat **citocompatibilitate** față de fibroblaste.

4. Biomateriale multifuncționale de tip criogel pe bază de chitosan dublu reticulat și timol

Capitolul a prezentat strategiile de preparare utilizate pentru proiectarea de compozite poroase pe bază de chitosan și un derivat de β -ciclodextrină (MCT- β -CD).

- Stabilizarea matricilor a fost realizată prin utilizarea a doi agenți de reticulare pentru chitosan și urmând două strategii: fie prin amestecarea inițială a reactanților, fie printr-o reticulare succesivă.

- Încorporarea MCT- β -CD în criogelurile compozite de CS a fost confirmată prin analiză structurală (FTIR, ¹³C-RMN) și elementală (EDX), iar analiza morfologică (SEM) a pus în evidență structura internă poroasă.

- S-a constatat că strategia de preparare a influențat proprietățile mecanice ale biomaterialelor preparate, reticularea succesivă conducând la obținerea unor materiale cu **rezistență mecanică superioară**.

- Încorporarea timolului în biomaterialele preparate a redus **volatilitatea** acestuia și a conferit matricilor polimerice **activitate antioxidantă** excelentă.

- Biomaterialele cu timol au demonstrat o **eficiență antibacteriană** crescută împotriva *Staphylococcus aureus* și *Escherichia coli*.

PERSPECTIVE

Rezultatele obținute în cadrul acestor studii doctorale pot reprezenta puncte de plecare pentru explorarea biomaterialelor proiectate în aplicații biomedicale sau în industria alimentară:

- Proprietățile remarcabile ale biomaterialelor hibride pe bază de xantan și monomeri antocianici din afine ar putea fi utilizate în dezvoltarea ambalajelor alimentare inteligente cu valoare comercială, având potențial în îmbunătățirea durabilității și siguranței alimentelor.

- Includerea extractului de sunătoare în biomateriale biopolimerice poate fi valorificată în dezvoltarea de pansamente sau a altor dispozitive medicale destinate tratamentului dermatologiilor, având efecte benefice asupra vindecării rănilor.

- Criogelifierea poate reprezenta o tehnologie promițătoare pentru obținerea unor noi forme farmaceutice moderne cu eliberare controlată, dar și pentru menținerea stabilității unor compuși cu volatilitate ridicată, extinzând astfel aplicațiile în farmacologie și industrie alimentară.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

Biobaku-Mutingwende, B. (2021). Introduction to Biomaterials. În: Sharma, N.R., Subburaj, K., Sandhu, K., Sharma, V. (eds) Applications of 3D printing in Biomedical Engineering. Springer, Singapore.

Ding, X., Zhao, L., Khan, I.M., Yue, L., Zhang, Y. și Wang, Z. (2022). Emerging chitosan grafted essential oil components: A review on synthesis, characterization, and potential application. *Carbohydrate Polymers*, 297, 120011.

Dragan, E.S. și Dinu, M.V. (2020). Advances in porous chitosan-based composite hydrogels: Synthesis and applications. *Reactive and Functional Polymers*, 146, 104372.

Dragan, E.S., **Platon, I.-V.**, Nicolescu, A. și Dinu, M.V. (2025). Structural, mechanical, antioxidant and antibacterial properties of double cross-linked chitosan cryogels as hosts for thymol. *International Journal of Biological Macromolecules*, 304, 140968.

Ghiorghita, C.-A., **Platon, I.-V.**, Lazar, M. M., Dinu, M. V. și Aprotosoiaie, A. C. (2024). Trends in polysaccharide-based hydrogels and their role in enhancing the bioavailability and bioactivity of phytochemicals. *Carbohydrate Polymers*, 334, 122033.

Ghiorghita, C.-A., Lazar, M.M., **Platon, I.-V.**, Humelnicu, D., Doroftei, F. și Dinu, M.V. (2023). Feather-weight cryostructured thiourea-chitosan aerogels for highly efficient removal of heavy metal ions and bacterial pathogens. *International Journal of Biological Macromolecules*, 235, 123910.

Hu, M., Liu, G., Zhang, W., Du, X., Qi, B. și Li, Y. (2022). Co-encapsulation of (–)-epigallocatechin-3-gallate and quercetin in double emulsion hydrogel beads: Microstructures, functional properties, and digestion behaviors. *Food Chemistry*, 373, 131427.

Li, Q., Duan, M., Hou, D., Chen, X., Shi, J. și Zhou, W. (2021). Fabrication and characterization of Ca(II)-alginate-based beads combined with different polysaccharides as vehicles for delivery release and storage of tea polyphenols. *Food Hydrocolloids*, 112, 106274.

Madamsetty, V.S., Vazifehdoost, M., Alhashemi, S.H., Davoudi, H., Zarrabi, A., Dehshahri, A., Fekri H.S., Mohammadinejad, R. și Thakur, V.K. (2023). Next-generation hydrogels as biomaterials for biomedical applications: Exploring the role of curcumin. *ACS Omega*, 8, 8960.

Malviya, R. și Sundram, S. (Eds.). (2023). Engineered Biomaterials. Springer Nature.

Platon, I.-V., Ghiorghita, C.-A., Lazar, M.M, Aprotosoiaie, A.C., Gradinaru, A.C., Nacu, I., Verestiuc, L., Nicolescu, A., Ciocarlan, N. și Dinu, M.V. (2024). Highly compressible, superabsorbent, and biocompatible hybrid cryogel constructs comprising functionalized chitosan and St. John's wort extract. *Biomacromolecules*, 25, 5081.

Platon, I.-V., Ghiorghita, C.-A., Lazar, M.M., Raschip, I.E. și Dinu, M.V. (2023). Chitosan sponges with instantaneous shape recovery and multistrain antibacterial activity for controlled release of plant-derived polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 4452.

Siraj, A., Naqash, F., Shah, M.A., Fayaz, S., Majid, D. și Dar, B.N. (2021) Nanoemulsions: formation, stability and an account of dietary polyphenol encapsulation. *International Journal of Food Science & Technology*, 56, 4193.

Sudheer, S., Bandyopadhyay, S. și Bhat, R. (2023). Sustainable polysaccharide and protein hydrogel-based packaging materials for food products: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 248, 125845.

Swartjes, J.J.T.M. (2017). Multifunctional biomaterials and their bioinspired systems for bioactive molecules delivery. În Rodrigues, L., Mota, M. (Eds.), *Bioinspired Materials for Medical Applications*, Woodhead Publishing.

Zheng, B.-D. și Xiao, M.-T. (2023). Polysaccharide-based hydrogel with photothermal effect for accelerating wound healing. *Carbohydrate Polymers*, 299, 120228.

Zheng, B.-D., Gan, L., Tian, L.-Y. și Chen, G.-H. (2023). Protein/polysaccharide-based hydrogels loaded probiotic-mediated therapeutic systems: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 126841.

LISTA CU LUCRĂRILE ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

Lucrări publicate în jurnale științifice cotate ISI a căror rezultate au făcut subiectul tezei de doctorat:

1. **Platon, I.-V.**; Ghiorghita, C.-A.; Lazar, M.M.; Raschip, I.E.; Dinu, M.V., **2023**. Chitosan Sponges with Instantaneous Shape Recovery and Multistrain Antibacterial Activity for Controlled Release of Plant-Derived Polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4452. <https://doi.org/10.3390/ijms24054452> (FI₂₀₂₃ = 4,9; Q1);
2. Ghiorghita, C.-A.; Lazar, M. M.; **Platon, I.-V.**; Humelnicu, D.; Doroftei, F.; Dinu, M.V., **2023**. Feather-weight cryostructured thiourea-chitosan aerogels for highly efficient removal of heavy metal ions and bacterial pathogens. *International Journal of Biological Macromolecules*, 235. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123910> (FI₂₀₂₃ = 7,7; Q1);
3. Ghiorghita, C.-A., **Platon, I.-V.**, Lazar, M.M., Dinu, M.V., Aprotosoiaie, A.C., **2024**. Trends in polysaccharide-based hydrogels and their role in enhancing the bioavailability and bioactivity of phytochemicals. *Carbohydrate Polymers*, 334, 122033. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122033> (FI₂₀₂₃ = 10,7; Q1);
4. **Platon, I.-V.**; Ghiorghita, C.-A.; Lazar, M.M.; Aprotosoiaie, A.C.; Gradinaru, A.C.; Nacu, I.; Verestiuc, L.; Nicolescu, A.; Ciocarlan, N.; Dinu, M.V., **2024**. Highly Compressible, Superabsorbent, and Biocompatible Hybrid Cryogel Constructs Comprising Functionalized Chitosan and St. John's Wort Extract. *Biomacromolecules*, 25 (8), 4615-5388 <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.4c00496> (FI₂₀₂₃ =5,5; Q1);
5. Dragan, E.S.; **Platon, I.-V.**; Nicolescu, A.; Dinu, M.V. **2025**. Structural, mechanical, antioxidant and antibacterial properties of double cross-linked chitosan cryogels as hosts for thymol. *International Journal of Biological Macromolecules*, 304, 140968 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.140968> (FI₂₀₂₃ = 7,7; Q1);
6. Raschip, I.E.; **Platon, I.-V.**; Fifere, N.; Darie-Nita, R.; Aprotosoiaie, A.C.; Dinu, M.V. **2025**. Stabilization of Anthocyanins in Xanthan-Based Systems for Synergistic Cryogels with Enhanced Physicochemical and Biological Properties for Visual Freshness Monitoring of Prussian Carp (*Carassius gibelio*). *Food Hydrocolloids* <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2025.111566> (FI₂₀₂₃ =11,0; Q1)

Comunicări în cadrul unor conferințe naționale și internaționale

1. **Platon, I.-V.**; Raschip, I.E.; Aprotosoai, A.C.; Gradinaru, A. C.; Dinu, M.V. *Development of bioactive hydrogels containing Thymus vulgaris essential oil by ice template-assisted freeze-drying technique*. ICMPP – Open Door to The Future. Scientific Communications of Young Researchers (MacroYouth) - 2nd edition – Iași, 19.11.2021.
2. Dinu, M.V.; Lazar, M.M.; Raschip, I.E.; Ghiorghita, C.-A.; **Platon, I.-V.**. *Recent advances in multicomponent polymer systems with controlled 3D architectures*. Congresul Internațional al Universității „Apollonia” din Iași – Iași, 28.02-02.03.2022
3. **Platon, I.-V.**; Ghiorghita, C.-A.; Lazar, M.M; Dinu, M.V. *A one-pot approach to prepare elastic, but robust macroporous chitosan hydrogels functionalized with thiourea*. ICMPP – Open Door to The Future. Scientific Communications of Young Researchers (MacroYouth) – Iași, 18.11.2022
4. **Platon, I.-V.**; Ghiorghita, C.-A.; Lazar, M.M; Raschip, I.E.; Aprotosoai, A.C.; Dinu, M.V. *Optimizarea bioactivității curcuminei prin încapsulare în hidrogeluri poroase pe bază de chitosan*. Congresul Național de Farmacie 2023 – Cluj-Napoca, 27-29.09.2023
5. **Platon, I.-V.**; Ghiorghita, C.-A.; Lazar, M.M; Raschip, I.E.; Dinu, M.V. *Innovative polysaccharide-based sponges with instantaneous shape recovery and multistrain antibacterial activity for controlled release of curcumin*. ICMPP – Open Door to The Future. Scientific Communications of Young Researchers (MacroYouth) – Iași, 17.11.2023
6. **Platon, I.-V.**; Ghiorghita, C.-A; Aprotosoai, A.C.; Lazar, M.M; Dinu, M.V. *New biomaterials based on chitosan functionalized with thiourea and Hypericum perforatum L. extract for biomedical applications*. Congresul Internațional „Pregătim viitorul promovând excelența!” al Universității Apollonia – Iași 27.02– 01.03.2025

Postere prezentate în cadrul unor conferințe naționale și internaționale

1. **Platon, I.-V.**; Ghiorghita, C.-A.; Lazar, M.M; Raschip, I.E.; Dinu, M.V. *Textural and mechanical features of porous chitosan-based hydrogels*. International Conference on Rheology – Iași, 26.05.2022, Iași
2. Barzu, M.-M.; Ghiorghita, C.-A.; **Platon, I.-V.**; Lazar, M.M.; Humelnicu, D.; Dinu, M.V. *Porous multifunctional hydrogels based on chitosan and thiourea for adsorption of heavy metal ions from wastewaters*. International Symposium Present environment & sustainable development – Iași, 03.06.2022

3. **Platon, I.-V.**; Aprotosoiaie, A.C.; Raschip, I.E.; Dinu, M.V. *Plant-derived polyphenols: chemical structure and biological activity*. PSE Meeting 2022 - Natural Products in Drug Discovery and Development – Advances and Perspectives – Iași, 19-22.09.2022
4. **Platon, I.-V.**; Ghiorghita, C.-A., Lazar, M.M.; Humelnicu, D.; Dinu, M.V. *Chitosan and thiourea-chitosan ultra-lightweight macroporous hydrogels as efficient sorbents for removal of Ag(I) and Pb(II) ions*. ICCE 2022 - International Conference on Chemical Engineering – Iași, 15-17.10.2022
5. Lazar, M.M.; **Platon, I.-V.**; Ghiorghita, C.-A.; Raschip, I.E.; Dinu, M.V. *Chitosan sponges with antibacterial activity, antioxidant properties and controlled delivery of curcumin*. International Conference Materials, Methods & Technologies – Burgas, Bulgaria, 17 - 20 August 2023
6. **Platon, I.-V.**; Ghiorghita, C.-A.; Aprotosoiaie, A.C.; Gradinaru, A.C.; Lazar, M.M.; Raschip, I.E.; Ciocarlan, N.; Dinu, M.V. *Designing Hypericum perforatum-loaded chitosan-based cryogels as potential wound-dressing materials*. Congresul Internațional al Universității Apollonia „Pregătim viitorul, promovând excelența” a XXXIV-a ediție – Iași, 29.02.-03.03.2024
7. Ghiorghita, C.-A.; **Platon, I.-V.**; Lazar, M.M.; Raschip, I.E.; Dinu, M.V. *Bio-based macroporous hydrogels for biomedical applications*. Congresul Internațional al Universității Apollonia „Pregătim viitorul, promovând excelența” a XXXIV-a ediție – Iași, 29.02.-03.03.2024
8. Raschip, I.E.; **Platon, I.-V.**; Fifere, N.; Lazar, M.M.; Aprotosoiaie, A.C.; Dinu, M.V. *Anthocyanin-laden xanthan-based hydrogels as promising bioactive materials*. Congresul Internațional al Universității Apollonia „Pregătim viitorul, promovând excelența” a XXXIV-a ediție – Iași, 29.02.-03.03.2024
9. **Platon, I.-V.**; Ghiorghita, C.-A., Lazar, M.M.; Dinu, M.V. *Development of antioxidant and antimicrobial hybrid systems based on chitosan derivatives and a Hypericum perforatum L. extract*. PolyChar World Forum on Advanced Materials 30th Edition – Iași, 11-13.09.2024

Proiecte de cercetare (membru în echipă):

- Imobilizarea antocianinelor în materiale pe bază de polizaharide pentru obținerea de ambalaje alimentare ecologice inteligente, proiect PN-III-P1-1.1-TE-2021-1683 (TE 6/2022), membru în echipă (asistent de cercetare-doctorand) în perioada 2022-2024.

- Noi materiale adsorbante pe bază de compozite bogate în ioni metalici cu aplicații în minimizarea deșeurilor și economie circulară durabilă, proiect PN-III-P1-1.1-TE-2021-0771 (TE 3/2022), membru în echipă (asistent de cercetare-doctorand) în perioada 2022-2024

Cereri de brevet: 3

Denumire brevet/cerere brevet	număr înregistrare	Autori
Procedeu de obținere a unor criogeluri superabsorbante pentru păstrarea umidității solului	Nr cerere: a00520 / Data înregistrării: 21-09-2023	Claudiu-Augustin Ghiorghiță; Maria Marinela Lazăr; Ioana-Victoria Platon ; Maria Valentina Dinu
Procedeu de obținere a unor ambalaje ecologice inteligente	Nr cerere: a00205 / Data înregistrării: 24-04-2024	Irina Elena Răschip; Nicușor Fifere; Ioana-Victoria Platon ; Maria Valentina Dinu
Biocompozite poroase pe bază de chitosan pentru controlul bioactivității terpenelor și terpenoidelor volatile	Nr cerere: a00342 / Data înregistrării: 19-06-2024	Ecaterina Stela Dragan, Maria Valentina Dinu, Ioana-Victoria Platon