




**ACADEMIA ROMÂNĂ
INSTITUTUL DE CHIMIE
MACROMOLECULARĂ "PETRU PONI",
IAȘI**



**Studii privind modificarea chitosanului pentru
aplicații medicale, în sisteme alternative de
producere a energiei și de protecție a mediului**

**Conducător științific,
Dr. Valeria Harabagiu**

**Doctorand,
Bioing. Andra-Cristina Enache
(Căs. Humelnicu)**

**Iași
2021**

Academia Română
Școala de Studii Avansate a Academiei Române
Departamentul Filiala Iași
Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” Iași

Nr. 11421/12 III 2021

Doamnei/Domnului _____

Vă facem cunoscut faptul că în ziua de 9 aprilie 2021, ora 12:00, în sala de conferințe a Institutului de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” Iași, va avea loc susținerea publică a tezei de doctorat intitulate: „**Studii privind modificarea chitosanului pentru aplicații medicale, în sisteme alternative de producere a energiei și de protecție a mediului**”, autor **Andra-Cristina Enache** (căs. **Humelnicu**), în vederea conferirii titlului științific de doctor.

Comisia de doctorat are următoarea componență:

Președinte:

Dr. Anton Airinei, Cercetător Științific gradul I, Director adjunct al Institutului de Chimie Macromoleculară “Petru Poni” din Iași

Conducător de doctorat:

Dr. Valeria Harabagiu, Cercetător Științific gradul I, Director al Institutului de Chimie Macromoleculară “Petru Poni” din Iași

Referenți:

1. **Prof. Dr. Geta David**, Universitatea Tehnică “Gheorghe Asachi” din Iași
2. **Prof. Dr. Mihai Mareș**, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară "Ion Ionescu de la Brad" din Iași
3. **Dr. Maria Cazacu**, Cercetător Științific gradul I, Institutul de Chimie Macromoleculară “Petru Poni” din Iași

Susținerea publică a tezei va avea loc în conformitate cu reglementările în vigoare la data susținerii, iar link-ul de acces pentru susținerea online va fi publicat pe site-ul SCOSAAR.

Textul integral al tezei de doctorat, în format tipărit, poate fi consultat la Biblioteca Institutului de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” din Iași.

În conformitate cu Regulamentul privind organizarea și desfășurarea doctoratului pentru acordarea titlurilor științifice în Academia Română, vă trimitem rezumatul tezei de doctorat cu rugămintea de a ne comunica în scris aprecierile și observațiile dumneavoastră.

Cu această ocazie vă invităm să participați la susținerea publică a tezei de doctorat.

DIRECTOR,
Dr. Valeria Harabagiu
Dr. Valeria HARABAGIU



Mulțumiri

Finalul acestei cercetări mă transformă într-un observator direct al propriului parcurs din cadrul stagiului de doctorat și mă face să realizez că am ajuns în această etapă datorită efortului comun al unor oameni cărora astăzi și acum le mulțumesc.

Mulțumiri alese și recunoștință doamnei Dr. Valeria Harabagiu, coordonator științific și mentor excepțional, pentru profesionalismul și răbdarea cu care m-a îndrumat în cercetarea minuțioasă a polimerilor. Dumneaei, ca deținător complet de competență profesională, m-a dirijat în gestionarea cu eficiență a informațiilor, mi-a insuflat curaj în adaptarea la nou, m-a făcut să ating confortul emoțional și intelectual necesar unui astfel de demers. Cu tot dragul, prețuirea și respectul cuvenit, MULȚUMESC!

Celor doi colegi, Dr. Corneliu Cojocaru și Dr. Petrișor Samoilă, le mulțumesc într-un glas pentru că m-au susținut constant, m-au încurajat neînrerupt, mi-au fost alături și m-au făcut să trec prin emoții pozitive, făcându-mă să experimentez bucuria și mulțumirea fiecărui moment și fiecărei reușite.

Mulțumesc Academiei Române și Institutului de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” pentru deschiderea drumului spre cunoaștere științifică și asigurarea accesului la o infrastructură de cercetare excepțională, care mi-a permis atingerea obiectivelor tezei. Mi-a zâmbit viața când am intrat pe poarta acestui Institut și am întâlnit doar oameni frumoși, competenți, care au știut să mă ocrotească cu lumină și căldură. Pentru toate acestea și pentru contribuțiile aduse în șlefuirea lucrării de doctorat, le mulțumesc tuturor colegilor!

Nu în ultimul rând, doresc să mulțumesc proiectelor *Polymer-based materials as sorbents for the enhanced removal of oil spills and dyes from the contaminated waters* (POLYSORB), Cod proiect: PN-II-RU-TE-2014-4-1266, durata: 2015-2017 și *Motorul revoluției energetice bazate pe hidrogen – Pilele de combustibil, pe drumul de la cercetare la producție prin minimizarea barierelor tehnologice* (ROFCC), Cod proiect: PN-III-P1-1.2-PCCDI-2017-0194, Contract: 25PCCDI/2018, durata: 2018-2020 pentru suportul financiar acordat în această perioadă.

Adresez sincere mulțumiri pentru sugestiile formulate și întreaga mea prețuire membrilor comisiei de doctorat care au analizat cu răbdare teza.

Însuflețite mulțumiri familiei mele, o adevărată echipă, care mi-a dăruit neîncetat iubire, putere și vorbe înțelepte și mi-a asigurat necontenit suport afectiv și încredere.

CUPRINS

Pg.teză/
rezumat

INTRODUCERE	5/5
PARTEA I. STUDIU DE LITERATURĂ	
CAPITOLUL 1. CHITOSANUL - POLIMER VERSATIL	9
1.1. Introducere	9
1.2. Caracteristici structurale	9
1.3. Proprietăți fizico-chimice	11
1.3.1. Masa moleculară și gradul de deacetilare	11
1.3.2. Solubilitatea	11
1.3.3. Modificarea chimică	12
1.3.4. Reticularea chitosanului	19
1.3.5. Materiale compozite	21
1.4. Proprietăți biologice	22
1.4.1. Biodegradarea	22
1.4.2. Toxicitatea	23
1.4.3. Acțiune hemostatică	23
1.4.4. Acțiunea microbicidă	24
1.4.5. Mucoadezivitate	24
1.4.6. Proprietăți de transfecție	25
1.4.7. Proprietăți de inhibare a pompei de eflux	26
1.5. Utilizări biomedicale	26
1.5.1. Sisteme cu eliberare medicamentoasă	26
1.5.2. Aplicații la nivel cutanat și mucocutanat	28
1.6. Utilizări în sisteme de producere a energiei	29
1.6.1. Pile de combustie cu membrane schimbătoare de protoni	29
1.7. Utilizări în protecția mediului	31
1.7.1. Adsorbția de coloranți	32
1.8. Concluzii	36
SCOP ȘI OBIECTIVE	37/6

PARTEA A II-A: REZULTATE PROPRII

CAPITOLUL 2. PARTE EXPERIMENTALĂ	41
2.1. Materiale utilizate	41
2.2. Metode de preparare	43
2.2.1. Prepararea membranelor poroase de chitosan cu efect analgezic	43
2.2.2. Prepararea filmelor de chitosan cu efect antifungic	44
2.2.3. Prepararea membranelor compozite ionic conductoare pentru utilizare în sisteme de producere a energiei	46
2.2.4. Prepararea particulelor compozite de chitosan și ferită de cobalt dopată cu samariu pentru adsorbția de coloranți	48
2.3. Metode de caracterizare a materialelor	50

2.3.1. Determinarea masei moleculare a chitosanului	50
2.3.2. Determinarea gradului de deacetilare al chitosanului (GD)	51
2.3.3. Metode fizico-chimice de caracterizare a materialelor obținute	53
2.3.4. Metode de caracterizare a membranelor poroase de chitosan încărcate cu lidocaină	53
2.3.5. Metode de caracterizare a filmelor de chitosan cu nistatină	57
2.3.6. Metode de caracterizare a dioxidului de titan sulfat și a membranelor compozite	59
2.3.7. Metode de caracterizare a feritei spinel și a particulelor compozite chitosan/ ferită	62
CAPITOLUL 3. MEMBRANE AMFIFILICE PE BAZĂ DE CHITOSAN CU EFECT ANALGEZIC PERCUTANAT	65/7
3.1. Introducere	65/7
3.2. Prepararea membranelor de chitosan cu lidocaină	67
3.3. Studii de spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier (FTIR)	68
3.3.1. Protonarea chitosanului în soluție diluată de acid acetic	68
3.3.2. Absorbții IR specifice derivatului N-succinil chitosan (CS-AS) și chitosanului reticulat (CS-DS)	70
3.3.3. Absorbțiile IR ale membranelor poroase de N-succinil chitosan reticulat cu disiloxan	71
3.4. Morfologia membranelor	72/8
3.4.1. Distribuția probabilistică a porilor	74
3.4.2. Studii de spectroscopie de raze X cu dispersie după energie (EDX)	75
3.5. Proprietăți mecanice	75
3.6. Stabilitatea membranelor poroase în mediu simulat	77
3.7. Capacitatea de umflare	77/8
3.8. Eliberarea <i>in vitro</i> a lidocainei	79/9
3.9. Activitatea antibacteriană	80/10
3.10. Evaluarea efectului analgezic <i>in vivo</i>	81/10
3.11. Concluzii	82/11
CAPITOLUL 4. FILME POLIMERICE PE BAZĂ DE CHITOSAN CU EFECT ANTIFUNGIC	83/12
4.1. Introducere	83/12
4.2. Prepararea filmelor de chitosan cu nistatină	84/12
4.3. Spectroscopie în infraroșu FTIR	85
4.4. Morfologia filmelor de chitosan cu nistatină	88/12
4.4.1. Studii de spectroscopie de raze X cu dispersie după energie (EDX)	91
4.5. Evaluarea proprietăților mecanice	92/13
4.6. Capacitatea de umflare	93/14
4.7. Eliberarea <i>in vitro</i> a nistatinei	95/15
4.8. Activitate antifungică	96/16
4.9. Concluzii	97/16

CAPITOLUL 5. MEMBRANE COMPOZITE DE CHITOSAN ȘI DIOXID DE TITAN SULFATAT CU POTENȚIALE APLICAȚII CA MEMBRANE SCHIMBĂTOARE DE PROTONI: INFLUENȚA NATURII RETICULANȚILOR	99/17
5.1. Introducere	99/17
5.2. Prepararea membranelor compozite de chitosan și dioxid de titan sulfat	99/17
5.3. Studiu de spectroscopie în infraroșu (FTIR)	101
5.4. Microscopie electronică de baleiaj (SEM)	103
5.5. Spectroscopie de raze X cu dispersie după energie (EDX)	104
5.6. Investigarea proprietăților termice	105/18
5.7. Studiul proprietăților mecanice	107/19
5.8. Cinetica capacității de absorbție a apei	108/20
5.9. Stabilitatea chimică a membranelor compozite	110/21
5.10. Studii de spectroscopie dielectrică	111/21
5.10.1. Comportamentul dielectric general al membranelor uscate	111
5.10.2. Conductivitatea electrică a membranelor uscate	112/21
5.10.3. Influența absorbției de apă asupra conductivității protonice a membranelor	115/22
5.10.4. Măsurători ale conductivității protonilor (PC)	118/23
5.11. Concluzii	119/23
CAPITOLUL 6. PARTICULE COMPOZITE PE BAZĂ DE CHITOSAN ȘI FERITĂ DE COBALT DOPATĂ CU SAMARIU PENTRU ADSORBȚIA DE COLORANȚI ANIONICI DIN SOLUȚII APOASE	121/24
6.1. Introducere	121/24
6.2. Prepararea și caracterizarea feritei de cobalt dopată cu samariu (CoFe _{1.98} Sm _{0.02} O ₄)	121/24
6.2.1. Fluorescență de raze X (XRF)	122
6.2.2. Difrakția cu raze X (XRD)	122
6.2.3. Studii de spectroscopie în infraroșu cu Transformată Fourier	123
6.2.4. Microscopie electronică prin Transmisie (TEM)	124/24
6.2.5. Analiza proprietăților magnetice	124/24
6.3. Prepararea și caracterizarea particulelor compozite de chitosan cu CoFe _{1.98} Sm _{0.02} O ₄	125/25
6.3.1. Studii de spectroscopie în infraroșu cu Transformată Fourier	126
6.3.2. Microscopia electronică de baleiaj (SEM)	127
6.3.3. Analiza proprietăților magnetice	127/25
6.3.4. Determinarea suprafeței specifice prin metoda BET	128
6.3.5. Determinarea punctului de sarcină electrică nulă (pHPZC)	128
6.4. Proprietățile de adsorbție ale particulelor compozite CoFe _{1.98} Sm _{0.02} O ₄ -CS-ECH	129/26
6.4.1. Cinetica de adsorbție a colorantului Portocaliu Acid 7	129/26
6.4.2. Izotermele de adsorbție	132/27
6.4.3. Comportamentul termodinamic al procesului de adsorbție	135
6.4.4. Influența pH-ului și a dozei de sorbent: modelare și optimizare	136/28
6.4.5. Reutilizarea și recuperarea sorbentului	140/28

6.5. Concluzii	141/29
CAPITOLUL 7. CONCLUZII GENERALE	143/30
PERSPECTIVE	145/31
BIBLIOGRAFIE	147/32
ANEXA 1: Activitatea științifică	169/34
ANEXA 2: Copii ale articolelor științifice publicate	175

INTRODUCERE

Caracteristicile remarcabile și proprietățile atractive ale chitosanului au fost exploatate cu succes în prepararea de materiale noi, specializate, cu o performanță crescută și proprietăți funcționale ideale pentru utilizări biomedicale, de producere a energiei sau de protecție a mediului. Reactivitatea grupărilor hidroxilice și aminice facilitează modificările și evoluțiile ulterioare ale structurii chitosanului, adăugând astfel și creând proprietăți inovatoare, inclusiv capacitate de răspuns la diferiți stimuli externi.

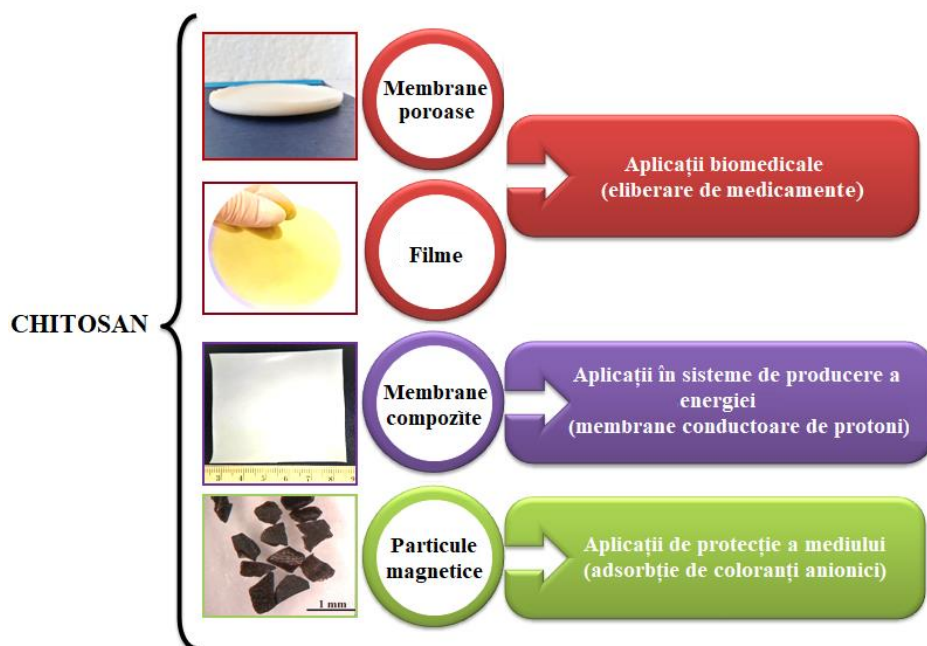
Lucrarea de doctorat intitulată „*Studii privind modificarea chitosanului pentru aplicații medicale, în sisteme alternative de producere a energiei și de protecție a mediului*” este axată pe utilizarea chitosanului în prepararea de materiale concepute pentru utilizări specifice: membrane poroase și filme pentru eliberare de medicamente, membrane polielectrolitice pentru celule de hidrogen, particule compozite pentru adsorbția de poluanți organici din ape uzate.

Teza de doctorat este structurată în două părți. Partea I cuprinde **Capitolul 1** care prezintă o trecere în revistă a literaturii științifice legate de proprietățile fizico-chimice și biologice ale chitosanului. În plus, în acest capitol sunt sintetizate informații asupra principalelor utilizări ale materialelor pe bază de chitosan. Partea a II-a a tezei prezintă rezultatele originale obținute și este împărțită în cinci capitole. În **Capitolul 2** sunt detaliate materialele utilizate, metodele de lucru și tehnicile de caracterizare folosite în elaborarea acestei lucrări. **Capitolul 3** cuprinde rezultatele cu privire la sinteza unor noi membrane poroase amfilice de chitosan încărcate cu lidocaină, caracterizarea morfo-structurală, proprietățile de eliberare *in vitro* a medicamentului și testarea *in vivo* a efectului anestezic. Prepararea și caracterizarea unor sisteme medicamentoase de eliberare a nistatinei, sub formă de filme, pentru tratamentul candidozelor mucocutanate, precum și evaluarea activității antifungice a acestora sunt descrise în **Capitolul 4**. **Capitolul 5** propune sinteza de membrane compozite ionic conductoare cu matrice de chitosan/dioxid de titan sulfatat și evaluează proprietățile chimice, termice, mecanice și performanțele în conductivitate protonică pentru utilizări în pilele de combustibil. **Capitolul 6** prezintă obținerea de particule compozite pe bază de chitosan și ferită de cobalt dopată cu samariu pentru adsorbția coloranților anionici din soluții apoase. Au fost evaluate proprietățile lor fizico-chimice, de adsorbție și posibilitatea recuperării/reutilizării materialului adsorbant.

Fiecare capitol este însoțit de concluziile specifice, ulterior fiind expuse concluziile generale și sursele bibliografice. În finalul tezei sunt trecute ca anexe lista lucrărilor științifice publicate și/sau comunicate (**Anexa I**), respectiv copii ale lucrărilor publicate, raportate la subiectul tezei (**Anexa II**).

SCOP ȘI OBIECTIVE

Chitosanul, ca polimer obținut din resurse regenerabile, continuă să suscite interesul comunității științifice pentru găsirea unor materiale inovatoare cu proprietăți specifice, în funcție de domeniul de utilizare. Scopul lucrării este de a fructifica versatilitatea chitosanului în modificarea structurii și a proprietăților sale, pentru a demonstra utilitatea materialelor rezultate ca sisteme cu eliberare de principii biologice active, ca membrane polielectrolitice conductoare de protoni și ca sisteme hibride pentru depoluarea apelor uzate (*Schema 1*).



Schema 1. Reprezentare schematică a materialelor pe bază de chitosan studiate, tipul de material și domeniul de utilizare al acestora

Astfel, au fost luate în considerare o serie de obiective specifice:

- selectarea metodelor adecvate și denumirea parametrilor de modificare chimică și/sau fizică a chitosanului, care să permită creșterea solubilității la pH neutru și bazic a polimerului (în consecință și a prelucrabilității sale), ori obținerea de materiale stabile hidrodinamic și mecanic;
- aditivarea chitosanului și materialelor derivate cu principii active sau cu agenți de umplere anorganici, pentru a conferi materialelor finale un caracter multifuncțional;
- investigarea detaliată a relației structură – morfologie – proprietăți fizico-chimice/de utilizare;
- testarea materialelor finale în condiții simulate relevante.

CAPITOLUL 3. MEMBRANE AMFIFILICE PE BAZĂ DE CHITOSAN CU EFECT ANALGEZIC PERCUTANAT

3.1. Introducere

Acest capitol este destinat proiectării și preparării unor membrane poroase de chitosan, capabile să ofere protecție mecanică și septică leziunilor cutanate, favorizând în același timp regenerarea țesutului. Pentru a îndeplini aceste funcții, membranele trebuie să fie caracterizate de proprietăți precum: stabilitate mecanică și hidrodinamică, flexibilitate, lipsa aderenței la țesut, activitate antimicrobiană, absența toxicității, capacitate de sorbție a fluidelor fiziologice în exces și, în același timp, să dețină o capacitate adecvată de eliberare transdermală a medicamentelor.

3.2. Prepararea membranelor de chitosan cu lidocaină

Membranele poroase încărcate cu lidocaină au fost preparate printr-o succesiune de procese chimice și fizice reprezentate în **Figura 3.2**. Primul proces constă în modificarea parțială a grupărilor aminice ale chitosanului (CS) cu anhidrida succinică (AS) și obținerea N-succinil chitosanului (CS-AS). Reacția are loc în apă acidulată cu acid acetic în și decurge, în principal la grupările aminice libere. Cel de-al doilea proces a presupus modificarea succinil-chitosanului prin reticulare cu 1,3-bis-(3-glicidiloxipropil)-1,1,3,3-tetrametildisiloxan (DS), la grupările aminice rămase libere. Pentru a obține membrane poroase cu lidocaină (LID) aceasta a fost adăugată *in situ* ulterior modificării chimice a chitosanului, folosindu-se un raport masic CS/LID de 3/1. Membranele fără LID sunt numerotate în ordinea creșterii cantității de AS și, respectiv scăderii DS (CS-AS/DS-(1-5)), codificarea membranelor încărcate cu LID fiind CS-AS/DS-(1-5)-LID.

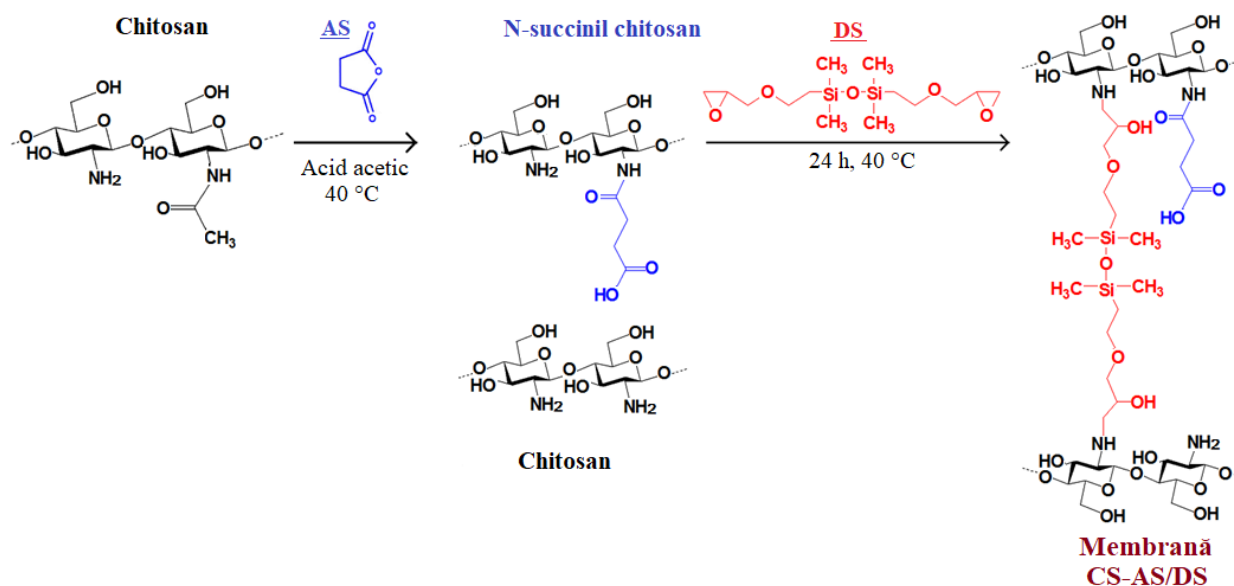


Figura 3.2. Schema reacției de modificare a chitosanului: obținerea derivatului de N-succinil chitosan prin reacția chitosanului cu anhidridă succinică și reacția de reticulare a derivatului de chitosan cu DS

3.4. Morfologia membranelor

Analiza morfologică a tuturor membranelor obținute a fost realizată cu ajutorul microscopiei electronice de baleiaj, atât la suprafața membranelor, cât și în secțiune. Datorită procedurii de uscare folosit, membranele obținute au o structură poroasă, ca rezultat al îndepărtării cristalelor de gheață pe durata procesului de liofilizare. Cu toate acestea, morfologia membranelor a variat în funcție de compoziția acestora, așa cum a fost evidențiată prin imaginile microscopice realizate atât la suprafața, cât și în secțiunea membranelor (**Figura 3.5**).

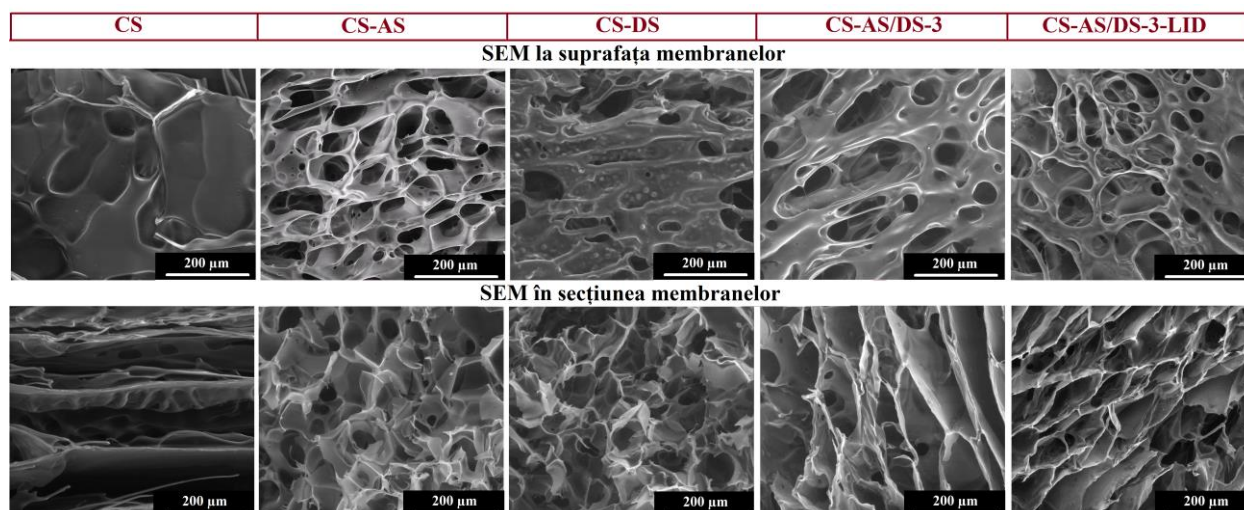


Figura 3.5. Imagini SEM la suprafață (sus) și în secțiunea (jos) membranelor de chitosan (CS), chitosan succinilat (CS-AS), chitosan reticulat cu DS (CS-DS), chitosan modificat chimic cu AS și DS într-un raport molar de 25/59 fără (CS-AS/DS-3) și cu lidocaină (CS-AS/DS-3-LID)

3.7. Capacitatea de umflare

Capacitatea de umflare a membranelor poroase în soluție de PBS, la o temperatură de 37 °C, este redată grafic în **Figura 3.9**. Creșterea cantității de AS și diminuarea cantității de reticulant a indus o creștere a capacității de umflare atât pentru membranele fără medicament, cât și pentru membranele încărcate cu lidocaină. În comparație cu membranele fără lidocaină (**Figura 3.9.a**), capacitatea de umflare a membranelor cu medicament (**Figura 3.9.b**) este mai redusă, dată fiind creșterea hidrofobiei pe seama grupărilor hidrofobe din structura lidocainei. Cu toate acestea, valorile capacității de absorbție la pH neutru recomandă aceste membrane pentru utilizarea lor în tratamentul leziunilor cutanate, în funcție de dimensiunea leziunii (leziunile apărute pe suprafețe mai mari produc o cantitate mai mare de exsudat; sunt preferate membranele cu cel mai mare număr de unități succinil și gradul de reticulare cel mai redus) [192].

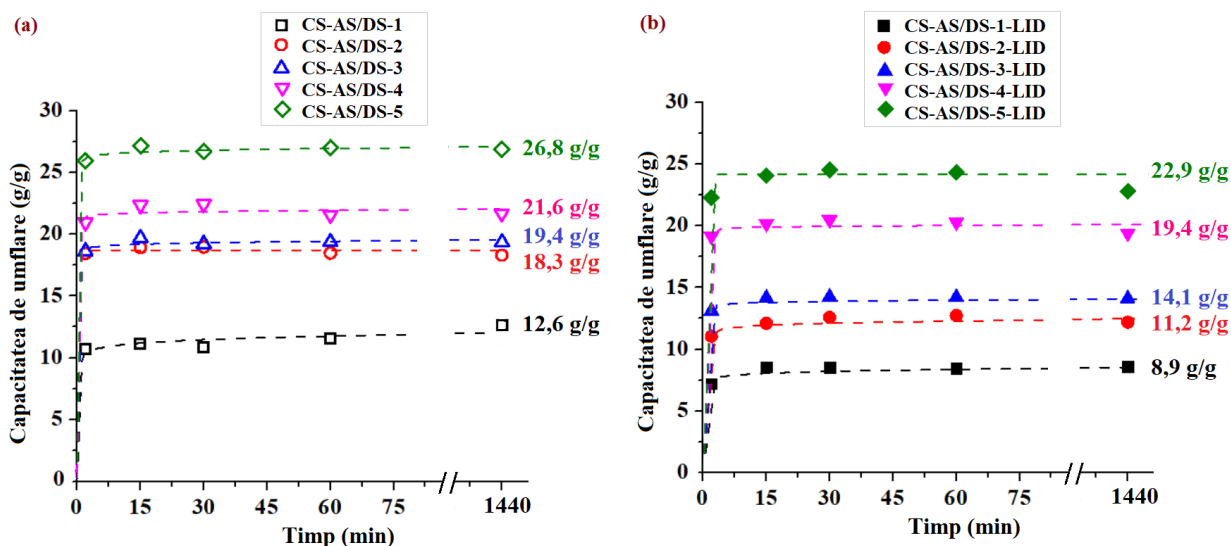


Figura 3.9. Reprezentarea grafică a capacității de umflare a membranelor fără (a) și cu lidocaină (b) în soluție de PBS la 37 °C; liniile punctate reprezintă liniile de tendință determinate prin modelul de tip putere (Power)

3.8. Eliberarea in vitro a lidocainei

În **Figura 3.10** au fost reprezentate curbele de eliberare pentru membrana cu gradul de reticulare cel mai mare (CS-AS/DS-1-LID), respectiv cu cel mai mic conținut de agent de reticulare DS (CS-AS/DS-5-LID). Se poate constata eliberarea de lidocaină este favorizată de creșterea cantității de anhidridă succinică și diminuarea cantității de compus disiloxanic. Astfel, în ambele cazuri s-a observat o eliberare în două etape, cu o eliberare inițială rapidă în primele 20 de minute, eliberându-se 74 și 81 % din membrana CS-AS/DS-1-LID, respectiv CS-AS/DS-1-LID. În continuare, procesul decurge cu eliberare lentă, atingându-se valori maxime ale LID eliberate după aproximativ o oră de menținere a membranelor în soluție PBS, valori care nu se modifică după timpi îndelungați de contact (6 ore). Din punct de vedere clinic, o eliberare rapidă inițială în stadiul incipient constituie un beneficiu, întrucât ajută la atingerea unei concentrații terapeutice a medicamentului în cel mai scurt timp, iar eliberarea susținută ulterioară ajută la menținerea unei concentrații minime eficientă [167].

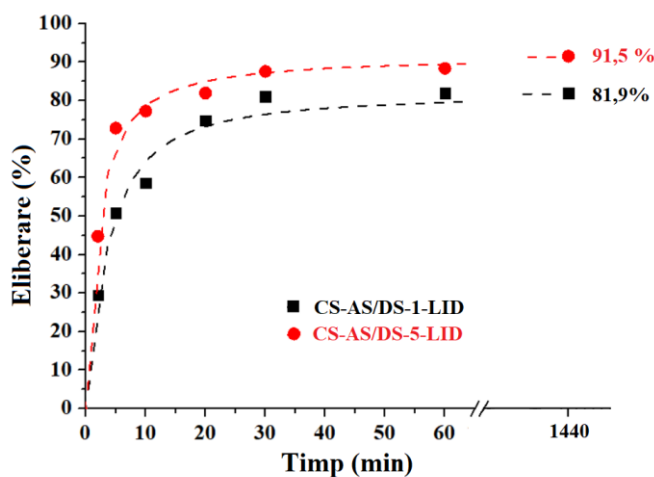


Figura 3.10. Eliberarea de lidocaină din membranele CS-AS/DS-1-LID și CS-AS/DS-5-LID (PBS, pH 7,4, 37 °C)

3.9. Activitatea antibacteriană

S-a verificat efectul membranelor asupra inhibării proliferării a două tulpini de *Staphylococcus aureus* (*Stafilococ auriu* și *Stafilococ auriu metilino-rezistent (MRSA)*). În **Figura 3.11** sunt prezentate imaginile zonelor de inhibiție. Membranele de chitosan simple nu au manifestat practic activitate inhibitorie, ceea ce verifică date raportate anterior în literatură [193], conform cărora chitosanul are o activitate nesemnificativă asupra bacteriilor gram pozitive. Spre deosebire de membrana de chitosan simplă, toate celelalte membrane au arătat efect inhibitoriu semnificativ pentru tulpinile analizate, explicația constând în prezența grupărilor carboxilice negative rezultate prin modificarea chitosanului cu anhidridă succinică. Nu este de neglijat nici contribuția sinergetică a lidocainei, care pe lângă efectul anestezic este cunoscută cu efect antibacterian [194].

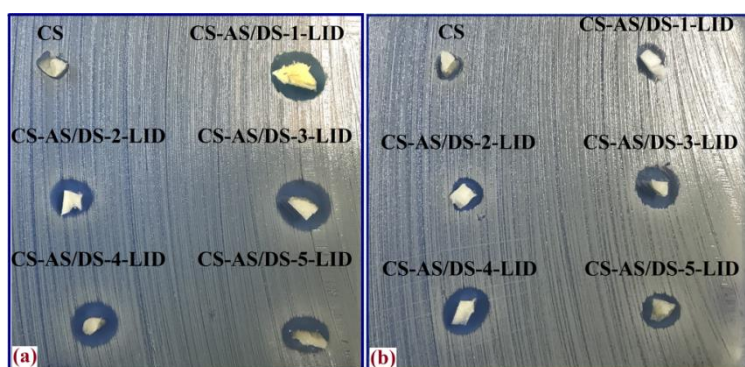


Figura 3.11. Activitatea antimicrobiană a membranelor de chitosan testate pe stafilococ auriu (a) și MRSA (b)

3.10. Evaluarea efectului analgezic in vivo

Pentru a demonstra capacitatea de eliberare transdermală a lidocainei de către membranele poroase de chitosan s-a recurs la testarea *in vivo*, pe șobolani Wistar, a membranei cu cea mai bună capacitate de eliberare a LID (CS-AS/DS-5-LID), utilizând metoda „plăcii încinse”. Rezultatele obținute sunt redată în **Figura 3.12**, observându-se că efectul anestezic evaluat prin timpul de reacție a subiectului apare imediat, din primele minute de testare, cu o hiperanalgezie în primele 45 de minute și menținerea efectului anestezic pe toată durata experimentului (4 ore). Rezultate similare au fost obținute și pe alte tipuri de membrane de chitosan cu eliberare transdermală de lidocaină, care s-au dovedit ușor superioare produsului comercial EMLA (amestec eutectic între lidocaină și prilocaină) [195].

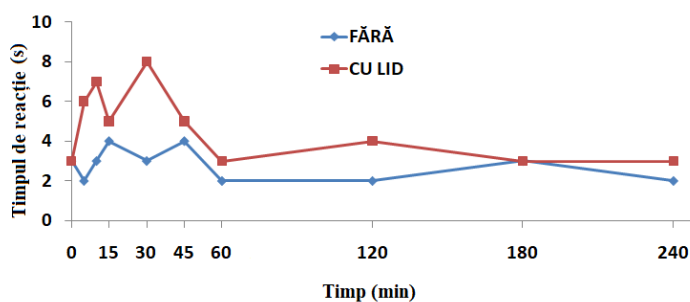


Figura 3.12. Efectul analgezic al lidocainei determinat prin metoda „plăcii încinse”

3.11. Concluzii

Au fost preparate un set de cinci membrane poroase de chitosan modificat cu anhidridă succinică și reticulat cu un bis-epoxi disiloxan, pentru a fi utilizate în tratamentul leziunilor cutanate și în gestionarea durerii. Compușii de modificare a chitosanului au fost astfel selectați încât să ofere produselor finale caracter amfifil, capacitate crescută de absorbție a lichidelor fiziologice (pentru leziuni ale pielii care prezintă exsudat) și permitivitate adecvată a oxigenului.

Membranele poroase obținute au dovedit o capacitate de absorbție de apă la pH neutru, cuprinsă între 9 și 23 g/g, în funcție de raportul unități succinil hidrofile/unități disiloxan hidrofobe. Structura poroasă observată în imaginile SEM, dimensiunile porilor cuprinse în general între 20-100 μm și proprietățile mecanice recomandă materialele obținute pentru sisteme terapeutice cu eliberare medicamentoasă sub formă de membrane.

Membranele amfifilice au manifestat o eliberare rapidă în primele 20 min, benefică pentru ameliorarea imediată a durerilor, dar și o eliberare prelungită pentru o perioadă relativ lungă de timp, asigurând astfel confortul și acceptabilitatea pacientului în tratamentul plăgilor cutanate.

Testele *in vivo* au confirmat capacitatea membranelor de eliberare transdermală a LID, iar evaluarea activității antibacteriene a demonstrat dublul efect terapeutic al membranelor poroase, care au manifestat atât activitate analgezică, cât și antibacteriană.

CAPITOLUL 4. FILME POLIMERICE PE BAZĂ DE CHITOSAN CU EFECT ANTIFUNGIC

4.1. Introducere

Proprietățile induse chitosanului prin sinteza derivatului N-succinil chitosan și reticularea cu 1,3-bis(3-glicidoxipropil)tetrametildisiloxan cu grupări epoxidice terminale au fost evaluate pentru obținerea unor sisteme terapeutice sub formă de filme, pentru tratamentul infecțiilor fungice cauzate de speciile din genul *Candida*. Nistatina a fost aleasă ca principiu activ, fiind un antifungic polienic cunoscut pentru un spectru larg de activitate în profilaxia și tratamentul candidozelor la nivelul pielii și a mucoaselor.

4.2. Prepararea filmelor de chitosan cu nistatină

În conformitate cu rezultatele obținute anterior în sistemele de eliberare a lidocainei, chitosanul a fost modificat chimic utilizând aceiași precursori evaluați în capitolul anterior (anhidrida succinică-AS și 1,3-bis(3-glicidiloxipropil)-1,1,3,3-tetrametildisiloxan-DS). Obținerea filmelor cu nistatină a presupus dizolvarea chitosanului într-o soluție de acid lactic, întrucât s-a demonstrat că acesta induce filmelor proprietăți mecanice adecvate cerințelor prin creșterea flexibilității și a bioadeziunii, spre deosebire de acidul acetic [204]. Au fost obținute filme cu grosimi de dimensiuni micrometrice de chitosan încărcate cu nistatină (CS-NIS) și succinil chitosan reticulat cu disiloxan, aditivat cu nistatină (CS-AS/DS-NIS). Pentru prepararea filmelor încărcate cu nistatină s-au utilizat două tipuri de nistatină diferite prin dimensiunea particulelor și anume, nistatină micronizată (NISm) cu 90% din dimensiunea particulelor sub 10 μm și nistatină standard (NISs) cu 90% din dimensiunea particulelor sub 45 μm.

4.4. Morfologia filmelor de chitosan încărcate cu nistatină

Microscopia SEM a fost utilizată și pentru a evalua morfologia filmelor de chitosan și nistatină prin raportare la filmul CS-LA, atât în secțiune (**Figura 4.5**), cât și la suprafață. Se observă faptul că filmul CS-LA prezintă în secțiune o structură omogenă, foarte densă și coezivă, caracteristică filmelor de chitosan nemodificat [215]. Prin raportare la structura microscopică în secțiune a filmelor de chitosan și nistatină, s-a observat faptul că introducerea în sistem a anhidridei succinice (AS) și a agentului de reticulare disiloxanic (DS) a indus apariția porilor bine delimitați și neuniform dimensionali, distribuiți pe toată grosimea filmului. Această morfologie este explicată de prezența secvențelor hidrofobe siloxanice în matricea polimerică, dat fiind caracterul polar al mediului de separare (soluție de apă și acid lactic) [216].

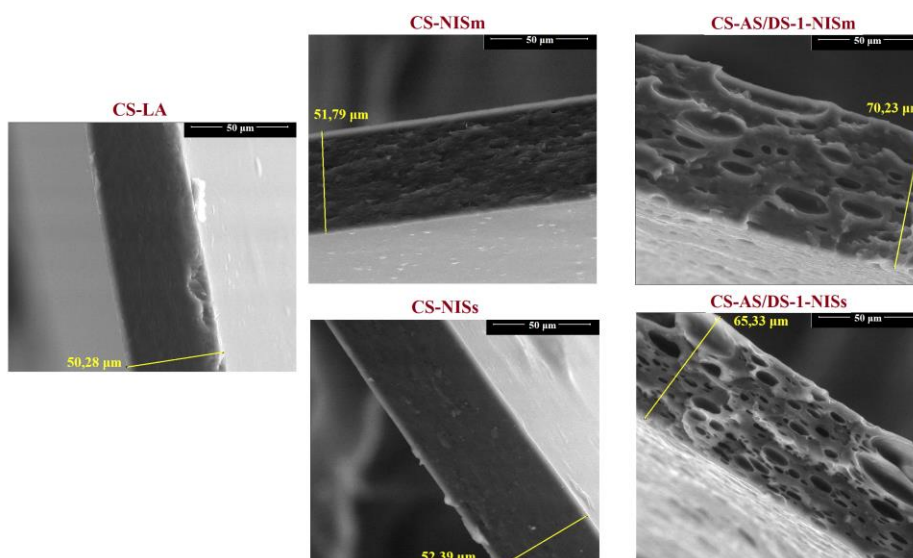


Figura 4.5. Morfologiile în secțiune ale filmului de chitosan nemodificat (CS-LA), filmelor de chitosan cu nistatină (CS-NISm și CS-NISs), respectiv filmelor reticulate cu DS (CS-AS/DS-1-NISm și CS-AS/DS-1-NISs)

4.5. Evaluarea proprietăților mecanice

Pe baza curbelor caracteristice tensiune-deformație au fost determinate rezistența la tracțiune, alungirea la rupere și modulul de elasticitate, valorile acestora fiind redată în **Tabelul 4.2**. Comparativ cu filmul CS-LA, toate filmele de chitosan și nistatină preparate au manifestat o creștere a alungirii la rupere și o diminuare a rezistenței la tracțiune. Această creștere a elasticității se datorează introducerii în sistem a glicerinei, cunoscută pentru acțiunea sa plastifiantă [219]. În plus, modulul de elasticitate la tracțiune a crescut odată cu diminuarea conținutului de DS, de la 0,28 MPa (CS-AS/DS-1-NISm) la 0,40 MPa (CS-AS/DS-2-NISm) pentru filmele cu nistatină micronizată și de la 0,26 MPa (CS-AS/DS-1-NISs) la 0,45 MPa (CS-AS/DS-2-NISs) pentru filmele cu nistatină standard. Această tendință se regăsește și în literatura de specialitate, cunoscându-se faptul că polisiloxanii induc filmelor de chitosan o creștere a flexibilității [185].

Tabel 4.2. Proprietățile mecanice ale filmelor de chitosan și nistatină

Film	Rezistența la tracțiune (MPa)	Alungirea la rupere (%)	Modulul lui Young (MPa)
CS-LA	101,63	4,31	43,23
CS-NISm	2,89	74,40	0,1207
CS-AS/DS-1-NISm	1,60	34,43	0,2889
CS-AS/DS-2-NISm	1,04	4,41	0,4073
CS-NISs	2,71	67,60	0,1095
CS-AS/DS-1-NISs	1,42	25,67	0,2669
CS-AS/DS-2-NISs	1,42	5,88	0,4580

4.6. Capacitatea de umflare

Capacitatea de umflare a filmelor de chitosan cu nistatină a fost evaluată prin imersarea acestora în soluții de PBS cu pH-uri diferite, pentru a simula pH-ul a două fluide biologice: saliva (pH 7,4) și fluidul vaginal (pH 4,2) [220] și este redată grafic în **Figura 4.9**.

Capacitățile maxime de umflare au fost atinse de filmele CS-AS/DS-2-NISm și CS-AS/DS-2-NISs atât la pH 7,4, cât și la pH 4,2, datorită conținutului crescut de anhidridă succinică și gradului de reticulare mai mic. Așa cum este descris și în literatura de specialitate, succinilarea chitosanului induce o creștere a solubilității sub pH 4,5 și peste pH 7, datorită protonării grupărilor aminice în mediu acid și a formării de ioni carboxilat ($-\text{COO}^-$) în mediu neutru spre bazic [221]. Capacitățile maxime de umflare au fost atinse de filmele cu un conținut crescut de anhidridă succinică și un grad redus de reticulare, fiind în conformitate cu literatura de specialitate, cunoscându-se faptul că succinilarea chitosanului crește hidrofilicitatea filmului [222], iar creșterea cantității de reticulant siloxanic inhibă umflarea filmelor în soluție PBS [189]. Valorile obținute pentru capacitatea maximă de umflare atinsă de CS-AS/DS-2-NISm au fost de 429 % în pH 7,4 și de 471% în pH 4,2, în timp ce filmul CS-AS/DS-1-NISs a avut valori mai mici ale capacității maxime de absorbție (339% în pH 7,4 și de 384% în pH 4,2).

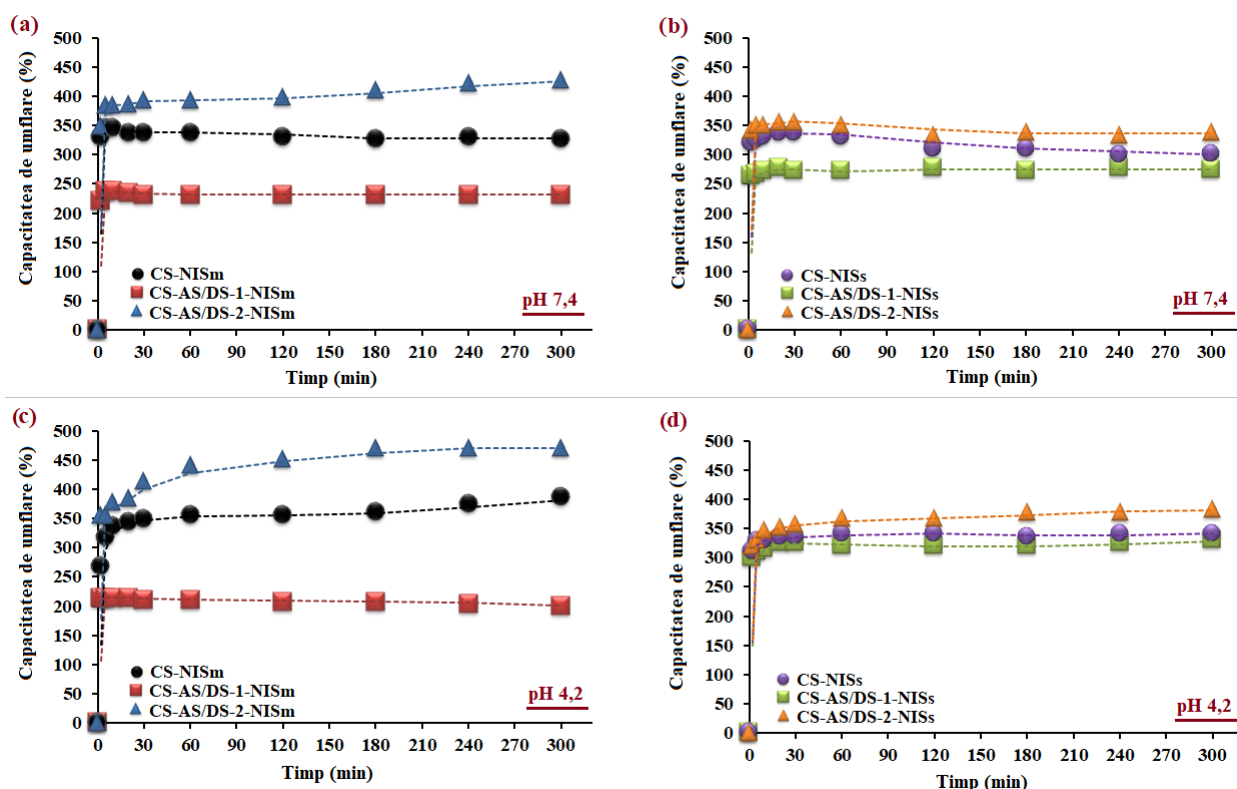


Figura 4.9. Reprezentarea grafică a capacității de umflare a filmelor de chitosan și nistatină în soluție de PBS (37 °C) la pH 7,4 (a și b) și pH 4,2 (c și d)

4.7. Eliberarea *in vitro* nistatinei

În *Figura 4.10* sunt redată cinetica de eliberare ale nistatinei la cele două pH-uri caracteristice (7,4, respectiv 4,2) la 37 °C. Cinetica de eliberare a nistatinei prezintă fenomenul de „burst” în sensul că nistatina este eliberată rapid în prima jumătate de oră, urmând o creștere din ce în ce mai lentă, creșterea fiind mai puternică pentru eliberarea în mediu acid, față de mediu bazic. De asemenea, eliberarea nistatinei este mai rapidă și atinge valori mai mari pentru nistatina standard. Valorile cele mai mari ale capacității de eliberare au fost de 96,7 % în pH 4,2 și de 82,7% în pH neutru pentru filmul CS-NISs, în timp ce filmul CS-NISm a prezentat o capacitate de eliberare de 75,4% în pH acid, comparativ cu 56,7 % în pH 7,4.

Cea mai crescută eficiență de eliberare au prezentat-o filmele de chitosan nemodificat (CS-NISm și CS-NISs) atât la pH neutru, cât și la pH acid. Totuși, s-a observat o creștere a capacității de eliberare la pH 4,2 atât pentru filmele care conțin NISm, cât și NISs, ca urmare a prezenței unui număr mai mare de grupări aminice libere și a protonării acestora în mediu acid.

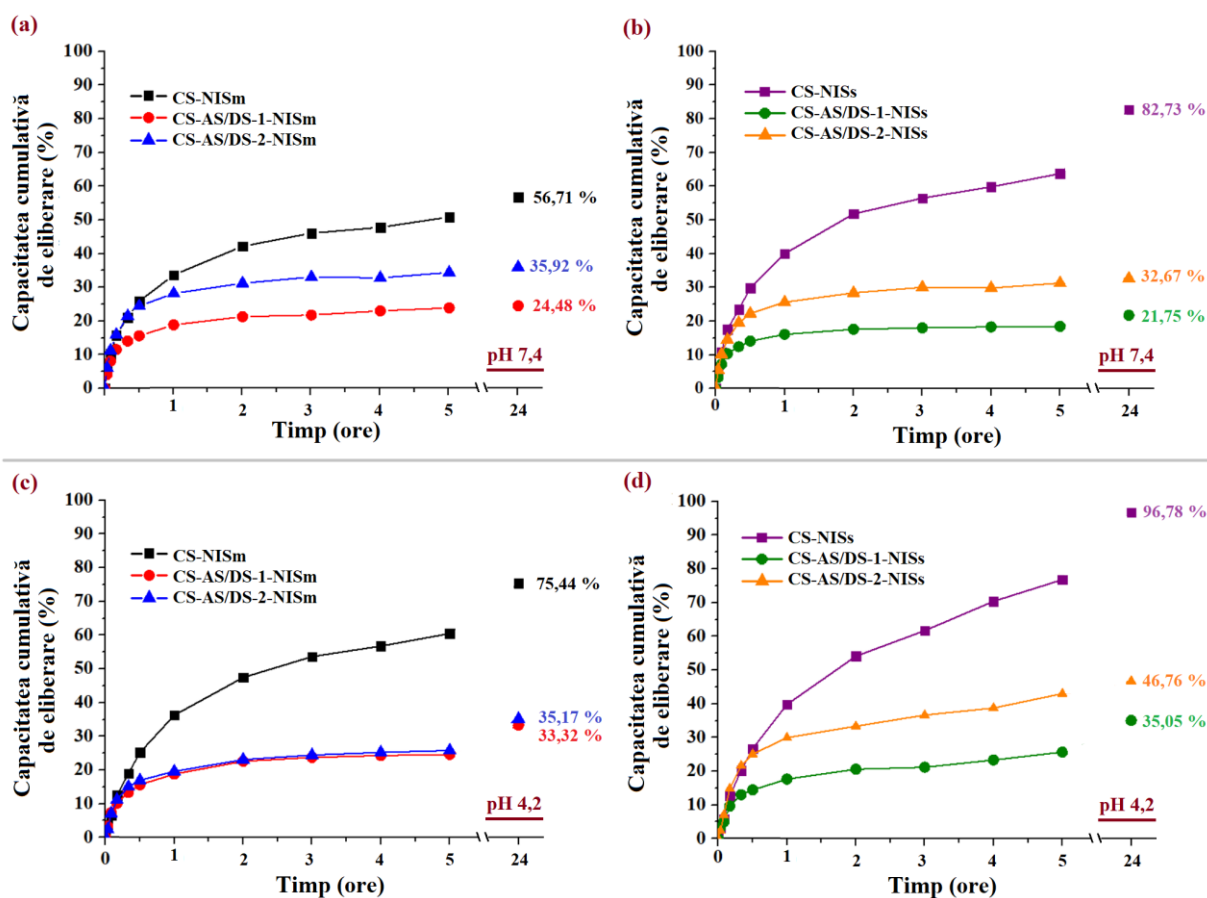


Figura 4.10. Cinetica de eliberare a nistatinei micronizate (a și c) și a nistatinei standard (b și d) din filmele de chitosan studiate, la pH 4,2 și 7,4

4.8. Activitate antifungică

În **Figura 4.11** se poate observa activitatea antifungică a filmelor de chitosan cu nistatină, investigată pe trei specii de *Candida* (*Candida albicans*, *Candida glabrata* și *Candida dubliniensis*). Toate probele au prezentat un efect antifungic pronunțat împotriva celor trei specii de *Candida*, remarcându-se zone clare de inhibiție, cu dimensiuni cuprinse între 20 și 38 mm. Dintre acestea, filmele cu matrice de chitosan nereticulat au prezentat o activitate inhibitorie crescută, ca urmare a prezenței grupărilor aminice libere și încărcate pozitiv ale chitosanului și a interacțiunii acestora cu membrana celulară încărcată negativ. Acest mecanism de acțiune prin atracție electrostatică induce deteriorarea membranelor celulare [223]. Cu toate acestea, filmele reticulate prezintă o activitate antifungică apropiată de a celor nereticulate, confirmând activitatea crescută a nistatinei împotriva *Candidei albicans*, *Candidei glabrata* și a *Candidei dubliniensis*. În plus, filmele cu conținut de NISs s-au remarcat printr-o activitate antifungică mai mare, comparativ cu cele cu NISm, rezultatele fiind în concordanță cu testele de eliberare *in vitro* a NISs.

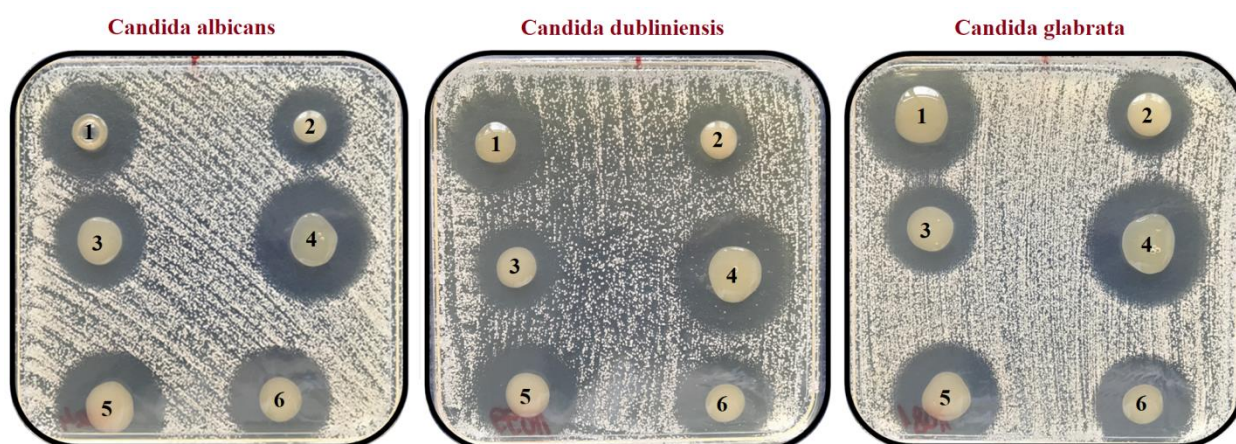


Figura 4.11. Efectul antifungic al filmelor de CS-NISm (1), CS-AS/DS-1-NISm (2), CS-AS/DS-2-NISm (3), CS-NISs (4), CS-AS/DS-1-NISs (5), CS-AS/DS-2-NISs (6) împotriva *Candidei albicans*, *Candidei dubliniensis*, *Candidei glabrata*.

4.9. Concluzii

Au fost preparate trei filme de chitosan și nistatină, fără sau cu conținut diferit de unități succinil și agent de reticulare siloxanic, fiecare dintre ele fiind încărcate cu două tipuri de nistatină (micronizată și standard). Filmele studiate au dovedit proprietăți elastice apropiate de cele ale țesuturilor moi, fiind adecvate pentru aplicarea pe diferite mucoase.

Testele *in vitro* realizate în condiții de pH simulat (4,2 pentru mucoasa vaginală și 7,4 pentru salivă) și capacitatea inhibitorie a dezvoltării a trei tipuri de *Candida* au demonstrat eficacitatea filmelor în tratamentul candidozelor mucocutanate, dependentă de zona de acțiune, de compoziția chimică a matricei polimerice și de dimensiunea nistatinei utilizate.

CAPITOLUL 5. MEMBRANE COMPOZITE DE CHITOSAN ȘI DIOXID DE TITAN SULFATAT CU POTENȚIALE APLICAȚII CA MEMBRANE SCHIMBĂTOARE DE PROTONI: INFLUENȚA NATURII RETICULANȚILOR

5.1. Introducere

Membranele propuse de literatura de specialitate ca alternativă la standardul Nafion sunt inferioare, în general, fie din punct de vedere al conductivității protonice, fie din perspectiva performanțelor reduse în ceea ce privește stabilitatea chimică, mecanică sau termică. În acest context, au fost preparate, caracterizate și evaluate membrane compozite de chitosan cu dioxid de titan sulfatat, pentru aplicarea potențială ca membrane electrolitice polimerice. Introducerea dioxidului de titan sulfatat în matricea polimerică s-a realizat pentru a îmbunătăți atât conductivitatea protonică, cât și proprietățile mecanice ale membranelor finale. Stabilitatea chimică a fost conferită prin reticularea cu acid sulfuric, tripolifosfat de sodiu și polidimetilsiloxan cu grupări epoxidice terminale. Astfel, a fost evaluată cu precădere influența pe care o manifestă agenții de reticulare asupra structurii, morfologiei și a proprietăților urmărite, cu scopul de a obține membrane polimerice ionic conductoare cu caracteristici comparabile cu ale standardului Nafion.

5.2. Prepararea membranelor compozite de chitosan și dioxid de titan sulfatat

Sinteza dioxidului de titan sulfatat s-a realizat prin ultrasonarea unui amestec de TiO_2 cu o soluție de metanol și acid sulfuric, o metodă facilă și rapidă, comparativ cu cele descrise în literatura de specialitate, care presupun procese de agitare, centrifugare și calcinare [225, 226].

Prepararea membranelor de chitosan cu un conținut de 5% material anorganic (CS-TS) a presupus de asemenea, un procedeu simplu de amestecare și uscare a compușilor. Stabilizarea particulelor de TS în matricea de chitosan se datorează interacțiunilor ionice dintre situsurile de acid Lewis și grupările aminice ale chitosanului [226], descrise schematic în *Figura 5.1*. În aceeași figură sunt descrise și reacțiile de reticulare a chitosanului cu doi agenți anorganici: acid sulfuric (HS) și tripolifosfat de sodiu (TPP), dar și cu polidimetilsiloxanul cu grupări epoxidice terminale (PDMS). Interacțiunile dintre chitosan și primii doi agenți de reticulare sunt de natură electrostatică, acestea formându-se între grupările aminice protonate ale polizaharidei și anionii acizi. Spre deosebire de aceștia, PDMS reticulează chitosanul prin formarea de legături covalente între grupările aminice ale chitosanului și grupările epoxidice atașate la extremitățile lanțului polisiloxanic.

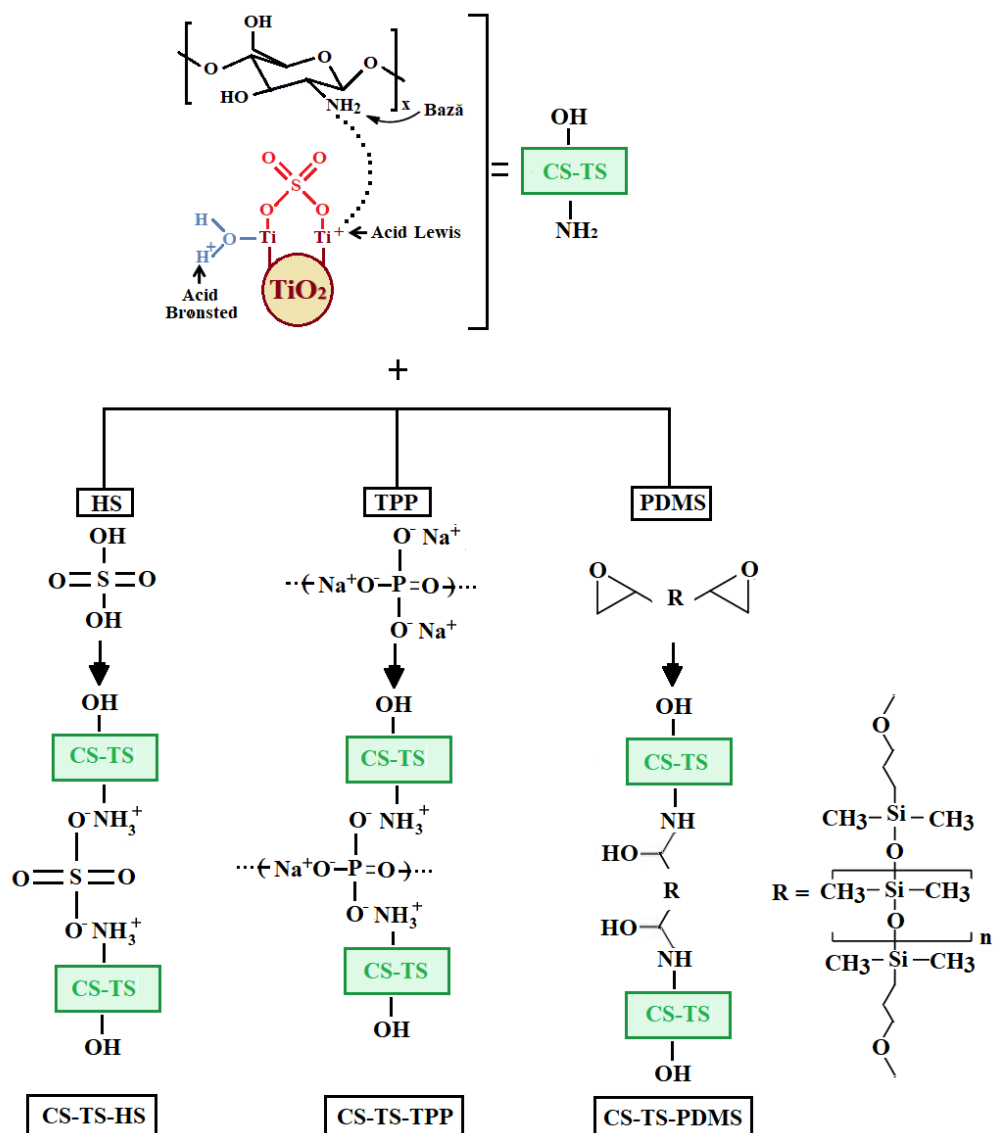


Figura 5.1. Reprezentare schematică a reacțiilor dintre CS și TS, respectiv dintre CS și cei trei agenți de reticulare folosiți

5.6. Investigarea proprietăților termice

Curbele termogravimetrice (TG) și termogravimetrice derivate (DTG) reprezentative pentru membrana de CS și membranele compozite sunt redată în **Figura 5.6**. Acestea au fost realizate în condiții atmosferice de azot, la temperaturi cuprinse între 20 și 700 °C. Mecanismul de degradare al CS implică un procese de deacetilare, deshidratare, dezaminare și depolimerizare. La temperaturi mai mici de 300 °C, au fost raportate două pierderi în greutate principale, la $T_{\max} = 73$ °C și, respectiv, la $T_{\max} = 300$ °C, așa cum s-a observat și în literatura de specialitate [235]. Primele pierderi de masă înregistrate la $T_{\max} = 73$ °C au fost determinate de evaporarea apei și a acidului acetic rezidual. La $T_{\max} = 300$ °C au fost observată o a doua etapă de pierderi masice, atribuită degradării lanțurilor polizaharidice, iar la temperaturi mai mari s-a observat o degradare continuă a polimerului până la atingerea unei mase procentuale reziduale de 34% (la 700 °C).

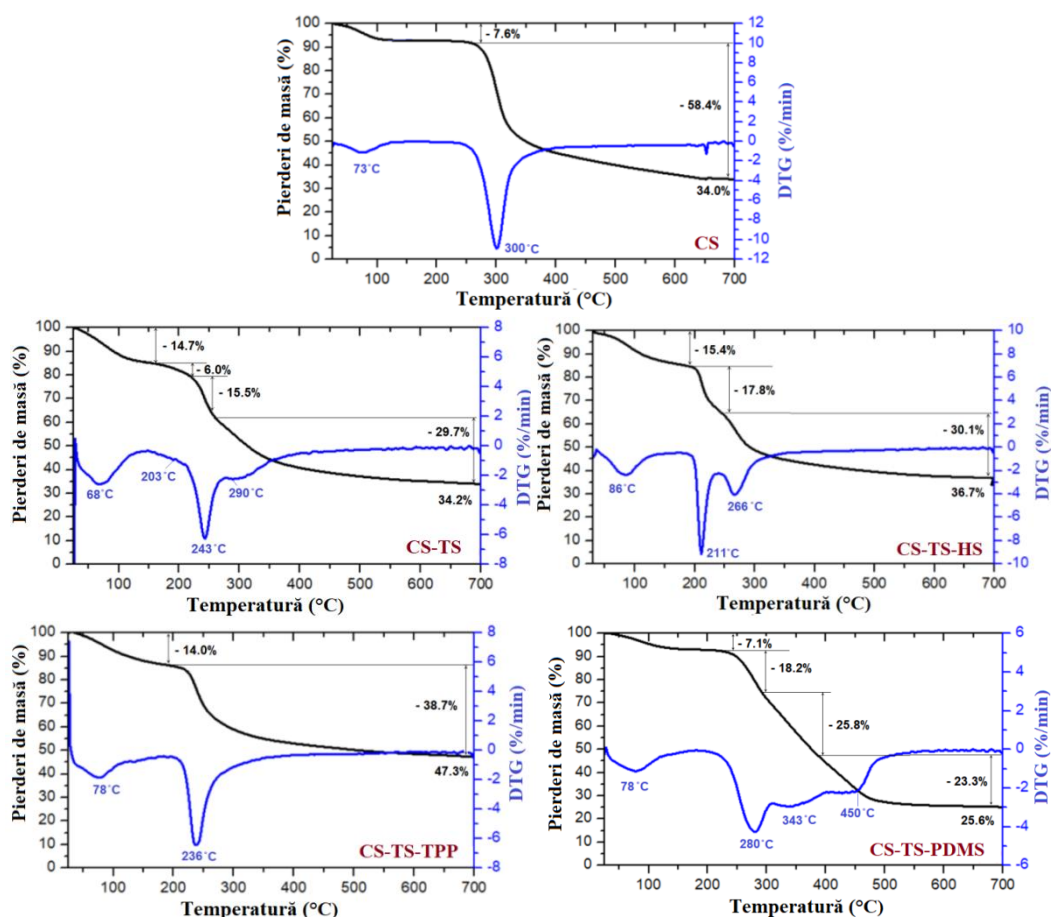


Figura 5.6. Reprezentarea curbelor TG/DTG pentru membranele compozite CS-TS, CS-TS-HS, CS-TS-TPP și CS-TS-PDMS, comparativ cu ale chitosanului (CS)

5.7. Studiul proprietăților mecanice

Proprietățile mecanice ale membranelor au fost evaluate prin determinarea parametrilor precum rezistența la rupere, deformația la rupere și modulul lui Young, iar valorile calculate sunt redată în **Tabelul 5.1**. Astfel, comparativ cu membrana nereticulată CS-TS, se poate observa că alungirea la rupere este mai mare pentru membranele CS-TS-HS și CS-TS-PDMS. Aceeași tendință s-a observat și în cazul rezistenței la rupere. În ceea ce privește modulul lui Young, valorile înregistrate au fost mai mari de 1 GPa pentru toate probele. Totuși, s-a constatat faptul că reticularea membranelor a indus o scădere a valorilor acestuia, cu excepția membranei reticulate cu acid sulfuric.

Tabel 5.1. Proprietățile mecanice ale membranelor compozite

Membrană	Deformația la rupere (%)	Rezistența la rupere (MPa)	Modulul lui Young** (GPa)
CS-TS	10,6	24,9	1,54
CS-TS-HS	11,8	40,2	1,87
CS-TS-TPP	-*	15,3	1,46
CS-TS-PDMS	39,7	50,9	1,01

* Proba alunecă la prindere, nu a avut loc nicio rupere

** Calculat la o deformație de 1%

5.8. Cinetica capacității de absorbție a apei

Prezența satisfăcătoare a unui conținut de apă în membranele conductoare de protoni influențează stabilitatea, durabilitatea și performanța acestora, fiind necesară pentru funcționarea optimă a unei celule de combustie [237]. Capacitatea de absorbție a apei a fost studiată pentru toate membranele compozite, atât la temperatura camerei (25 °C), cât și la temperaturile uzuale de lucru ale unei pile de combustibil (60 și 80°C). În **Figura 5.8** au fost reprezentate curbele cinetice de absorbție a apei corespunzătoare membranelor reticulate.

Comparând rezultatele obținute la cele trei temperaturi, au fost observate capacități de absorbție mai mari la temperatura camerei (25 °C), față de celelalte temperaturi. Acest comportament este confirmat și de literatura de specialitate, întrucât absorbția de apă de către chitosan scade odată cu creșterea temperaturii [238]. Totodată, a fost observată influența reticulantului asupra capacității de absorbție a apei la toate temperaturile. Cele mai mari capacități de absorbție au fost înregistrate de membranele reticulate cu acid sulfuric, urmând membranele reticulate cu tripolifosfat de sodiu, respectiv polidimetilsiloxan (CS-TS-PDMS < CS-TS-TPP < CS-TS-HS).

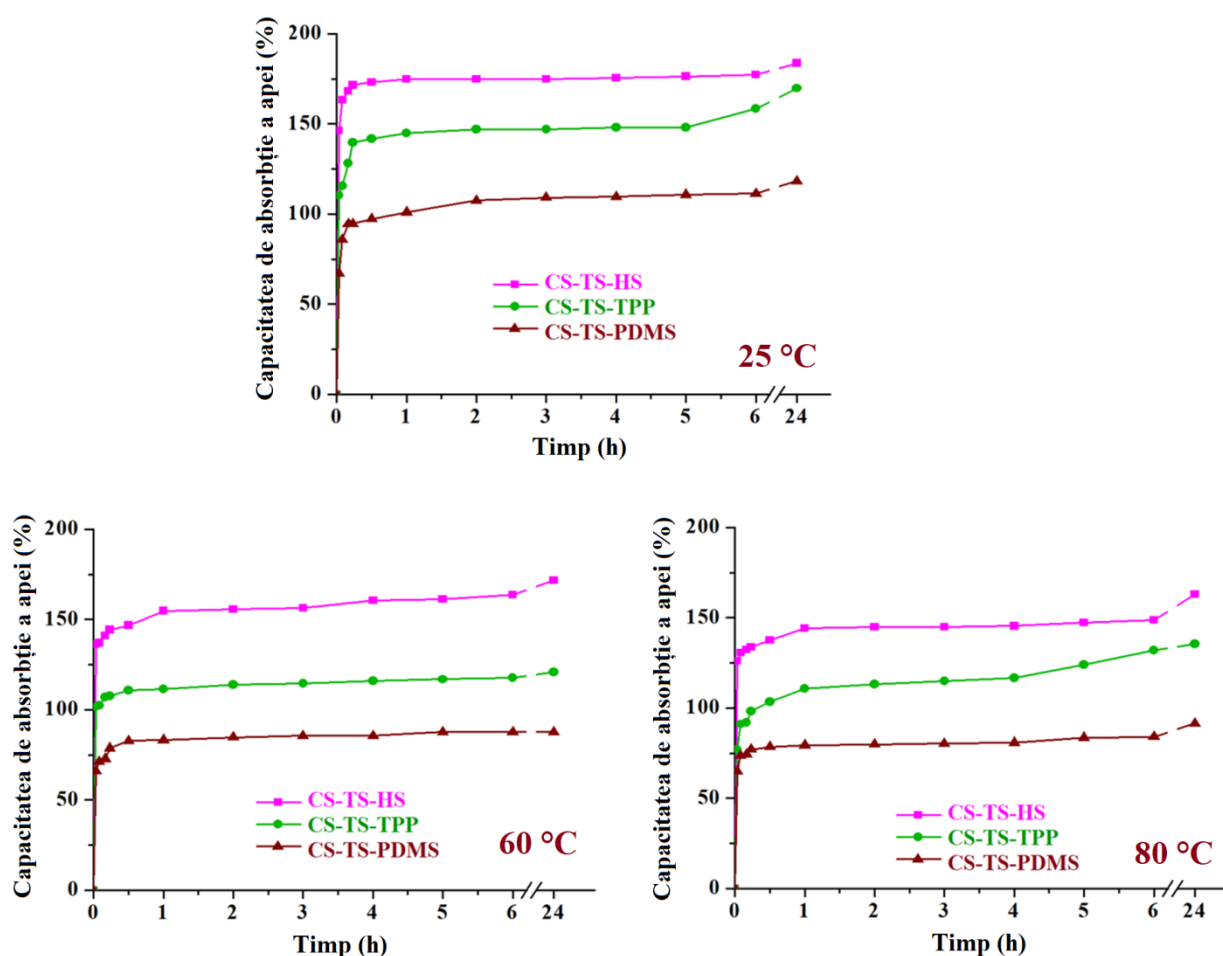


Figura 5.8. Cinetica de absorbție a apei de către membranele reticulate (CS-TS-HS, CS-TS-TPP și CS-TS-PDMS) la 25 °C, 60 °C și 80 °C

5.9. Stabilitatea chimică a membranelor compozite

Evaluarea membranelor conductoare de protoni presupune de multe ori testarea acestora din punct de vedere al stabilității oxidative și al stabilității chimice pe termen lung [239]. În acest sens, a fost evaluat comportamentul membranelor în reactiv Fenton (mediu oxidant) și în soluții acide cu pH diferit (*Tabel 5.3*). Membrana nemodificată (CS-TS) s-a dizolvat complet, atât în mediu oxidant, cât și în soluțiile acide. Rezistența membranelor la oxidare a variat în funcție de agentul de reticulare folosit. Astfel, după 24 h au fost înregistrate pierderi de masă de 15%, 22% și 30%, pentru membranele reticulate cu HS, TPP, respectiv PDMS. În mod asemănător, membranele au prezentat o stabilitate chimică variabilă, în funcție de agentul de reticulare, cuprinse între 7 și 16%. Trebuie subliniat faptul că aceste pierderi au apărut preponderent în prima oră a experimentului.

Tabel 5.3. Pierderile de masă (%) ale membranelor după imersie în reactiv Fenton (la temperatura camerei), respectiv în anumite condiții de pH

Membrană	Pierderi de masă în reactiv Fenton (%)		Pierderi de masă în soluții acide(%)								
	1h	24h	pH 3			pH 4			pH 5		
			1h	1z	7z	1h	1z	7z	1h	1z	7z
CS-TS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CS-TS-HS	10	15	14	15	17	7	11	11	15	16	17
CS-TS-TPP	8	22	10	10	13	10	11	11	15	16	17
CS-TS-PDMS	9	30	10	10	11	7	10	10	10	10	11

5.10. Studii de spectroscopie dielectrică

5.10.2. Conductivitatea electrică a membranelor uscate

Efectele reticulării membranelor de CS-TS cu diferiți agenți sunt prezentate în *Tabelul 5.4*, unde valorile conductivității protonice sunt extrase din spectrele $\sigma(f)$ ale membranelor preparate, alegând frecvența de 1 Hz. Astfel, se poate observa faptul că la o temperatură de 25 °C, valorile σ ale tuturor membranelor uscate sunt de ordinul 10^{-12} S/cm și cresc până la 10^{-11} S/cm la 60 °C, în timp ce Nafionul are o valoare a conductivității de ordinul 10^{-9} (la 60 °C). Valorile conductivității la 100 °C pentru membranele uscate de CS-TS-TPP și CS-TS-PDMS sunt surprinzător de similare, dezvăluind faptul că agenții de reticulare TPP și PDMS au efecte comparabile asupra transportului de protoni prin membrana chitosanului. Această constatare este oarecum surprinzătoare, deoarece se presupunea că situsurile acide ale tripolifosfatului de sodiu sporesc conductivitatea protonică a membranei. În schimb, conductivitatea CS-TS-HS este de cel puțin un ordin de mărime mai mare decât cea a CS-TS-TPP și CS-TS-PDMS, indicând faptul că

protonarea grupărilor aminice ale chitosanului de către acidul sulfuric promovează conductivitatea protonică. Astfel, dintre diferitele tipuri de agenți de reticulare, acidul sulfuric conduce la o conductivitate protonică superioară, în condiții de umiditate scăzută și temperaturi ridicate.

Tabel 5.4. Valorile conductivității la diferite frecvențe pentru membranele compozite uscate

Membrane	Conductivitatea, σ (S/cm) la o frecvență de 1 Hz pentru membranele uscate		
	25°C	60°C	100°C
CS-TS	$6,6 \times 10^{-12}$	$5,2 \times 10^{-11}$	$3,3 \times 10^{-9}$
CS-TS-HS	$2,2 \times 10^{-12}$	$1,7 \times 10^{-11}$	$3,9 \times 10^{-10}$
CS-TS-TPP	$1,8 \times 10^{-12}$	$1,2 \times 10^{-11}$	$7,8 \times 10^{-11}$
CS-TS-PDMS	$2,6 \times 10^{-12}$	$1,1 \times 10^{-11}$	$7,4 \times 10^{-11}$
Nafion	-	8×10^{-9}	-

5.10.3. Influența absorbției de apă asupra conductivității protonice a membranelor

Membranele hidratate au fost obținute prin imersarea probelor în apă distilată timp de o oră, la temperatura camerei, înainte de realizarea măsurătorilor de spectroscopie dielectrică. Spectrele dielectrice ale membranelor au fost colectate la diferite temperaturi de la 0 la 60 °C, în trepte de 5 °C. Din cauza evaporării rapide a apei, nu s-au obținut spectre fiabile la temperaturi mai mari de 60 °C. Conductivitatea membranei hidratate CS-TS-HS este cu două ordine de mărime mai mare decât cele ale CS-TS-TPP și CS-TS-PDMS, datorită conținutului crescut de acid sulfuric și a capacității de absorbție a apei, fiind cea mai apropiată de conductivitatea standardului Nafion. Mai mult decât atât, conductivitățile membranelor CS-TS-TPP și CS-TS-PDMS sunt aproape similare, lipsind orice influență particulară a agentului de reticulare.

Tabel 5.5. Valorile conductivității la diferite frecvențe pentru membranele compozite hidratate

Membrane	Conductivitatea, σ (S/cm) la o frecvență de 1 Hz pentru membranele hidratate			
	$f = 1$ Hz		$f = 10^6$ Hz	
	25°C	60°C	25°C	60°C
CS-TS	-	-	-	-
CS-TS-HS	$2,5 \times 10^{-6}$	$8,1 \times 10^{-6}$	$2,1 \times 10^{-3}$	$1,1 \times 10^{-3}$
CS-TS-TPP	$5,7 \times 10^{-8}$	$5,7 \times 10^{-8}$	$5,7 \times 10^{-5}$	$4,5 \times 10^{-5}$
CS-TS-PDMS	$7,0 \times 10^{-8}$	$1,9 \times 10^{-7}$	$1,4 \times 10^{-5}$	$3,1 \times 10^{-5}$
Nafion	-	2×10^{-5}	-	7×10^{-3}

Energia de activare a membranelor hidratate a fost determinată și este mult mai mică decât cea a membranelor uscate (variind între 23 și 31 kJ/mol), indicând faptul că transportul protonilor are loc în principal prin intermediul mecanismului Grothuss, adică migrarea protonilor prin sărituri prin intermediul legăturilor de hidrogen ale moleculelor de apă [238] [246] [250].

5.10.4. Măsurători ale conductivității protonilor (PC)

Măsurarea conductivității protonice prin metoda cu patru sonde [251] [252], a fost efectuată numai pentru membrana cea mai promițătoare (CS-TS-HS), care a furnizat cea mai mare valoare a conductivității de protoni prin spectroscopie dielectrică. O astfel de măsurare a fost repetată de două ori pentru fiecare temperatură pentru a avea o valoare valabilă statistic, iar rezultatul furnizat corespunde mediei dintre ele. Astfel, testul prin metoda cu patru sonde (în plan) a fost realizat la temperaturi de 30 °C și 60 °C și a indicat valori ale conductivității protonice de $3,0 \times 10^{-3}$ S/cm, respectiv, $6,2 \times 10^{-3}$ S/cm.

5.11. Concluzii

Au fost preparate trei membrane compozite de chitosan cu dioxid de titan sulfat ce manifestă proprietăți adecvate pentru aplicații ca membrane polielectrolitice în celule de combustie. S-a studiat influența a trei reticulanti diferiți (acid sulfuric, tripolifosfat de sodiu și polidimetilsiloxan cu grupări epoxidice terminale) asupra proprietăților lor. De asemenea, în scop comparativ a fost preparată și o membrană nereticulată de chitosan și dioxid de titan și s-a evaluat conductivitatea unei membrane Nafion.

Analiza morfologică (SEM) a indicat formarea de membrane dense cu grosimi cuprinse între 31 și 130 μm și o dispersie uniformă a materialului anorganic în matricea polimerică. Membranele obținute au dovedit o stabilitate termică mai mare de 200 °C, deformații la rupere cuprinse între 11 și 40%, capacități de absorbție a apei și stabilitate chimică, proprietăți adecvate utilizării ca membrane schimbătoare de protoni în pile de combustie.

Proprietățile membranelor sunt influențate de natura agentului de reticulare. Cele mai bune performanțe au fost obținute pentru membrana reticulată cu acid sulfuric, care atât în testele indirecte de determinare a conductivității protonice prin spectroscopie dielectrică, cât și în testarea directă în celulă de conductivitate protonică, a prezentat caracteristici apropiate de cele ale standardului Nafion.

CAPITOLUL 6. COMPOZITE PE BAZĂ DE CHITOSAN ȘI FERITĂ DE COBALT DOPATĂ CU SAMARIU PENTRU ADSORBȚIA DE COLORANȚI ANIONICI DIN SOLUȚII APOASE

6.1. Introducere

Acest studiu a urmărit obținerea unui material adsorbant nou, competitiv, pe bază de nanoparticule magnetice (ferită spinel), aducând o notă de originalitate prin utilizarea acidului maleic drept combustibil pentru a sintetiza ferita de cobalt dopată cu samariu ($\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4$). Doparea feritelor spinel cu ioni de samariu are ca scop modificarea proprietăților structurale, dimensionale și magnetice ale acestui tip de oxizi. În acest sens, doparea cu ioni de samariu urmărește reducerea în dimensiune a nanoparticulelor de ferita spinel. Pentru îmbunătățirea capacității de adsorbție și a stabilității chimice s-a propus acoperirea feritei spinel cu chitosan, pentru a furniza grupări funcționale pe suprafața de adsorbție și reticularea polizaharidei cu epiclorigidrină, implicând exclusiv reacția grupărilor hidroxilice, din moment ce grupările aminice sunt necesare în procesul de adsorbție a compușilor anionici. Materialul obținut a fost testat ca sorbent pentru îndepărtarea colorantului anionic Portocaliu Acid 7.

6.2. Prepararea și caracterizarea feritei de cobalt dopată cu samariu ($\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4$)

Sinteza nanoparticulelor de ferită de cobalt dopate cu cationi de samariu, corespunzătoare formulei chimice $\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4$ s-a realizat prin metoda autocombustiei sol-gel. Proprietățile fizico-chimice au fost determinate prin variate tehnici de caracterizare.

6.2.4. Microscopie electronică prin Transmisie (TEM)

Caracterizarea morfologică și dimensională a feritelor de cobalt dopate cu samariu a fost realizată prin analiza TEM. Conform imaginii microscopice din **Figura 6.4** dimensiunile nanoparticulelor de ferită variază de la 70 până la 150 nm. Totodată se poate observa formarea nanostructurilor omogene cu forme neregulate și tendința nanoparticulelor de a forma agregate.

6.2.5. Analiza proprietăților magnetice

Nanoparticulele de $\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4$ au tendința de a forma agregate datorită proprietăților lor magnetice, așa cum se observă din bucla de histerezis prezentată în **Figura 6.5**. Valoarea specifică de magnetizare a $\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4$ a fost de 55 emu/g, în timp ce literatura de specialitate raportează valori de magnetizare apropiate de 85 emu/g pentru feritele de cobalt nedopate obținute prin proceduri de chimie umedă [256] [261].

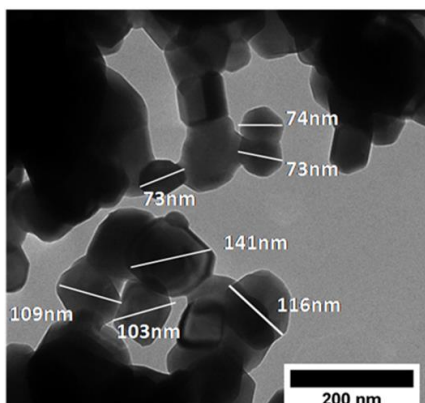


Figura 6.4. Imagine TEM a nanoparticulelor $\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4$

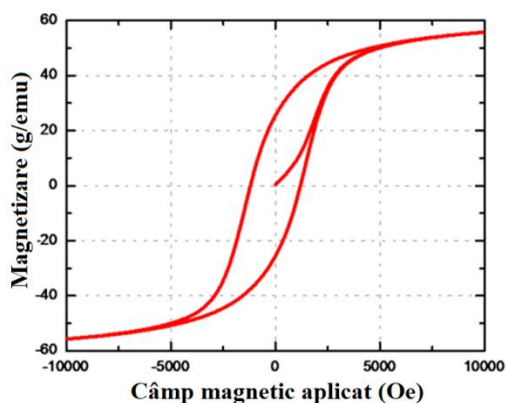


Figura 6.5. Proprietățile magnetice ale nanoparticulelor de $\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4$ (Bucla de histerezis la temperatura camerei)

6.3. Prepararea și caracterizarea particulelor compozite de chitosan cu $\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4$

Epiclorhidrina (ECH) a fost selectată ca agent de reticulare pentru a crește stabilitatea chimică a polizaharidei și pentru a reacționa doar grupările hidroxilice, întrucât grupările aminice de la suprafața particulelor au rol principal în adsorbția coloranților anionici. Reacția de reticulare a chitosanului cu ECH, precum și particulele compozite obținute sunt reprezentate schematic în **Figura 6.6**.

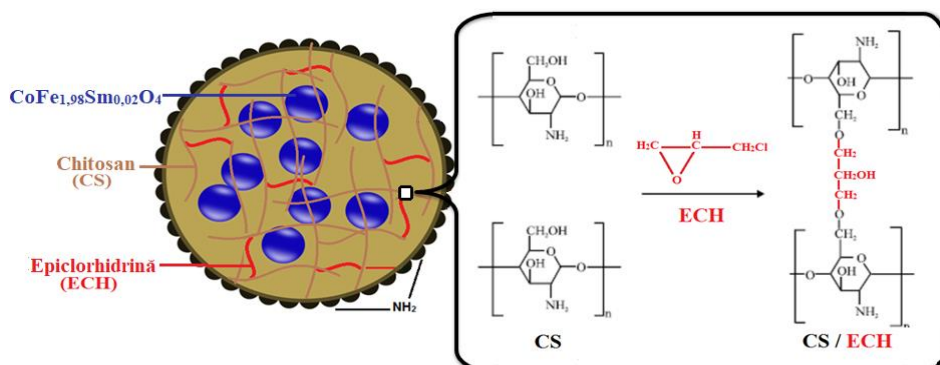


Figura 6.6. Reprezentarea schematică a particulelor de compozit $\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4\text{-CS-ECH}$ și a reacției de reticulare a chitosanului cu epiclorhidrină

6.3.3. Analiza proprietăților magnetice

. În **Figura 6.10.a** poate fi observată bucla de histerezis magnetic obținută pentru materialul testat, realizată în condiții de temperatură ambiantă. Magnetizarea specifică a materialului compozit $\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4\text{-CS-ECH}$ este de numai 7 emu/g, mult mai redusă comparativ cu valoarea de 55 emu/g înregistrată pentru nanoparticulele de ferită de cobalt dopată cu samariu. Scăderea puternică a valorii de magnetizare este anticipabilă, dat fiind faptul că proba $\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4\text{-CS-ECH}$ conține doar 15% w/w oxid magnetic. Cu toate acestea, materialul compozit obținut manifestă proprietăți magnetice adecvate pentru recuperarea sa cu

ușurință din soluții apoase, în urma testelor de adsorbție, cu ajutorul unui magnet extern (magnet de tip neodim), așa cum este evidențiat în **Figura 6.10.b**.

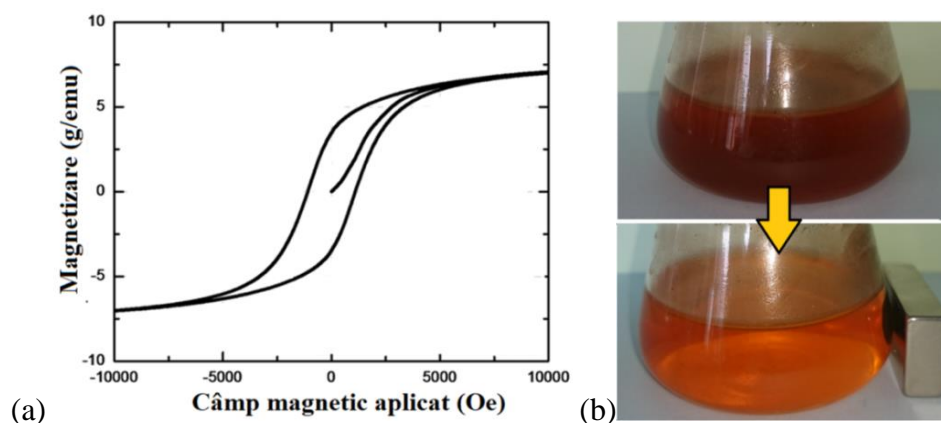


Figura 6.10. Proprietățile magnetice ale materialului compozit $\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4/\text{CS-ECH}$: Bucla de histerezis la temperatura camerei (a) și reprezentarea procesului de separare magnetică după testul de adsorbție (b).

6.4. Proprietățile de adsorbție ale particulelor compozite $\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4\text{-CS-ECH}$

6.4.1. Cinetica de adsorbție a colorantului Portocaliu Acid 7

Studiile cinetice ale procesului de adsorbție a colorantului anionic Portocaliu Acid 7 (PA7) pe suprafața materialului compozit $\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4\text{-CS-ECH}$ au fost efectuate cu scopul de a determina timpul necesar pentru atingerea echilibrului de adsorbție. Datele experimentale au fost prelucrate pe baza a patru ecuații neliniare de interpolare, precum modelul Lagergren (model cinetic de pseudo-ordin unu - PFO), modelul Ho (model cinetic de pseudo-ordin doi – PSO), modelul cinetic de pseudo-ordin n (PnO), modelul cinetic de ordin mixt (MOE) și modelul Webber-Morris (ID-model cinetic de difuzie în interiorul particulei). În **Figura 6.12** a fost redată grafic evoluția capacității de adsorbție - $q(\text{mg/g})$ în raport cu timpul de contact - $t(\text{min})$. Cea mai bună interpolarea a datelor experimentale a fost estimată de modelul cinetic de pseudo-ordin n (PnO), iar capacitatea de adsorbție la echilibru a fost egală cu 24 mg/g.

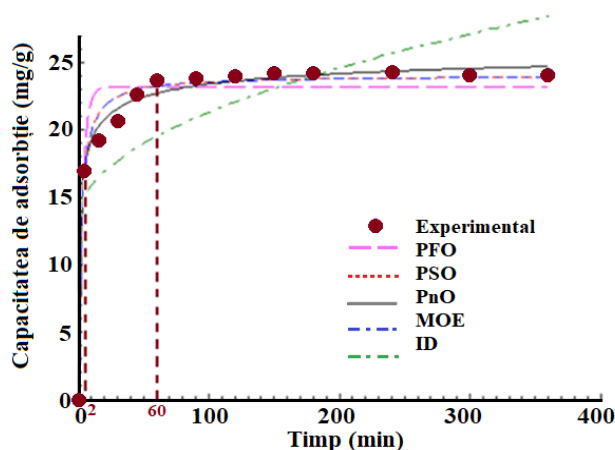


Figura 6.12. Variația capacității de adsorbție ce exprimă retenția colorantului Portocaliu Acid 7 pe suprafața materialului compozit $\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4\text{-CS-ECH}$ în funcție de timpul de contact

6.4.2. Izotermele de adsorbție

Pentru a stabili mecanismul și capacitatea maximă de adsorbție a colorantului PA7 pe suprafața particulelor compozite, au fost evaluate izotermele de adsorbție. Astfel, s-a urmărit echilibrul stabilit între adsorbatul reținut pe materialul solid și adsorbatul rămas în soluție la echilibru [269]. În urma studiului cinetic realizat anterior, timpul de contact de 180 min a fost considerat optim pentru atingerea echilibrului de adsorbție. În **Figura 6.13** este reprezentată grafic cantitatea de colorant anionic adsorbit la echilibrul q_e (mg/g) față de concentrația de echilibru C_e (mg/L), prin raportare la trei temperaturi diferite (25°C, 45°C și 65°C). Rezultatele echilibrului de adsorbție (izotermele) redată grafic prezintă atât datele experimentale cât și predicțiile oferite de modelele de izotermă Langmuir, Freundlich, Sips și Redlich-Peterson.

Potrivit rezultatelor, s-a observat că o dată cu creșterea temperaturii este diminuată capacitatea de adsorbție la echilibru, afinitatea colorantului față de suprafața solidă a sorbentului fiind mai pronunțată la temperaturi mai joase (25 °C). O astfel de tendință referitoare la adsorbția unui colorant anionic pe feritele spinel nefuncționalizate a fost observată și în literatură [253]. Prin urmare, performanța de adsorbție a materialului produs este crescută la temperaturi apropiate de cele ale apelor mediului înconjurător.

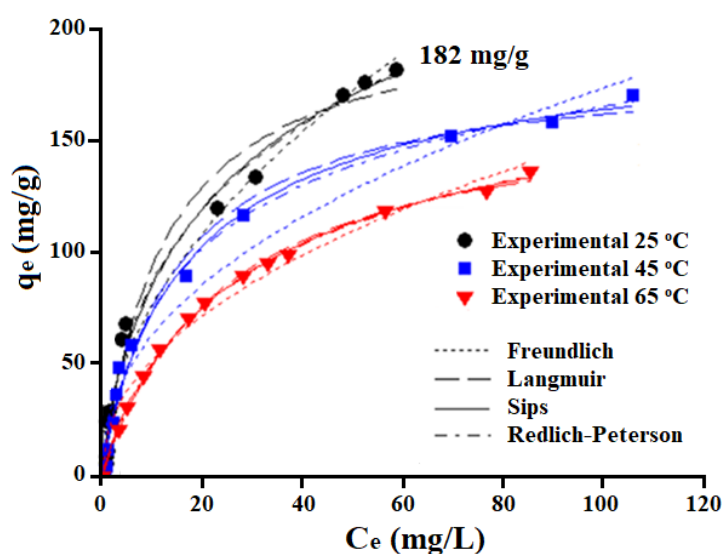


Figura 6.13.
Izotermele de adsorbție
corespunzătoare retenției
de Portocaliu Acid 7 pe
 $CoFe_{1.98}Sm_{0.02}O_4$ -CS-ECH
în funcție de temperatură
(25°C, 45°C și 65°C)

Capacitatea maximă de adsorbție atinsă la echilibru a fost observată ca fiind $q_e = 181,5$ mg/g pentru valoarea temperaturii fixată la 25 °C. Analiza datelor au indicat o diminuare a calității modelelor de izoterme în ordinea: R-P > Sips > Langmuir > Freundlich. Astfel, modelul R-P a prezentat cele mai bune predicții ale capacității de adsorbție la echilibru, întrucât au fost atinse valori minime ale funcțiilor de eroare, \mathcal{E}_a , pentru toate cele trei temperaturi.

6.4.4. Influența pH-ului și a dozei de sorbent: modelare și optimizare

Diagrama tridimensională a suprafeței de răspuns (**Figura 6.15.a**) și curbele de contur (**Figura 6.15.b**) au fost investigate pentru a observa influența pH-ului și a dozei de sorbent asupra performanței procesului de adsorbție (Y , %). Potrivit rezultatelor obținute, au fost găsite condițiile optime de realizare a procesului de adsorbție ce implică următoarele valori ale factorilor: $pH = 5,2$ și $SD = 1,60$ g/L. Potrivit acestor condiții (optime) au fost determinate valorile maxime pentru eficiența de adsorbție, și anume: $Y_{calc} = 96,324\%$ (valoarea calculată conform modelului) și $Y_{exper} = 96,31\%$ (valoarea observată experimental).

Astfel, s-a constatat faptul că factorul care influențează cel mai mult eficiența de eliminare a colorantului este doza de sorbent (DS). S-a observat totuși că o dată cu creșterea acestui factor, răspunsul este diminuat. Utilizarea unor cantități mici de sorbent conduce la o eficiență crescută de îndepărtare a colorantului, comportament ce poate fi explicat prin echilibrul dintre adsorbție/desorbție de colorant pe/de pe suprafața solidă. În plus, eficiența bună a sorbentului utilizat, chiar și într-o cantitate mică, se datorează numărului crescut de grupări aminice funcționale distribuite pe suprafața materialului compozit, oferite de matricea polizaharidică.

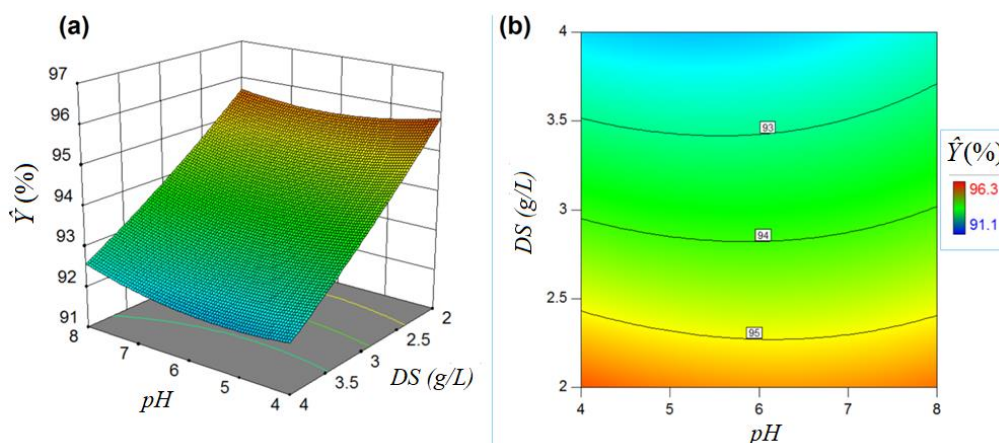


Figura 6.15. Influența pH-ului și a dozei de sorbent (DS) asupra eficienței de îndepărtare a colorantului, Y (%): (a) graficul tridimensional al suprafeței de răspuns; (b) diagrama liniilor de contur a suprafeței de răspuns

6.4.5. Reutilizarea și recuperarea sorbentului

Sorbentul recuperat a fost testat în vederea reutilizării acestuia și a recuperării componentei anorganice. Performanțele de adsorbție în cele trei cicluri consecutive de utilizare/reutilizare sunt prezentate în **Figura 6.16**. S-a observat faptul că materialul testat a avut o capacitate de adsorbție practic neschimbată în timpul ciclurilor de adsorbție, indicând funcționalizarea chimică favorabilă a feritei de cobalt dopate cu samariu. Nanoparticulele

$\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4$ recuperate pot fi supuse unor noi procedee de acoperire cu material polimeric și pot fi reutilizate pentru alte experimente de adsorbție, fără a suferi modificări.

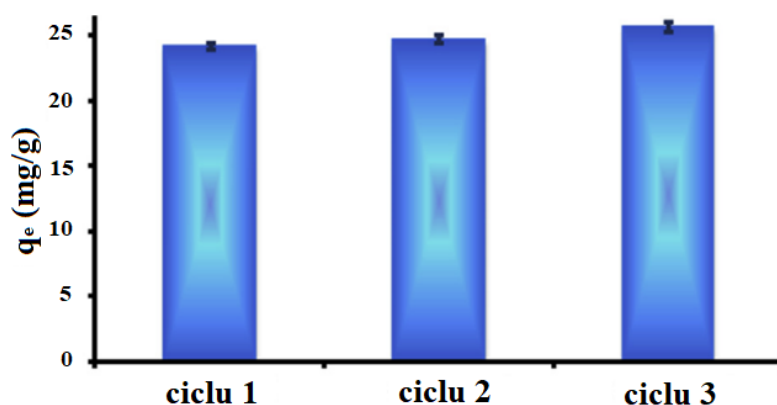


Figura 6.16. Capacitatea de adsorbție a $\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4$ -CS-ECH pentru trei cicluri consecutive de utilizare / reutilizare.

6.5. Concluzii

Nanoparticulele de ferită de cobalt dopate cu samariu au fost obținute cu succes prin metoda sol-gel autocombustie, folosind acidul maleic ca agent de aprindere. Pentru a furniza grupări funcționale la suprafața acestora, ferita de cobalt dopată cu samariu a fost acoperită cu material polimeric (chitosan), reticulat ulterior cu epiclорhidrină pentru a nu afecta grupările aminice funcționale. Prin urmare, a fost obținut un material magnetic nou, $\text{CoFe}_{1.98}\text{Sm}_{0.02}\text{O}_4$ -CS-ECH, stabil în medii apoase și cu proprietăți magnetice adecvate, pentru o separare simplă din mediul apos în urma aplicării unui câmp magnetic extern.

Materialul compozit chitosan/ferită a demonstrat performanțe notabile în ceea ce privește eliminarea colorantului anionic PA7 din soluții apoase prin mecanism de adsorbție. Datele cinetice de adsorbție au fost cel mai bine interpolate cu ajutorul modelelor PnO, obținând o capacitate de adsorbție la echilibru egală cu 24 mg/g. În ceea ce privește izotermele de adsorbție, modelul R-P a relevat cea mai bună predicție a datelor observate. Capacitatea maximă de adsorbție la echilibru observată pentru sorbentul studiat a fost de 182 mg/g. Prin aplicarea metodologiilor de programare activă a experimentelor (DoE) și de analiză a suprafeței de răspuns (RSM) a fost modelat procesul de adsorbție în vederea predicției eficienței de adsorbție a colorantului PA7 pe suprafața sorbentului. În baza modelului elaborat a fost optimizat procesul de adsorbție, evidențiindu-se o influență crescută a cantității de sorbent asupra eficienței de îndepărtare a culorii, în comparație cu factorul pH. În condițiile optime stabilite s-a atins o eficiență maximă de 96,3%.

În plus, unul din aspectele cele mai importante îl constituie recuperarea componentei anorganice (cea mai costisitoare) în urma experimentelor de adsorbție, fără a suferi modificări structurale și dimensionale. De asemenea, ferita de cobalt dopată cu samariu a fost recuperată și reutilizată cu succes în trei cicluri de sinteză sorbent-test de adsorbție.

CAPITOLUL 7. CONCLUZII GENERALE

Chitosanul a fost modificat chimic și/sau fizic pentru a obține materiale sub diferite forme cu utilizări multiple: matrice poroase și filme pentru sisteme de eliberare de medicament, membrane compozite pentru utilizarea în sisteme de producere a energiei ca membrană schimbătoare de protoni și particule magnetice pentru sisteme de adsorbție a coloranților anionici din apele poluate.

Pentru a asigura creșterea solubilității chitosanului, acesta a fost reacționat cu anhidridă succinică, iar stabilitatea hidrodinamică și mecanică a materialelor obținute a fost realizată prin utilizarea unor agenți de reticulare diferiți, în funcție de cerințele impuse de aplicațiile specifice. Aditivarea materialelor preparate s-a realizat cu medicamente, dioxid de titan sulfat sau ferite spinelice, pentru a le conferi proprietăți reclamate de aplicațiile vizate.

Pentru a reduce durerea cauzată de leziuni cutanate, cum ar fi leziuni traumatiche, arsuri, răni postoperatorii printr-o procedură minim invazivă, un nou tip de material amfifilic pe bază de CS modificat a fost preparat prin reticularea N-succinil chitosanului cu 1,3-bis(glicidoxipropil)tetrametildisiloxan. Lidocaina a fost introdusă cu succes *in situ* ulterior procesului de reticulare. Membranele poroase obținute prin liofilizare au prezentat o structură poroasă și proprietăți de umflare în mediu cu pH simulat, în funcție de compoziția lor. În urma testării *in vitro*, s-a remarcat o eliberare a lidocainei în două etape: o primă etapă rapidă, favorabilă instaurării efectului analgezic, urmată de o a doua etapă, de eliberare susținută timp de câteva ore. Testele *in vivo* realizate prin metoda „plăcii încălze” au demonstrat efectul analgezic transdermal al membranei CS-AS/DS-5-LID pe toată durata experimentului, cu o hiperanalgezie în primele 45 de minute, efect similar cu al unui produs comercial (EMLA). În plus, membranele poroase au prezentat un efect inhibitor semnificativ pentru tulpinile *Stafilococ (S.aureus și MRSA)*.

Proprietățile induse chitosanului prin succinilarea grupărilor aminice și reticularea cu DS au fost evaluate și în cazul unor sisteme terapeutice sub formă de filme încărcate cu nistatină, pentru tratamentul infecțiilor fungice cauzate de speciile din genul *Candida*. Filmele au dovedit proprietăți mecanice potrivite pentru utilizare ca sisteme de eliberare a nistatinei pentru tratarea candidozelor mucocutanate, capacități de eliberare a medicamentului și activitate antifungică împotriva a trei tipuri de *Candida*. Aceste proprietăți sunt dependente de zona de acțiune (pH acid – mucoasa vaginală sau pH bazic – mucoasa bucală), de compoziția chimică a matricei polimere și de dimensiunea particulelor nistatinei utilizate.

Membranele compozite de chitosan aditivate cu dioxid de titan sulfat au demonstrat proprietăți adecvate pentru utilizarea ca membrane polielectrolitice în pile de combustie. Membranele au fost reticulate cu acid sulfuric, tripolifosfat de sodiu și polidimetilsiloxan cu

grupări epoxidice terminale și a fi evaluată influența lor asupra structurii, morfologiei, proprietăților mecanice, termice și de conductivitate protonică. Testele tipice aplicate de obicei pentru evaluarea membranelor conductoare de protoni, cum ar fi absorbția de apă și stabilitatea chimică, au indicat că membranele reticulate dezvoltate în prezentul studiu pot fi recomandate pentru aplicarea pilelor de combustie. Performanțele de conductivitate a protonilor evaluate prin spectroscopie dielectrică s-au dovedit a depinde puternic de natura reticulantului și de starea de hidratare a membranelor. Cea mai promițătoare membrană a fost obținută folosind acidul sulfuric ca reticulant. În plus, în funcție de valorile calculate ale energiei de activare, transportul de protoni poate avea loc în principal prin intermediul mecanismului Grothuss.

Adsorbanți magnetici pentru coloranții anionici din soluții apoase au fost obținuți sub formă de particule compozite chitosan/ferită spinel. Nanoparticulele de ferită de cobalt dopate cu samariu au fost sintetizate cu succes prin tehnica de autocombustie sol-gel folosind pentru prima dată acidul maleic ca agent de combustie. Ferita a fost acoperită cu chitosan reticulat cu epiclorigidrină pentru a nu afecta grupările aminice funcționale ale chitosanului, esențiale în procesul de adsorbție. Capacitatea maximă de adsorbție observată a fost de 182 mg/g la 25 °C, superioară datelor raportate anterior în literatură. Feritele de cobalt dopate cu samariu pot fi recuperate după experimentele de adsorbție, fără a suferi modificări structurale și dimensionale și pot fi reutilizate pentru aplicații de adsorbție ulterioare.

Rezultatele obținute pe parcursul elaborării tezei de doctorat s-au concretizat în două lucrări publicare în reviste cotate ISI și două capitole de carte publicate în cadrul editurii Wiley.

PERSPECTIVE

Experiența acumulată pe parcursul elaborării tezei de doctorat și în cadrul lucrărilor realizate în implementarea proiectelor „*Polymer-based materials as sorbents for the enhanced removal of oil spills and dyes from the contaminated waters (POLYSORB)*” și „*Motorul revoluției energetice bazate pe hidrogen – Pilele de combustibil, pe drumul de la cercetare la producție prin minimizarea barierelor tehnologice (ROFCC)*” reprezintă un început de drum și nu un capăt de linie.

Materialele pe bază de chitosan investigate au demonstrat proprietăți multifuncționale care prezintă interes și necesită studii aprofundate pentru translarea lor de la faza de concept și metodologie de laborator la tehnologii și aplicații la scară largă.

BIBLIOGRAFIE

- [167] Torp, K.D., Metheny, E., Simon L.V. (2020). Lidocaine Toxicity. StatPearls Publishing LLC, Treasure Island, FL 2019.
- [185] Rutnakornpituk, M., Ngamdee, P., & Phinyocheep, P. (2006). Preparation and properties of polydimethylsiloxane-modified chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 63(2), 229–237. doi:10.1016/j.carbpol.2005.08.063
- [189] Wang, D., Liu, W., Feng, Q., Dong, C., Liu, Q., Duan, L., Huang, J., Zhu, W., Li, Z., Xiong, J., Liang, Y., Chen, J., Sun, R., Bian, L., Wang, D. (2017). Effect of inorganic/organic ratio and chemical coupling on the performance of porous silica/chitosan hybrid scaffolds. *Materials Science and Engineering: C*, 70, 969–975. doi:10.1016/j.msec.2016.04.010
- [192] Day, R. M. (2011). Functional requirements of wound repair biomaterials. *Advanced Wound Repair Therapies*, 155–173. doi:10.1533/9780857093301.2.155
- [193] Raafat, D., & Sahl, H.-G. (2009). Chitosan and its antimicrobial potential - a critical literature survey. *Microbial Biotechnology*, 2(2), 186–201. doi:10.1111/j.1751-7915.2008.00080.x
- [194] Wimberley, N., Willey, S., Sullivan, N., & Bartlett, J. G. (1979). Antibacterial Properties of Lidocaine. *Chest*, 76(1), 37–40. doi:10.1378/chest.76.1.37
- [195] Luca A., Mihai C.T., Stanciu G.D., Bild V., Cojocaru E., Ancuceanu R., Harabagiu V., Peptu C., Peptu C.A., Leon-Constantin M.M., Alexa-Stratulat T., In-vivo safety and efficacy evaluation of a novel polymeric based lidocaine formulation for topical analgesia. *Farmacia*, 2019, 67 (1), pp. 117-125, doi: 10.31925/farmacia.2019.1.16
- [204] Peh, K., Khan, T., Ch'ng H. (1999). Mechanical, bioadhesive strength and biological evaluations of chitosan films for wound dressing. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(3), 303-11.
- [215] Llanos, J. H. R.; de Oliveira Vercik, L. C.; Vercik, A. Physical Properties of Chitosan Films Obtained after Neutralization of Polycation by Slow Drip Method. *JBNB*. 2015, 06, 276–291. doi:10.4236/jbnb.2015.64026.
- [216] Enescu, D. (2009). Polydimethylsiloxane Modified Chitosan IV. Preparation and Characterization of Porous Hybrid Membranes. *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 46(4), 438–446. doi:10.1080/10601320902732498
- [219] Dallan, P. R. M., da Luz Moreira, P., Petinari, L., Malmonge, S. M., Beppu, M. M., Genari, S. C., & Moraes, A. M. (2007). Effects of chitosan solution concentration and incorporation of chitin and glycerol on dense chitosan membrane properties. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 80B(2), 394–405. doi:10.1002/jbm.b.30610
- [220] Marques, M.R., Loebenberg, R., Almukainzi, M. (2011). Simulated biological fluids with possible application in dissolution testing. *Dissolution Technologies*, 18(3), 15–28. doi: 10.14227/DT180311P15

- [221] Bashir, S., Teo, Y. Y., Ramesh, S., Ramesh, K., & Khan, A. A. (2015). N-succinyl chitosan preparation, characterization, properties and biomedical applications: a state of the art review. *Reviews in Chemical Engineering*, 31(6). doi:10.1515/revce-2015-0016
- [222] Mello, K. G. P. C. de, Bernusso, L. de C., Pitombo, R. N. de M., & Polakiewicz, B. (2006). Synthesis and physicochemical characterization of chemically modified chitosan by succinic anhydride. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49(4), 665–668. doi:10.1590/s1516-89132006000500017
- [223] El-Batal, A. I., Nada, H. G., El-Behery, R. R., Gobara, M., & El-Sayyad, G. S. (2020). Nystatin-mediated bismuth oxide nano-drug synthesis using gamma rays for increasing the antimicrobial and antibiofilm activities against some pathogenic bacteria and *Candida* species. *RSC Advances*, 10(16), 9274–9289. doi:10.1039/c9ra10765g
- [225] Ayyaru, S., & Dharmalingam, S. (2013). Improved performance of microbial fuel cells using sulfonated polyether ether ketone (SPEEK) TiO₂-SO₃H nanocomposite membrane. *RSC Advances*, 3(47), 25243. doi:10.1039/c3ra44212h
- [226] Li, C. C., Zheng, Y. P., & Wang, T. H. (2012). Sulfated mesoporous Au/TiO₂ spheres as a highly active and stable solid acid catalyst. *Journal of Materials Chemistry*, 22(26), 13216–13222. doi: 10.1039/c2jm16921e
- [235] Ziegler-Borowska, M., Chełminiak, D., & Kaczmarek, H. (2014). Thermal stability of magnetic nanoparticles coated by blends of modified chitosan and poly(quaternary ammonium) salt. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 119(1), 499–506. doi:10.1007/s10973-014-4122-7
- [237] Kandlikar, S. G., Garofalo, M. L., & Lu, Z. (2011). Water Management in A PEMFC: Water Transport Mechanism and Material Degradation in Gas Diffusion Layers. *Fuel Cells*, 11(6), 814–823. doi:10.1002/fuce.201000172
- [238] Aguirre-Loredo, R. Y., Rodriguez-Hernandez, A. I., & Velazquez, G. (2016). Modelling the effect of temperature on the water sorption isotherms of chitosan films. *Food Science and Technology*, 37(1), 112–118. doi:10.1590/1678-457x.09416
- [239] Escorihuela, J., García-Bernabé, A., Montero, Á., Sahuquillo, Ó., Giménez, E., & Compañ, V. (2019). Ionic Liquid Composite Polybenzimidazol Membranes for High Temperature PEMFC Applications. *Polymers*, 11(4), 732. doi:10.3390/polym11040732
- [246] Wang, J., Bai, H., Zhang, H., Zhao, L., Chen, H., & Li, Y. (2015). Anhydrous proton exchange membrane of sulfonated poly(ether ether ketone) enabled by polydopamine-modified silica nanoparticles. *Electrochimica Acta*, 152, 443–455. doi:10.1016/j.electacta.2014.11.165
- [250] Fischer, S. A., Dunlap, B. I., & Gunlycke, D. (2017). Proton transport through hydrated chitosan-based polymer membranes under electric fields. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 55(14), 1103–1109. doi:10.1002/polb.24361
- [251] Saccà, A., Carbone, A., Pedicini, R., Portale, G., D'Ilario, L., Longo, A., Martorana, A., Passalacqua, E. (2006). Structural and electrochemical investigation on re-cast Nafion membranes for polymer electrolyte fuel cells (PEFCs) application. *Journal of Membrane Science*, 278(1-2), 105–113. doi:10.1016/j.memsci.2005.10.047

- [252] Saccà, A., Gatto, I., Carbone, A., Pedicini, R., Maisano, S., Stassi, A., & Passalacqua, E. (2019). Influence of doping level in Yttria-Stabilised-Zirconia (YSZ) based-fillers as degradation inhibitors for proton exchange membranes fuel cells (PEMFCs) in drastic conditions. *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(59), 31445-31457, doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.10.026
- [253] Samoila, P., Cojocaru, C., Cretescu, I., Stan, C. D., Nica, V., Sacarescu, L., & Harabagiu, V. (2015). Nanosized Spinel Ferrites Synthesized by Sol-Gel Autocombustion for Optimized Removal of Azo Dye from Aqueous Solution. *Journal of Nanomaterials*, 2015, 1–13. doi:10.1155/2015/713802
- [256] Zhao, X., Yang, P., Lai, X., Lin, H., & Li, J. (2014). The effects of the solvent ratio on the electron transport for non-sintering flexible TiO₂ photoanodes. *Electrochimica Acta*, 146, 164–170. doi:10.1016/j.electacta.2014.09.057
- [261] Chandra, G., Srivastava, R. C., Reddy, V. R., & Agrawal, H. M. (2017). Effect of sintering temperature on magnetization and Mössbauer parameters of cobalt ferrite nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 427, 225–229. doi:10.1016/j.jmmm.2016.10.082
- [269] Dulman V., Cucu-Man S.M., Mureșan R., Metode neconvenționale de sorbție a unor coloranți, Ed. Casa Editorială Demiurg, Iași, 2009, p. 69-86.

ANEXA 1: Activitatea științifică

Articole care fac subiectul tezei de doctorat (ISI):

1. **Humelnicu, A.-C.**, Cojocaru, C., Pascariu Dorneanu, P., Samoila, P., & Harabagiu, V. (2017). Novel chitosan-functionalized samarium-doped cobalt ferrite for adsorptive removal of anionic dye from aqueous solutions. *Comptes Rendus Chimie*, 20(11-12), 1026–1036. FI=1,91. doi:10.1016/j.crci.2017.10.003
2. **Humelnicu, A.-C.**, Samoila, P., Asandulesa, M., Cojocaru, C., Bele, A., Marinoiu, A. T., Saccà, A., Harabagiu, V. (2020). Chitosan-Sulfated Titania Composite Membranes with Potential Applications in Fuel Cell: Influence of Cross-Linker Nature. *Polymers*, 12(5), 1125. FI=3,61. doi:10.3390/polym12051125

Articole conexe cu subiectul tezei de doctorat (ISI):

1. Peptu, C., Rotaru, R., Ignat, L., **Humelnicu, A.-C.**, Harabagiu V., Peptu C. A., Leon M.-M., Mitu F., Cojocaru E., Boca A., Tamba, B. I. (2015). Nanotechnology approaches for pain therapy through transdermal drug delivery, *Current Pharmaceutical Design*, 21(42): 6140 – 6156. FI=3,42. doi:10.2174/1381612821666151027152752
2. Cojocaru, C., **Humelnicu, A.-C.**, Samoila, P., Pascariu, P., & Harabagiu, V. (2018). Optimized formulation of NiFe₂O₄/Ca-alginate composite as a selective and magnetic adsorbent

for cationic dyes: Experimental and modeling study, *Reactive and Functional Polymers*, 125, 57–69. FI=3,22. doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2018.02.008

Capitole in cărți

1. Peptu, C., **Humelnicu, A.-C.**, Rotaru, R., Fortuna, M. E., Patras, X., Teodorescu, M., Tamba, B. I., Harabagiu, V. (2019). Chitosan-Based Drug Delivery Systems. Chitin and Chitosan: Properties and Applications, First Edition, editată de Van den Broek, L.A.M., Boeriu, C.G., Editura *John Wiley & Sons Ltd*, 2020, 259–289. doi:10.1002/9781119450467.ch11
2. Samoila, P., **Humelnicu, A.-C.**, Ignat, M., Cojocaru, C., Harabagiu, V. (2019). Chitin and Chitosan for Water Purification. Chitin and Chitosan: Properties and Applications, First Edition, editată de Van den Broek, L.A.M., Boeriu, C.G., Editura *John Wiley & Sons Ltd*, 2020, 429–460. doi:10.1002/9781119450467.ch17

Comunicări în cadrul unor conferințe naționale și internaționale:

1. **Humelnicu, A.-C.**, Cojocaru, C., Samoila, P., Pascariu Dorneanu, P., Harabagiu, V., Alginate / spinel ferrite composite as magnetic adsorbent for environmental applications, 12th International Conference on Colloid and Surface Chemistry, 16-18 Mai 2016, Iași, România.
2. **Humelnicu, A.-C.**, Cojocaru, C., Pascariu Dorneanu, P., Samoila, P., Harabagiu, V., Removal of Anionic Dye by Novel Chitosan Functionalized Samarium Doped Cobalt Ferrite, 19th Cristofor I. Simionescu Symposium, Frontiers In Macromolecular And Supramolecular Science, 13 – 14 Iunie 2017, Iași, România.
3. **Humelnicu, A.-C.**, Rotaru, R., Peptu, C. A., Patraș' X., Harabagiu, V., Hidrogeluri pe bază de poloxamer-chitosan-disiloxan sensibile la temperatură, Al 12-lea simpozion internațional de produse cosmetice și aromatizante „Natură – Sănătate – Frumusețe”, 30 Mai– 2 Iunie 2017, Iași, România.
4. **Humelnicu, A.-C.**, Leon, M.-M., Tamba, B.I., Patraș, X., Harabagiu, V., Membrane de chitosan cu efect analgezic. Preparare și caracterizare fizico-chimică, Congresul Internațional al Universității „Apollonia” din Iași ”Pregătim viitorul promovând excelența”, Ediția a XXVIII-a, 1-4 Martie 2018, Iași, Romania.
5. **Humelnicu, A.-C.**, Cojocaru, C., Samoilă, P., Harabagiu, V. H., Transport properties of N-succinyl chitosan based membranes, A XXXV-a Conferință Națională de Chimie, 02-05 Octombrie 2018, Călimănești-Căciulata, Romania.
6. **Humelnicu, A.-C.**, Cojocaru, C., Samoilă, P., Harabagiu, V., Influence of cross-linker nature on chitosan- sulfated titania ionic conductive membranes, MacroYouth 2020, Ediția I-a, 19 Noiembrie 2020, Iași, România.

Postere prezentate în cadrul unor conferințe naționale și internaționale:

1. **Humelnicu, A.-C.**, Harabagiu, V., Chitosan-disiloxane hydrogels. Water retention and morphology, The 8th Scientific Session of Undergraduate, Master and PhD Students, Acta Chemica Iași, 30 Iunie 2017, Iași, Romania.
2. **Humelnicu, A.-C.**, Harabagiu, V., Amphiphilic chitosan membranes for pain relief: preparation, characterization and in vitro lidocaine release, Sesiunea de comunicări științifice a studenților, masteranzilor și doctoranzilor Chimia – frontieră deschisă spre cunoaștere, Ediția a IX-a, 29-30 Iunie 2018, Iași, Romania.
3. **Humelnicu, A.-C.**, Harabagiu, V., N-succinyl chitosan based membranes for local anesthetic release, 3rd Autumn School on Physics of Advanced Materials (PAMS-3), 22–28 Septembrie 2018, Heraklion, Grecia.
4. **Humelnicu, A.-C.**, Samoila, P., Cojocaru, C., Harabagiu, V., Chitosan-based ionic conductive hybrid membranes with improved mechanical and thermal properties, RICCCE 21st Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering, 4-7 Septembrie 2019, Constanța – Mamaia, România.
5. **Humelnicu, A.-C.**, Samoila, P., Cojocaru, C., Harabagiu, V., Nystatin-loaded chitosan films for candidiasis treatment, EPNOE Junior Meeting 4th edition, 3-4 Februarie 2021.

Stagii de formare profesională:

1. Participare la cursurile intensive din cadrul proiectului Erasmus +TL-IRMP 2014-1-PL01-KA203-003611 "Joint innovative training and teaching/learning program in enhancing development and transfer knowledge of application of ionizing radiation in materials processing" în două stagii: 5-19 Septembrie 2015 în Varșovia, Polonia și 27 Septembrie – 4 Octombrie 2015 în Palermo, Italia.
2. Participare la Școala de toamnă "The 3rd Autumn School on Physics of Advanced Materials" (PAMS-3), 22–28 septembrie 2018, Heraklion, Grecia.

Membru în echipe de cercetare pentru proiecte naționale:

1. *Polymer-based materials as sorbents for the enhanced removal of oil spills and dyes from the contaminated waters (POLYSORB)*, Cod proiect: PN-II-RU-TE-2014-4-1266, durata: 2015-2017.
2. *Motorul revoluției energetice bazate pe hidrogen – Pilele de combustibil, pe drumul de la cercetare la producție prin minimizarea barierelor tehnologice (ROFCC)*, Cod proiect: PN-III-P1-1.2-PCCDI-2017-0194, Contract: 25PCCDI/2018, durata: 2018-2020.