



**UNIVERSITATEA TEHNICĂ „GHEORGHE ASACHI” DIN IAȘI**  
**ȘCOALA DOCTORALĂ**  
**FACULTATEA DE INGINERIE CHIMICĂ ȘI PROTECȚIA MEDIULUI**  
**„CRISTOFOR SIMIONESCU”**



**RECUPERAREA EXTRACTIBILELOR DIN DEȘEURI DE  
BIOMASĂ ȘI CONVERSIA ACESTORA ÎN NOI BIOPRODUSE  
CU APLICAȚII ÎN SISTEME BIOLOGICE ȘI DE MEDIU**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**Conducător de doctorat:**

**Prof. univ. dr. habil. ing. IRINA VOLF**

**Doctorand:**

**Chim. ROXANA-PETRONELA DAMASCHIN**

**(căs. FRANCIUC)**

Iași, 2024

**UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE ASACHI" DIN IAȘI**  
**R E C T O R A T U L**

Către

---

---

Vă facem cunoscut că, în ziua de 28.09.2024 la ora 10 în Sala de Consiliu a Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului "Cristofor Simionescu", va avea loc susținerea publică a tezei de doctorat intitulată:

**„RECUPERAREA EXTRACTIBILELOR DIN DEȘEURI DE BIOMASĂ ȘI CONVERSIA  
ACESTORA ÎN NOI BIOPRODUSE CU APLICAȚII ÎN SISTEME BIOLOGICE ȘI DE  
MEDIU”**

elaborată de doamna **Roxana-Petronela DAMASCHIN** (căs. **FRANCIUC**) în vederea conferirii titlului științific de doctor.

Comisia de doctorat este alcătuită din:

- |   |                        |
|---|------------------------|
| 1. Prof. univ. dr. ing. <b>MĂLUȚAN Teodor</b><br>Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” din Iași                 | Președinte             |
| 2. Prof. univ. dr. habil. ing. <b>VOLF Irina</b><br>Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” din Iași              | conducător de doctorat |
| 3. Dr. habil., CS I, <b>DINU Maria Valentina</b><br>Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” din Iași    | referent oficial       |
| 4. Conf. univ. dr. <b>PATRAȘ Antoanela</b><br>Universitatea de Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași | referent oficial       |
| 5. Prof. univ. dr. ing. <b>POPA I. Valentin</b><br>Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” din Iași               | referent oficial       |

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

**RECTOR,**

Prof. univ. dr. ing. **DAN CAȘCAVAL**

**Secretar universitate,**

ing. Cristina Nagiț

## **Mulțumiri,**

*În primul rând, doresc să adresez cele mai sincere și respectabile mulțumiri doamnei prof. univ. dr. habil. ing. Irina Volf pentru sprijinul neprețuit și răbdarea cu care m-a „învelit” de-a lungul acestor ani. Datorită dedicării sale neclintite, îndrumării excepționale, calmului și feedback-ului oferit, am avut privilegiul de a naviga prin acest haos fascinant și tumultuos al cercetării, facilitând astfel atât dezvoltarea mea profesională, cât și cea personală.*

*Îmi îndrept sincerele mulțumiri și către domnul prof. univ. dr. ing. Valentin Ion Popa pentru sprijinul acordat pe tot parcursul programului de cercetare. Recomandările sale valoroase, volumul consistent de resurse bibliografice și timpul dedicat au fost fundamentale în orientarea și desfășurarea studiilor mele de cercetare.*

*De asemenea, mulțumesc comisiei de evaluare pentru timpul acordat în citirea și evaluarea lucrării mele. Observațiile și sugestiile dumneavoastră au fost extrem de valoroase și au contribuit la îmbunătățirea calității finale a tezei. Aprecierea și comentariile dumneavoastră constructive mi-au oferit perspective noi și mi-au încurajat spiritul critic.*

*Adresez deosebite mulțumiri doamnei Maria Valentina Dinu și colectivului de cercetători din cadrul Institutului de Chimie Macromoleculară „Petru Poni”, din Iași, fără de care nu aș fi reușit să ofer nuanță acestei lucrări.*

*Mulțumiri neprețuite tuturor persoanelor din cadrul didactic și auxiliar al Universității Tehnice „Gheorghe Asachi” din Iași, care mi-au oferit sprijin, sfaturi și încurajări atunci când aveam nevoie de ele.*

*Călduroase mulțumiri colegelor din cadrul colectivului (Iuliana, Oana și Cătălina) care între timp mi-au devenit prietene și care m-au susținut necondiționat pe tot parcursul acestei călătorii.*

*Din inimă, mulțumesc familiei și soțului meu pentru înțelegerea și încurajările oferite în perioadele dificile. Dragostea și sprijinul vostru nemărginit au fost forța care m-a impulsionat în toate realizările mele. Vă iubesc necondiționat!*

*În final, aș dori să-mi mulțumesc mie însămi pentru că am reușit să depășesc momentele dificile și să mă adaptez situațiilor neprevăzute, fără să pierd busola rațiunii!!!*

*Chimist Roxana-Petronela Damaschin (Căs. Franciuc)*

## CUPRINS

<b>INTRODUCERE</b>	1
<b>PRIMA PARTE: STUDIUL DE LITERATURĂ</b>	7
<b>CAPITOLUL 1. STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR PRIVIND POSIBILITĂȚILE DE SEPARARE, CARACTERIZARE ȘI FORMULARE A EXTRACTIBILELOR DIN DEȘEURI DE BIOMASĂ</b>	8
1.1. Clasificarea extractibilelor din deșeuri de biomasă forestieră	8
1.2. Clasificarea generală a compușilor polifenolici din biomasă	9
1.3. Tehnici de separare a extractibilelor din biomasă. Extracția asistată de ultrasunete	14
1.4. Proprietățile biologice ale extractibilelor din deșeuri de biomasă	21
1.5. Potențarea proprietăților biologice ale extractibilelor. Posibilități de formulare ale extractibilelor din biomasă sub formă de biocompuși	24
1.5.1. Incluziunea compușilor polifenolici din deșeuri de biomasă în geluri polimerice	27
1.5.2. Capacitatea de complexare a compușilor polifenolici	31
1.5.3. Sinteza nanoparticulelor pe bază de extracte din deșeuri de biomasă	35
1.6. Potențiale aplicații de mediu ale compușilor sintetizați pe bază de extractibile din deșeuri de biomasă	41
<b>PARTEA A DOUA: CONTRIBUȚII PROPRII</b>	43
<b>CAPITOLUL 2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE</b>	44
2.1. Materiale utilizate în cercetare	45
2.2. Metode experimentale utilizate în cercetare	45
2.2.1. Prelucrarea materialului vegetal pentru experimente	45
2.2.2. Caracterizarea fizico-chimică a cojii de molid ( <i>Picea abies</i> )	46
2.2.3. Extracția compușilor polifenolici asistată de ultrasunete (UAE)	48
2.2.4. Adaptarea și aplicarea metodei de extracție asistată de ultrasunete pentru separarea compușilor polifenolici din coaja de molid	49
2.2.5. Metode de analiză cantitativă și calitativă a extractului polifenolic	50
2.2.6. Metode de evaluare a proprietăților bioactive ale extractului polifenolic	51
2.2.7. Sinteza criogelurilor pe bază de dextran și extract polifenolic din coaja de molid	53
2.2.8. Caracterizarea fizico-chimică a criogelurilor pe bază de dextran și extract polifenolic	53
2.2.9. Determinarea proprietăților biologice a criogelurilor încărcate cu extract polifenolic	54
2.2.10. Determinarea capacității de adsorbție a poluanților de către criogelurile pe bază de dextran și extract polifenolic din coaja de molid	55
2.2.11. Sinteza combinațiilor complexe și a nanoparticulelor cu molecule de (+)-catehină și ioni de cupru (II)	56
2.2.12. Biosinteza complecșilor și nanoparticulelor pe bază de extracte din coaja de molid	56
2.2.13. Incluziunea extractului polifenolic în $\beta$ -CDLA prin procesul de electrospinning	57
<b>CAPITOLUL 3. PREGĂTIREA BIOMASEI DE INTERES ȘI ANALIZA FIZICO-CHIMICĂ A ACESTEIA</b>	58
3.1. Analiza preliminară și dozarea componentelor principali din coaja de molid	59
3.2. Analiza cojii de molid prin Spectroscopie în Infraroșu cu Transformantă Fourier (FTIR)	61
3.3. Concluzii parțiale	63
<b>CAPITOLUL 4. OBȚINEREA ȘI CARACTERIZAREA EXTRACTIBILELOR ÎN PREZENȚA ULTRASUNETELOR (UAE)</b>	64

4.1. Metode de obținere a extractibilelor prin extracție asistată de ultrasunete	64
4.1.1. Extracția compușilor polifenolici pe baie de ultrasunete în absența și prezența de $\beta$ -ciclodextrină	65
4.1.2. Extracția compușilor polifenolici asistată de ultrasunete (UAE) prin intermediul sondei de ultrasonare	68
4.2. Optimizarea metodei de extracție asistată de ultrasunete generate de sondă	68
4.3. Concluzii parțiale	74
<b>CAPITOLUL 5. CARACTERIZAREA FIZICO-CHIMICĂ ȘI BIOLOGICĂ A EXTRACTULUI POLIFENOLIC OBȚINUT ÎN CONDIȚII OPTIME</b>	75
5.1. Caracterizarea fizico-chimică a extractului polifenolic	75
5.1.1. Analiza FTIR a extractului polifenolic obținut din coaja de molid	75
5.1.2. Determinarea conținutului de substanță uscată din extractul polifenolic obținut la sondă	76
5.1.3. Determinarea conținutului total de zaharuri reducătoare cu metoda acid dinitrosalicilic (DNS)	76
5.1.4. Profilul cromatografic al extractului polifenolic obținut	77
5.2. Proprietățile biologice ale extractului polifenolic din coaja de molid	79
5.2.1. Activitatea anticancerigenă	79
5.2.2. Activitatea antioxidantă	82
5.3. Concluzii parțiale	89
<b>CAPITOLUL 6. POSIBILITĂȚI DE FORMULARE A EXTRACTULUI POLIFENOLIC DIN COAJA DE MOLID SUB FORMĂ DE COMBINAȚII COMPLEXE, NANOPARTICULE ȘI FIBRE</b>	90
6.1. Sinteza de combinații complexe și de nanoparticule	90
6.1.1. Sinteza combinațiilor complexe în mediu de acetat de sodiu 20 mM, pH=5	91
6.1.2. Sinteza combinațiilor complexe în soluție de tartrat acid de potasiu și etanol 20% (v/v) 20 mM, pH = 3,7	93
6.1.3. Sinteza combinațiilor complexe în amestec etanol: apă 70% (v/v), pH=5	95
6.2. Sinteza nanoparticulelor cu standard de (+)-Catehină	98
6.2.1. Studiu privind influența concentrației ionului de cupru (II), a timpului de reacție, a temperaturii și pH-ului în formarea nanoparticulelor cu ioni de Cu(II)	99
6.2.2. Studiu privind influența raportului stoechiometric (metal: ligand) în formarea nanoparticulelor cu ionii de cupru(II)	102
6.3. Biosinteza nanoparticulelor pe bază de extracte din coaja de molid	106
6.3.1. Biosinteza nanoparticulelor utilizând în sistem ioni de Cu(II)	106
6.3.2. Biosinteza nanoparticulelor utilizând în sistem ioni de Fe(III)	110
6.4. Includerea extractului polifenolic în $\beta$ -ciclodextrină modificată cu L-lactidă prin procesul de electrospinning	112
6.5. Potențiale aplicații de mediu ale nanomaterialelor obținute	113
6.6. Concluzii parțiale	115
<b>CAPITOLUL 7. SINTEZA ȘI CARACTERIZAREA CRIOGELURILOR PE BAZĂ DE EXTRACT POLIFENOLIC DIN COAJA DE MOLID ȘI DEXTRAN</b>	117
7.1. Studiu privind influența volumului de extract polifenolic în formarea criogelurilor	119
7.1.1. Randamentul de obținere a criogelurilor pe bază de dextran și extract polifenolic din coaja de molid	119
7.1.2. Analiza FTIR a criogelurilor	121
7.1.3. Analiza compoziției elementale a criogelurilor	123
7.1.4. Determinarea porozității (P%)	125
7.1.5. Structura morfologică a criogelurilor PF :Dx = 1 :5 (v/v) respectiv PF :Dx = 1 :2,5 (v/v)	125

7.1.6. Gradul de umflare a criogelurilor pe bază de dextran și extractul din coaja de molid	127
7.2. Studiu privind influența concentrației dextranului în formarea criogelurilor	128
7.2.1. Randamentul de obținere a criogelurilor pe bază de dextran și extract polifenolic din coaja de molid	129
7.2.2. Analiza FTIR a criogelurilor	131
7.2.3. Determinarea compoziției elementale a criogelurilor	133
7.2.4. Determinarea porozității (P%)	136
7.2.5. Structura morfologică a criogelurilor PF :Dx5%, PF :Dx10%, respectiv PF :Dx20%	137
7.2.6. Gradul de umflare a criogelurilor obținute prin variația concentrației de dextran	139
7.3. Studiul privind influența volumului de reticulant, EGDGE 50%, în formarea criogelurilor	141
7.3.1. Randamentul de obținere a criogelurilor în funcție de volumul de reticulant EGDGE 50% adăugat și capacitatea de reticulare a acestora	141
7.3.2. Analiza FTIR a criogelurilor	143
7.3.3. Determinarea compoziției elementale a criogelurilor	145
7.3.4. Determinarea porozității (P%)	149
7.3.5. Structura morfologică a criogelurilor PF:EG = 1: 0,25 (v/v), PF:EG = 1: 0,375 (v/v) respectiv PF:EG = 1: 0,5 (v/v)	150
7.3.6. Gradul de umflare a criogelurilor sintetizate prin variația raportului volumic PF :EG	152
7.4. Concluzii parțiale	153
<b>CAPITOLUL 8. APLICAȚII ALE CRIOGELURILOR ÎNCĂRCATE CU EXTRACT POLIFENOLIC DIN COAJA DE MOLID ÎN SISTEME BIOLOGICE ȘI DE MEDIU</b>	154
8.1. Aplicații în sisteme biologice	155
8.1.1. Utilizarea criogelurilor în sisteme biologice ca agenți antibacterieni	155
8.1.2. Utilizarea criogelurilor în sisteme biologice ca agenți antioxidanți	157
8.2. Aplicații în sisteme de mediu	155
8.2.1. Utilizarea criogelurilor pe bază de extract polifenolic ca adsorbanți pentru îndepărtarea unor coloranți	159
8.2.2. Utilizarea criogelurilor ca biosorbenți pentru decontaminarea apelor poluate cu ioni de metale grele	169
8.3. Concluzii parțiale	175
<b>CONCLUZII FINALE</b>	176
<b>DISEMINAREA REZULTATELOR EXPERIMENTALE</b>	179
<b>BIBLIOGRAFIE</b>	180
<b>ANEXE</b>	203
<b>LISTA DE FIGURI</b>	203
<b>LISTA DE TABELE</b>	208

Notă: În rezumatul tezei de doctorat se prezintă într-o formă succintă introducerea, materialele și metodele de cercetare și o parte din rezultatele originale obținute, concluziile generale și bibliografia selectivă. La redactarea rezumatului s-au păstrat notațiile și numerotarea pentru capitolele, paragrafele, figurile și tabelele utilizate în cadrul tezei de doctorat.

## INTRODUCERE

Biomasa lignocelulozică reprezintă o sursă sustenabilă de materie primă ce poate fi utilizată în domenii precum agricultură, construcții, mediu, cosmetică, medicină ș.a.m.d.. Utilizarea acesteia presupune o serie de avantaje precum disponibilitate crescută, costuri reduse de producție, proprietăți fizice, chimice și mecanice remarcabile, dar și unele dezavantaje precum aplicabilitate selectivă, tehnici specifice de prelucrare, durată de viață redusă comparativ cu materialele sintetice ș.a.m.d. Printre provocările întâlnite în prelucrarea biomasei se află cantitatea de deșeu vegetal care se acumulează, după selectarea componentelor de interes, creând probleme economice, sociale, dar în special de mediu. În industria forestieră, după prelucrarea masei lemnoase rămân cantități mari de lemn, sub formă de deșeuri insuficient valorificate. De exemplu, în urma procesului tehnologic de prelucrare a lemnului, rumegușul obținut prin secționarea acestuia este transformat în peleți, însă coaja, ce este o sursă sustenabilă de compuși polifenolici și nu numai, este de cele mai multe ori disponibilizată.

În contextul valorificării deșeurilor vegetale și utilizării acestora la nivel industrial, cercetătorii și-au îndreptat atenția către studiile privind extracția, stabilizarea și formularea compușilor chimici naturali din biomasă. În această direcție, societatea științifică aplică tehnologii actuale și caută noi perspective de prelucrare a biomasei vegetale, permițând obținerea de bioproduse prin procedee verzi și cu costuri reduse.

Coaja reprezintă o sursă sustenabilă de compuși chimici naturali, precum lignină, zaharuri, hemiceluloze, celuloză sau extractibile ce pot fi utilizați cu succes în diverse scopuri. Din categoria extractibilelor, compușii polifenolici se remarcă printr-o reactivitate crescută (datorată numeroaselor grupări -OH din structura) atribuindu-le proprietăți remarcabile ce-i propulsează în utilizări atât în sistemele biologice cât și în remedierea componentelor de mediu. Studiile din literatura de specialitate confirmă utilizarea acestora în sistemele biologice ca agenți antibacterieni, antioxidanți, anticancerigeni sau antiinflamatori, cât și în sistemele de mediu fiind utilizați ca bioregulatori de creștere a plantelor sau biosorbenți pentru unii poluanți organici sau anorganici din sol și apele uzate. Deși compușii polifenolici prezintă proprietăți deosebite, demne de a fi utilizați la nivel industrial, stabilitatea acestora la factorii externi precum lumina, oxigenul atmosferic sau temperatura este relativ scăzută. Acest fapt a impus dezvoltarea unor metode de formulare a acestora sub formă de biocompuși cu scopul de a

potența proprietățile și de a lărgi domeniul de aplicabilitate. Studiile au arătat că incluziunea compușilor polifenolici în materiale polimerice sau formularea acestora ca nanomateriale nu duc doar la creșterea stabilității polifenolilor la factorii externi, ci contribuie și la îmbunătățirea proprietăților biologice al materialului de incluziune crescând valoarea produsului obținut. Astfel, biocompușii ce conțin extract polifenolic din biomasă își găsesc aplicabilitate în: industriile electrice și electronice sub formă de complecși metalici (Karpagavinayagam și colab., 2019); în sisteme de mediu prin îndepărtarea unor poluanți din apele uzate când sunt formulați sub formă de nanoparticule (Cheng și colab., 2022); dar și în industria alimentară permițând purificarea sucului de mere atunci când sunt incluși în criogeluri (Yavaser și colab., 2020).

Prin urmare, formularea compușilor polifenolici din extractibile din biomasă în noi produse vine cu avantajul creșterii valorii compușilor inițiali, încurajând utilizarea deșeurilor vegetale ca surse de materie primă și face astfel trecerea spre o economie circulară cu atingerea conceptului de „zero deșeuri”.

Raportându-ne la cele mai recente studii existente în literatura de specialitate, tema abordată în cadrul lucrării intitulată **„RECUPERAREA EXTRACTIBILELOR DIN DEȘEURI DE BIOMASĂ ȘI CONVERSIA ACESTORA ÎN NOI BIOPRODUSE CU APLICAȚII ÎN SISTEME BIOLOGICE ȘI DE MEDIU”** își propune să aducă contribuții cu privire la valorificarea extractului polifenolic din coaja de molid prin obținerea de noi compuși chimici cu posibile aplicații în sisteme de mediu și biologice. Scopul temei abordate este de a valorifica cat mai complex deșeurile de biomasă vegetală, având în vedere ca etapele parcurse și tehnicile utilizate pentru obținerea biocompușilor să se încadreze în conceptul de „chimie verde”.

Obiectivul general al lucrării de doctorat este așadar valorificarea extractului polifenolic din coaja de molid prin formularea de biocompuși cu potențiale aplicații în remedierea componentelor de mediu și în sisteme biologice, pentru reducerea cantității de deșeuri rezultate în industria prelucrării lemnului. Pentru atingerea obiectivului principal, s-a propus atingerea următoarelor obiective specifice:

O1 –selectarea, pregătirea și caracterizarea fizico-chimică a cojii de molid, în vederea obținerii extractibilelor (compuși polifenolici);

O2 – optimizarea parametrilor de lucru pentru extracția asistată de ultrasunete a compușilor polifenolici din coaja de molid cu scopul creșterii randamentului și reducerea timpului de extracție;



O3 – caracterizarea fizico-chimică, morfologică, structurală și biologică a extractului polifenolic obținut în condiții optime în vederea identificării unor potențiale aplicații ;

O4 – formularea extractului polifenolic sub formă de biocompuși (combinații complexe, nanoparticule, fibre și criogeluri) și caracterizarea fizico-chimică, morfologică, structurală și biologică a acestora

O5 – valorificarea criogelurilor încărcate cu extract polifenolic prin propunerea unor aplicații în procesele de remediere a apelor uzate, dar și în sisteme biologice agenți antibacterieni și antioxidanți.

Lucrarea de doctorat este structurată în două părți.

**Prima parte** a fost dedicată studiului de literatură și abordarea stadiului actual al cercetărilor în domeniul valorificării extractibilelor din biomasă. Această parte este dezvoltată în **Capitolul 1**, intitulat ***Stadiul actual al cercetărilor privind posibilitățile de separare, caracterizare și formulare a extractibilelor din biomasă***. Acest capitol prezintă clasificări succinte ale extractibilelor din biomasă și a compușilor polifenolici, precum și metode de separare a acestora prin tehnici convenționale și neconvenționale, cu accent pe cele neconvenționale. Obiectivul principal al tezei fiind valorificarea extractului din coaja de molid, acest capitol, cuprinde și parcurgerea stadiului actual al cercetărilor privind proprietățile biologice ale compușilor polifenolici din biomasă, dar și posibilitățile de formulare ale acestora în biocompuși cu scopul creșterii stabilității și lărgirii domeniului de utilizare în sistemele biologice.

**Partea a doua** cuprinde 7 capitole și redă partea de contribuții originale a lucrării de doctorat, în care sunt prezentate datele și rezultatele experimentale obținute pe parcursul perioadei de pregătire prin doctorat.

**Capitolul 2** prezintă materialele și metodele utilizate în cercetare. În acest capitol este specificată sursa de proveniență a cojii de molid și procedurile utilizate pentru pregătirea și caracterizarea acesteia în vederea obținerii de extractibile. De asemenea, sunt prezentate materialele, aparatura, metodologia de lucru și analiză în vederea optimizării procesului de extracție asistată de ultrasunete, a caracterizării și formulării extractului polifenolic sub formă de complecși, nanoparticule, fibre și criogeluri și cu potențiale aplicații biologice și de mediu. Formularea extractului polifenolic are loc prin varierea parametrilor de lucru (concentrație, pH, solvenți, timp de acțiune) redate detaliat, alături de metodele de caracterizare a produselor

obținute. Utilizarea bioproduselor încărcate cu extract polifenolic s-a realizat în sisteme biologice și de mediu, iar metodele aplicate sunt prezentate tot în acest capitol.

**Capitolul 3** este dedicat pregătirii materialului vegetal pentru experimentare precum și analizei preliminare și fizico-chimice. Pentru analiza preliminară s-a determinat conținutul de cenușă și umiditate, urmat de dozarea componentelor principali din coaja de molid, precum și caracterizarea structurală a acesteia prin Spectroscopie în Infraroșu cu Transformantă Fourier (FTIR). Aceste analize ajută la identificarea în biomasa studiată a compușilor de interes și indică posibilități de dezvoltare ulterioară de noi produse.

**Capitolul 4** prezintă studiul de optimizare a extracției compușilor de interes într-un proces asistat de ultrasunete. În vederea creșterii randamentului de extracție și având la bază studiile de cercetare efectuate în cadrul colectivului, s-au aplicat două metode de extracție a compușilor polifenolici. Prima metodă constă în adăugarea de  $\beta$ -ciclodextrină, cu rol de incluziune a compușilor polifenolici în timpul procesului de extracție în baia de ultrasunete, iar cea de-a doua metodă presupune schimbarea sursei generatoare de ultrasunete (prin utilizarea sondei de ultrasunete) fără alte adaosuri. Studiile au continuat pe cea de-a doua metodă de obținere a extractului polifenolic, iar procesul a fost optimizat într-un plan experimental de tip  $3^3$  (27 experimente) urmat de analiza prin metoda ANOVA.

**Capitolul 5** cuprinde caracterizarea fizico-chimică și biologică a extractului polifenolic obținut în condiții optime. Astfel, s-a determinat cantitatea de masă uscată a extractului polifenolic (fiind și varianta de prelucrare a extractibilului în ideea formulării biocompușilor) obținută prin concentrarea acestuia la rotavapor și uscarea ulterioară prin liofilizare; s-a determinat conținutul de zaharuri reducătoare precum și dozarea grupărilor funcționale. Profilul cromatografic obținut prin cromatografie lichidă de înaltă performanță a permis identificarea compușilor principali prezenți în extractul polifenolic și a oferit informații în legătură cu posibilitățile de formulare și valorificare a extractului. Evaluarea proprietăților biologice s-a realizat prin determinarea activităților anticancerigene și antioxidante ale extractului polifenolic studiat.

În **Capitolul 6** sunt redate posibilități de formulare ale extractibilelor din coaja de molid. Astfel, s-a realizat atât biosinteza de complecși și nanoparticule cu ioni de fier și cupru, cât și obținerea de fibre prin electrofilare (electrospinning) cu  $\beta$ -ciclodextrine. Compușii obținuți au fost caracterizați din punct de vedere fizico-chimic și structural.

**Capitolul 7** este cel mai complex și amplu cuprinzând etapele parcurse și rezultatele obținute în sinteza și caracterizarea criogelurilor de dextran încărcate cu extract polifenolic din coaja de molid. Pentru obținerea criogelurilor s-au efectuat studii privind influența concentrației de extract polifenolic, dextran și reticulant folosite în biosinteză. Fiecare studiu cuprinde determinarea randamentului de obținere a criogelurilor, determinarea compoziției elementale, a porozității și a gradului de umflare în funcție de concentrațiile reactanților. Cuantificarea rezultatelor a inclus și analiza structurală și morfologică a compușilor obținuți.

**Capitolul 8** prezintă posibilități de valorificare a criogelurilor încărcate cu extract polifenolic. Astfel se propun aplicații în sisteme biologice dovedind activitatea antioxidantă și antibacteriană a produselor obținute, în culturi patogene de *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*. Toate cele trei tipuri de bacterii au fost complet inhibitate de criogelurile de dextran încărcate cu compuși polifenolici. De asemenea, criogelurile ce conțin cea mai mare concentrație de extract polifenolic prezintă și cea mai intensă activitate împotriva radicalului superoxid, dovedită prin utilizarea metodei DPPH.

Ca aplicații de mediu s-a studiat capacitatea criogelurilor obținute de a îndepărta poluanți (organici și anorganici) din ape uzate. Astfel, s-au evaluat proprietățile sorbtive ale criogelurilor în sisteme statice monocomponent, în prezența unor poluanți precum coloranți (albastru de metil și cristal violet) dar și metale grele Cu(II) și Pb(II). Criogelurile pe bază de dextran și compuși polifenolici au demonstrat capacități de sorbție superioare comparativ cu cele raportate în literatură pentru alte tipuri de sorbenți dar pentru aceiași coloranți. În ape uzate ce conțin ioni de Cu(II) sau Pb(II) criogelurile au fost eficiente la pH slab acid (6,5) cu utilizarea de doze mici de sorbent (0,25 g/L).

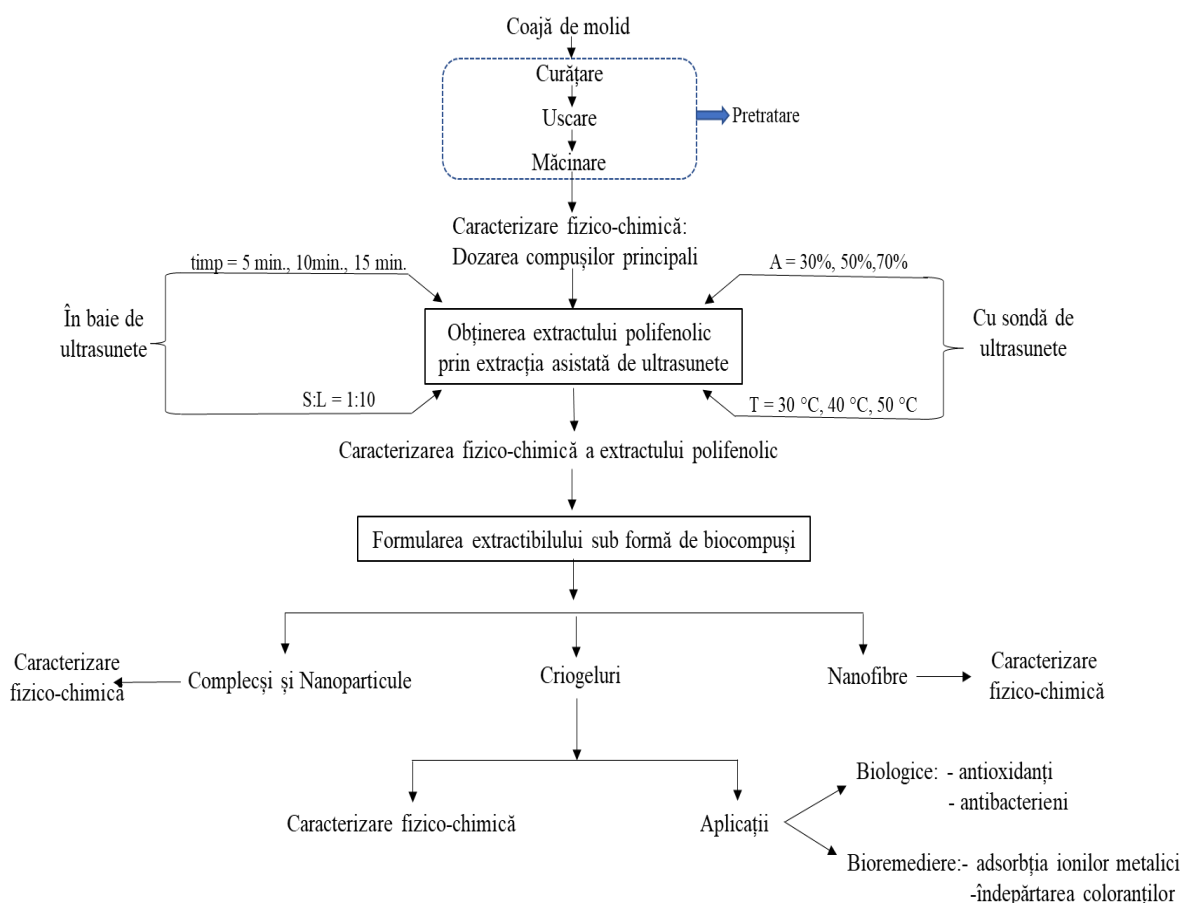
Lucrarea de doctorat se încheie cu diseminarea rezultatelor experimentale și **concluziile finale** în care sunt ilustrate, într-o formă compactă, rezultatele cercetării.

Diseminarea rezultatelor cercetărilor a fost realizată prin publicarea a două articole ISI, un articol BDI și prin participarea la trei conferințe internaționale și una națională prezentate în detaliu în secțiunea **Activitate științifică**.

## PARTEA A DOUA: CONTRIBUȚII PROPRII

### CAPITOLUL 2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

Pentru atingerea obiectivelor propuse în cadrul acestei lucrări s-a propus o schemă de lucru care redă parcurgerea etapelor urmărite (Figura 2.1.) Prima etapă a presupus colectarea materialului vegetal (coaja de molid, *Picea abies*) și pregătirea acesteia pentru experimente printr-un pre-tratament, urmată mai apoi de o caracterizare fizico-chimică. Materialul în prealabil pregătit a fost supus procesului de extracție a compușilor polifenolici prin intermediul ultrasunetelor. Optimizarea procesului de extracție s-a realizat prin urmărirea parametrilor ce influențează puternic procesul de extracție (temperatură, timp, amplitudine), pornind de la studiile realizate în colectivul nostru în anii anteriori de către Ghițescu și colab., 2015 și Talmaciu și colab., 2016. Extractul polifenolic astfel obținut a fost caracterizat din punct de vedere fizico-chimic și biologic, iar mai apoi a fost valorificat prin obținerea de bio-produse cu potențiale aplicații în sisteme biologice și de mediu.



**Figura 2.1.** Schema propusă pentru atingerea obiectivelor din cadrul acestui studiu

## CAPITOLUL 3. PREGĂTIREA BIOMASEI DE INTERES ȘI ANALIZA FIZICO-CHIMICĂ A ACESTEIA

### 3.1. Analiza preliminară și dozarea componentelor principali din coaja de molid

În urma analizei chimice s-a constatat un conținut de umiditate de 9,73% și cenușă 3,62%. Datele experimentale pentru dozarea componentelor principali au indicat un conținut de 14,08% hemiceluloze, 28,72 % celuloză și 36,15 % lignină. Rezultatele privind dozarea componentelor principali sunt în concordanță cu tipul biomasei utilizat (Bejenari și colab., 2022, Cabolova și colab., 2021, Thorenz și colab., 2018).

### 3.2. Analiza cojii de molid prin Spectroscopie în Infraroșu cu Transformantă Fourier (FTIR)

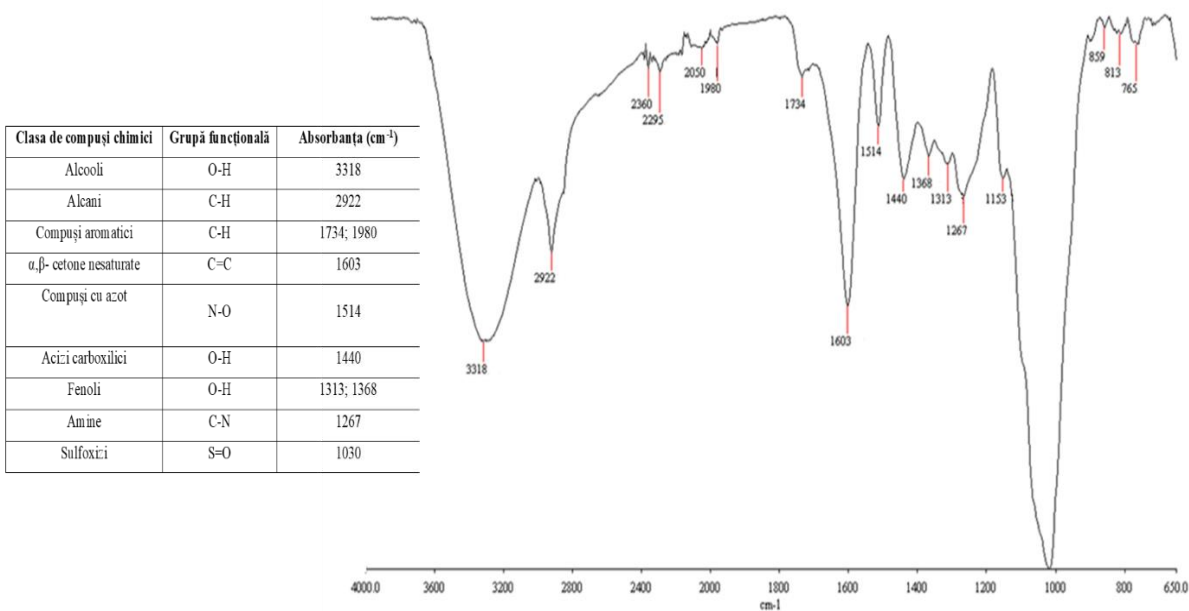
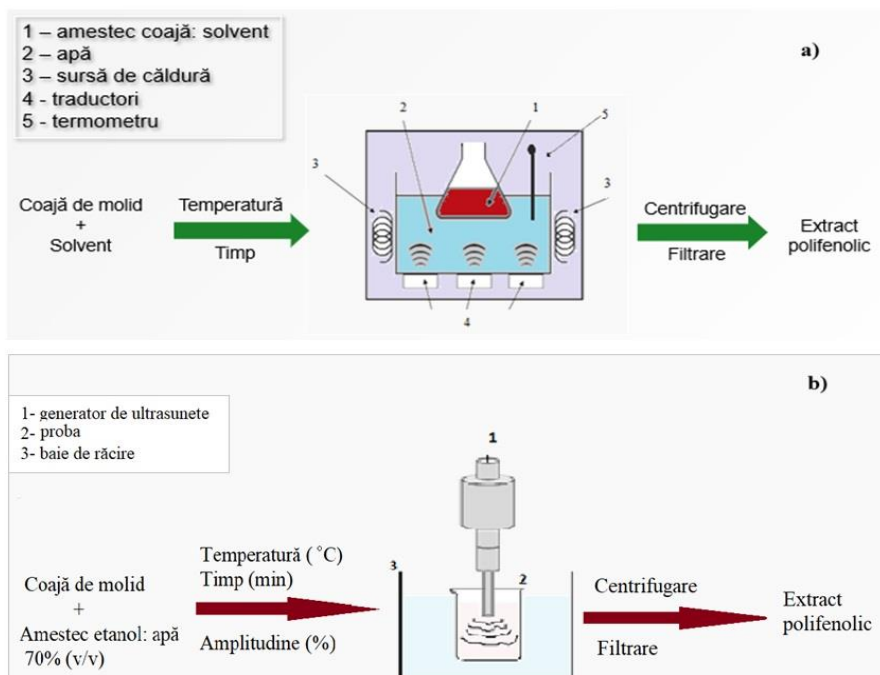


Fig. 3.2. Spectrul FTIR al cojii de molid

Conform figurii 3.2. putem aprecia ca vibrațiile de legătură corespunzătoare lungimilor de undă identificate prin analiza FTIR pune în evidență prezența a numeroase grupări funcționale printre care și cele ce se găsesc în structura compușilor polifenolici precum C-H, C-O, O-H, C=O, dar și a componentelor principali ai cojii de molid.

## CAPITOLUL 4. OBȚINEREA ȘI CARACTERIZAREA EXTRACTIBILELOR ÎN PREZENȚA ULTRASUNETELOR (UAE)

### 4.1. Metode de obținere a extractibilelor prin extracție asistată de ultrasunete



**Figura 4.1.** Schemă de lucru. Obținerea extractibilelor prin intermediul băii de ultrasunete (a) și a sondei de ultrasunete (b)

Extracția asistată de ultrasunete poate fi realizată prin utilizarea unei băii de ultrasunete (Figura 4.1. a) sau a unei sonde de generare de ultrasunete (Figura 4.1. b). Indiferent de aparatura selectată pentru procesul de extracție se va ține cont de parametri precum amplitudinea, puterea disipată, timpul și temperatura pentru a obține un randament ridicat al procesului de extracție. S-au analizat ambele metode ale procesului de extracție asistat de ultrasunete a compușilor polifenolici din coaja de molid.

#### 4.1.1. Extracția compușilor polifenolici pe baie de ultrasunete în absența și prezența de $\beta$ -ciclodextrină

S-a studiat posibilitatea de extracție pe baie de ultrasunete în prezența  $\beta$ -ciclodextrinei, în ideea creșterii randamentului de extracție dar și de a încapsula compușii polifenolici în structura acesteia potențându-le astfel proprietățile biologice care pot suferi modificări în urma

contactului cu factorii exteriori (temperatura, lumina, oxigenul atmosferic). Dată fiind insolubilitatea  $\beta$ -ciclodextrinei în solventul de tip etanol, procesul de extracție a fost destul de dificil, iar randamentul extractului nu a crescut semnificativ (de la 31,64 mg/g la 33,75 mg/g (tabel 4.2.)). Din acest motiv metoda propusă nu poate fi luată în considerare pentru creșterea randamentului de extracție dar poate fi justificată pentru înglobarea compușilor polifenolici concomitent cu extracția acestora.

**Tabel 4.2.** Conținutul total de polifenoli prezenți în extractele cu  $\beta$ -CD

Nr.C rt.	Concentrația $\beta$ -CD	Timpul de extracție (min)	Temperatura (°C)	Raport solid: solvent (g: mL)	TPC (mg echivalenți GAE/ g coajă de molid)
1	-	45	50	1:10	31,64
2	5				34,37
					33,13
3	10				19,25
					18,665

#### 4.2. Optimizarea metodei de extracție asistată de ultrasunete generate de sondă

Studiul s-a efectuat ținând cont de influența amplitudinii, a temperaturii și a timpului asupra randamentului în compuși polifenolici separați.(Tabel 4.4).

**Tabel 4.4.** Concentrația compușilor polifenolici în funcție de temperatură, amplitudine și timp la extracția asistată de sonda de ultrasonare

Nr. Crt.	Temperatură ( $\pm 2^\circ\text{C}$ )	Timp (min)	Amplitudine (%)	Conținutul total de polifenoli (mgGAE/g coajă de molid)	
				Media aritmetică CTP	Deviația standard
1	30	5	30	34,2	1,1126
2		10		35,99	1,7750
3		15		35,5	2,1040
4		5	50	34,95	1,1125
5		10		38,09	0,8976
6		15		37,61	1,8129
7		5	70	36,62	1,9042
8		10		37,74	0,8465
9		15		36,02	0,1484
10	40	5	30	41,67	1,1923
11		10		41,86	1,1933
12		15		39,93	0,9990
13		5	50	41,79	1,4629
14		10		42,20	0,2691
15		15		39,83	1,4128

16	50	5	70	39,9	1,4298
17		10		39,93	1,2678
18		15		37,68	1,8605
19		5	30	37,18	1,1609
20		10		39,13	2,5290
21		15		40,81	0,3717
22		5	50	38,37	0,5927
23		10		40,67	1,5477
24		15		40,24	0,6636
25	5	70	38,4	0,9169	
26	10		39,1	1,0414	
27	15		37,36	0,9549	

În urma parcurgerii unui plan experimental factorial complet de tip  $3^3$  (27 experimente) și a analizei variației prin metoda ANOVA (tabel 4.5.) s-a stabilit că temperatura de  $40^{\circ}\text{C}$ , timpul de 10 minute și amplitudinea oscilațiilor de 30% permite obținerea conținutului cel mai ridicat de compuși polifenolici (42,41 mg/g). Cu ajutorul sondei de ultrasonare timpul de extracție scade la 10 minute față de 45 min pentru aceeași extracție realizată în baia de ultrasunete.

**Tabelul 4.5.** Analiza varianței prin metoda ANOVA

Sursa	DF*	Adj SS	Adj MS	Testul-F	Testul-P
Model	18	0,938963	0,052165	17,80	< 0,001
Temperatura	2	0,663096	0,331548	113,12	< 0,001
Amplitudinea	2	0,073838	0,036919	12,60	0,003
Timpul	2	0,065292	0,032646	11,14	0,005
<b>Interacțiuni</b>					
Temperatura*Amplitudine	4	0,055418	0,013854	4,73	0,03
Temperatura*Timp	4	0,068755	0,017189	5,86	0,017
Amplitudine*Timp	4	0,036693	0,009173	3,13	0,08
Lack-of-Fit	7	0,015306	0,002187	0,27	0,905
Pure Error	1	0,008143	0,008143		
Total	26	0,962411			

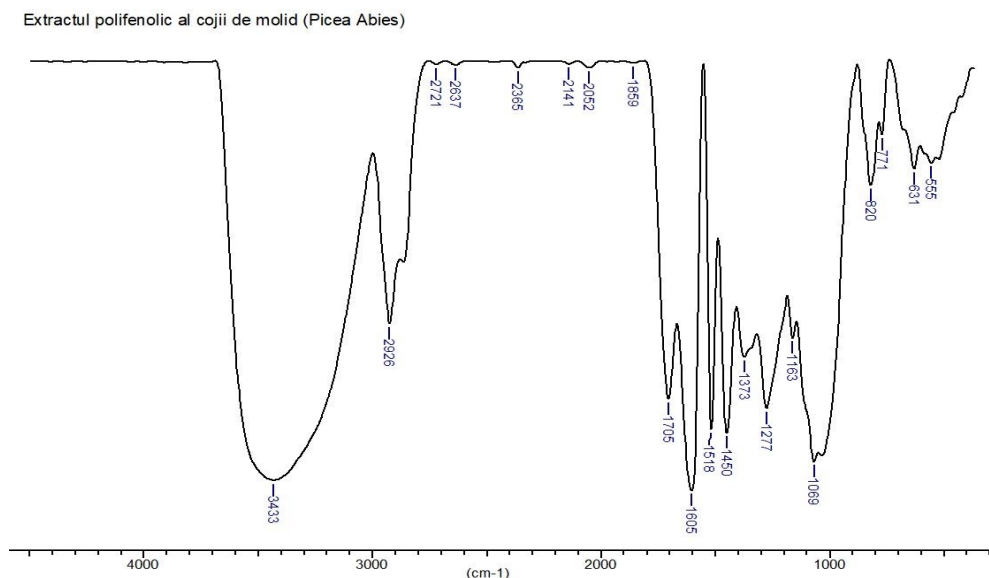
\* DF – grade de libertate; Adj SS – pătratul sumelor ajustate; Adj MS – pătratul mediei ajustate



## CAPITOLUL 5. CARACTERIZAREA FIZICO-CHIMICĂ ȘI BIOLOGICĂ A EXTRACTULUI POLIFENOLIC OBȚINUT ÎN CONDIȚII OPTIME

### 5.1. Caracterizarea fizico-chimică a extractului polifenolic

#### 5.1.1. Analiza FT-IR a extractului polifenolic obținut din coaja de molid



**Figura 5.1.** Spectrul FTIR al extractului polifenolic din coaja de molid

Pentru analiza structurală și compozițională a extractului polifenolic, s-a utilizat metoda spectroscopiei în infraroșu (Figura 5.1.). Această metodă a permis identificarea grupărilor funcționale, oferind informații despre structura compușilor separați în extractul obținut.

#### 5.1.2. Determinarea conținutului de substanță uscată din extractul polifenolic obținut la sondă

Pentru a determina masa de substanță uscată s-a utilizat extractul concentrat la presiune redusă (175 mbar) la rotavapor, până la eliminarea completă a etanolului din sistem. A urmat apoi o etapă de uscare prin liofilizare, după care s-a determinat, prin cântărire, substanța uscată. Experimentul s-a realizat folosind 50 mL de extract obținut la sonda de ultrasunete. În urma metodei descrise mai sus s-a obținut 0,53g substanță uscată/ 50 de mL extract polifenolic. În urma calculelor rezultă că se obțin *8,387 g substanță uscată extract/ 100 g coajă* absolut uscată luată în lucru.

### 5.1.3. Determinarea conținutului total de zaharuri reducătoare cu metoda acid dinitrosalicilic (DNS)

Studiul s-a realizat prin spectrofotometrie UV-VIS la lungimea de undă de 540 nm. Curba de calibrare a fost realizată utilizând soluții de glucoză cu concentrații de 0,4 mg/mL, 1mg/mL, 2 mg/mL, 3 mg/mL și 4 mg / mL. Analiza a permis identificarea unei cantități considerabile de *zaharuri reducătoare* în extractul obținut din coaja de molid având o valoare de *16,37 mg ZR/g coajă*.

### 5.1.4. Profilul cromatografic al extractului polifenolic obținut

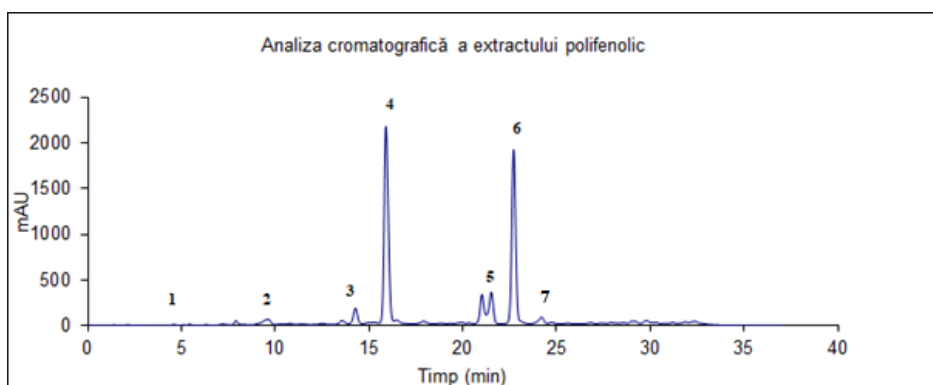


Figura 5.2. Profilul cromatografic al extractului polifenolic

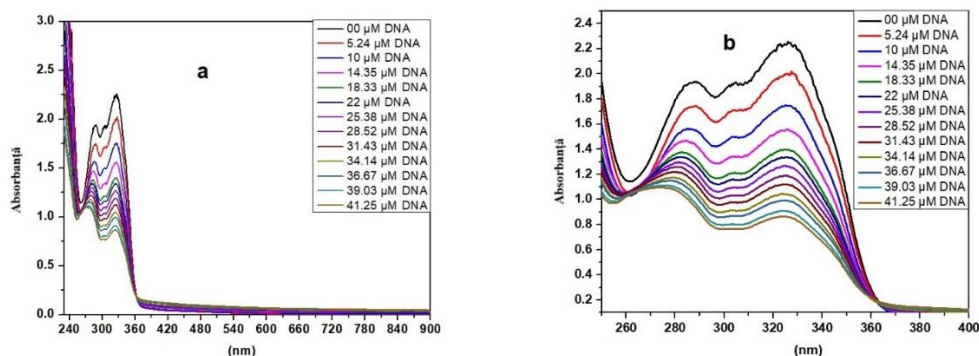
Metoda cromatografică folosită a permis identificarea a șapte compuși polifenolici și anume: catehina (2) și acizii galic (1), vanilic(3), **siringic(4)**, **sinapic(5)**, **ferulic(6)** și p-cumaric (7). Acizii siringic, ferulic și sinapic s-au regăsit în concentrație mai ridicată, fiind urmați de catehină și acizii galic, vanilic și p- cumaric.

## 5.2. Proprietățile biologice ale extractului polifenolic din coaja de molid

### 5.2.1. Activitatea anticancerigenă

Activitatea anticancerigenă a extractului polifenolic a fost determinată printr-un studiu electrochimic de interacțiune a acestuia cu molecule de ADN. Comportamentul electrochimic al extractului polifenolic s-a studiat prin punerea în contact cu diferite concentrații ale soluțiilor de ADN, iar formarea legăturilor dintre grupările funcționale ale extractului polifenolic și molecula de ADN s-a pus în evidență prin spectrofotometrie UV-VIS (Figura 5.3.). În cadrul

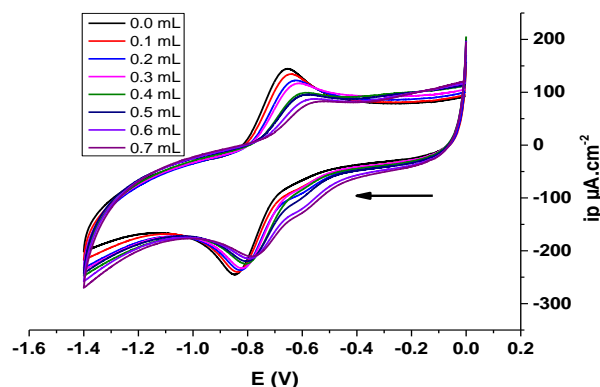
acestui studiu, ADN-ul dublu catenar a fost extras din sângele de pui utilizând metoda de liză a celulelor nucleare (Oleksi și colab., 2006).



**Figura 5.3.** Spectrele de absorbție electronice ale extractului polifenolic în prezența unor concentrații crescânde de ADN

### 5.2.2. Activitatea antioxidantă

Pentru a măsura activitatea antioxidantă a extractului polifenolic s-a urmărit proprietatea acestuia de a capta radicalii superoxid,  $O_2^{\cdot -}$ . Studiul s-a realizat prin aplicarea testului de captare a radicalilor liberi în DMSO/0,1M  $Bu_4NBF_4$ , iar ca metodă de analiză s-a aplicat voltametria ciclică. Rezultatele experimentale au arătat că extractul polifenolic prezintă capacități antioxidante remarcabile fiind mai eficient ( $IC_{50} = 0,09$ ) decât standardul folosit drept referință ( $\alpha$ - tocoferol;  $IC_{50} = 3,04$ ). În urma analizei capacității antioxidante a extractului polifenolic prin voltametrie ciclică, s-a observat o scădere a potențialului radicalului superoxid odată cu creșterea concentrației de extract polifenolic (Figura 5.5.).



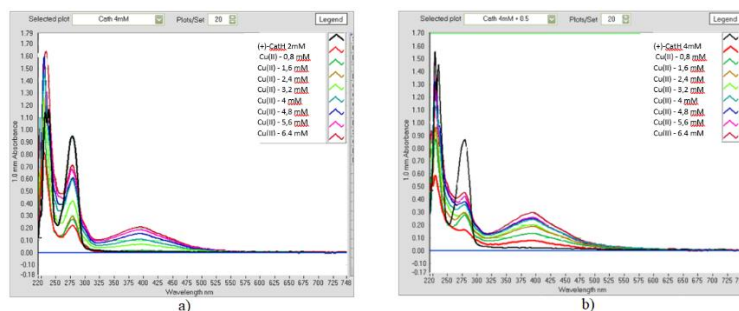
**Figura 5.5.** Voltamograma ciclică a DMSO/0,1M  $Bu_4NBF_4$  saturat cu oxigen pe un electrod de Pt în absența și prezența diferitelor concentrații de extract polifenolic (10 mg/mL) cu o viteză de scanare de 100 mV/s

# CAPITOLUL 6. POSIBILITĂȚI DE FORMULARE A EXTRACTULUI POLIFENOLIC DIN COAJA DE MOLID SUB FORMĂ DE COMBINAȚII COMPLEXE, NANOPARTICULE ȘI FIBRE

## 6.1. Sinteza de combinații complexe și de nanoparticule

Sinteza combinațiilor complexe și a nanoparticulelor s-a realizat cu molecule standard de (+)-catehină (2mM și 4mM), compus identificat în componența extractului polifenolic, și soluție de Cu(II) (0,5 mM- 0,7 mM), în diferite medii de reacție. Studiul s-a efectuat ținând cont de influența raportului stoichiometric Metal:Ligand (ioni de cupru și (+)-catehinei) precum și de concentrațiile acestora. Formarea complexelor și a nanoparticulelor s-a pus în evidență prin intermediul spectrofotometriei UV-VIS.

### 6.1.1. Sinteza combinațiilor complexe în mediu de acetat de sodiu 20 mM, pH=5

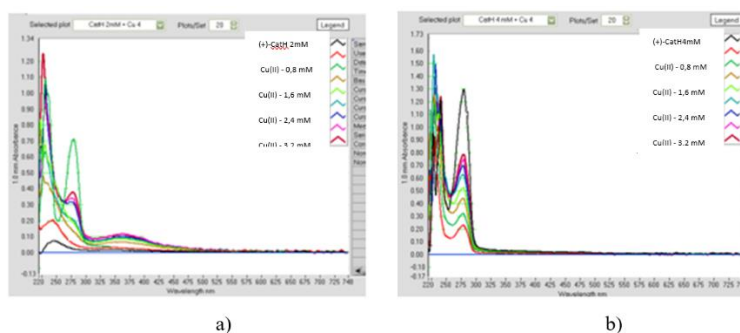


**Figura 6.1.** Spectrul UV-vis al complexelor ce conțin (+)- catehină 4mM și Cu(II) în concentrații diferite (0,5 – 4 mM) din momentul apariției colorației (a) și după 210 min de la inițierea reacției (b) în prezența acetatului de sodiu

Analiza spectrofotometrică (figura 6.1.) confirmă formarea legăturilor dintre Cu(II) și (+)-catehină prin prezența picurilor corespunzătoare inelului B, la lungimea de undă de 395 nm. Creșterea concentrației ionului de cupru determină o complexare mai rapidă, însă odată cu creșterea acesteia stabilitatea complexului, în timp, scade (după 210 minute). Prin utilizarea acetatului de sodiu, se obțin complecși cu stabilitate relativ scăzută, formarea acestora făcând parte din procesul de obținere a nanoparticulelor.

### 6.1.2. Sinteza combinațiilor complexe în soluție de tartrat acid de potasiu și etanol 20% (v/v) 20 mM, pH = 3,7

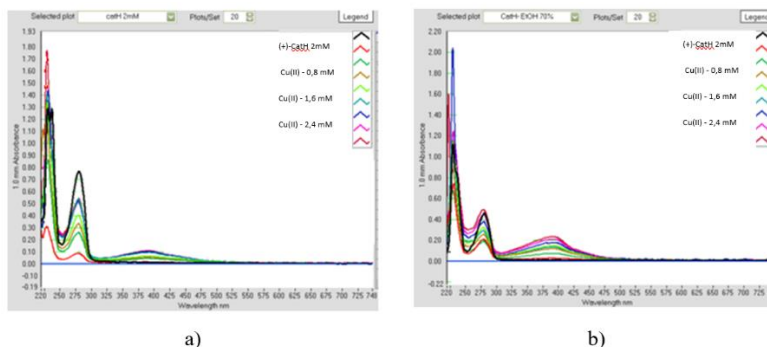
Utilizarea tartratului acid de potasiu nu a prezentat rezultate satisfăcătoare în obținerea complexelor datorită timpului ridicat de formare a legăturilor ionice. Investigațiile spectrofotometrice au fost realizate în momentul apariției colorației galben pal. După 20 de zile de la punerea în contact a soluțiilor colorația specifică formării complexelor s-a remarcat doar pentru probele ce conțin catehină 2 mM nu și pentru cele ce conțin (+)- CatH 4 mM (Figura 6.4.).



**Figura 6.4.** Spectrul UV-vis al complexelor ce conțin (+)-CatH 2 mM (a) și respectiv 4 mM (b) după 20 zile de la punerea în contact a reactanților

### 6.1.3. Sinteza combinațiilor complexe în amestec etanol: apă 70% (v/v), pH = 5

Combinațiile complexe obținute în prezența etanolului au prezentat o stabilitate crescută comparativ cu celelalte medii de reacție prezentate anterior, fiind totodată și solventul utilizat la obținerea extractelor polifenolice din coaja de molid. În urma experimentului s-a constatat că soluția de etanol 70%, favorizează formarea complexelor de cupru cu polifenoli de tipul catehinei, procesul de complexare având loc rapid (după 7 minute), iar stabilitatea este extrem de ridicată (până la 7 luni) dacă sunt feriți de lumină și menținuți la rece.



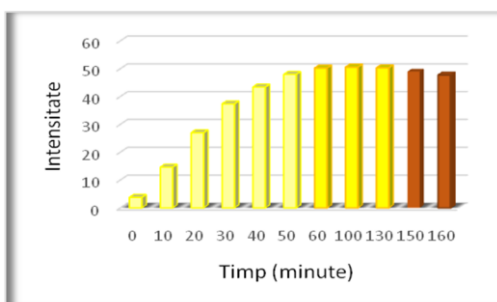
**Figura 6.5.** Spectrul UV-vis al formării complexelor după 30 minute (a) și respectiv 72 de ore (b)

## 6.2. Sinteza nanoparticulelor cu standard de (+)-Catehină

Datele din literatură confirmă faptul că obținerea combinațiilor complexe cu catehină în soluție de acetat de sodiu sunt extrem de instabile, însă acest sistem poate fi folosit ca parte din procesul de formare a nanoparticulelor. Pentru a urmări modul în care condițiile de lucru favorizează formarea nanoparticulelor, s-a studiat influența temperaturii de reacție, a pH-ului soluțiilor, variația raportului stoechiometric M: L și a concentrației ionului metalic. Procesul s-a urmărit prin spectrofotometrie UV-VIS până în momentul formării nanoparticulelor și SALD după formarea completă a particulelor pentru a stabili distribuția dimensională a acestora.

### 6.2.1. Studiu privind influența concentrației ionului de cupru (II), a timpului de reacție, a temperaturii și pH-ului în formarea nanoparticulelor cu ioni de Cu(II)

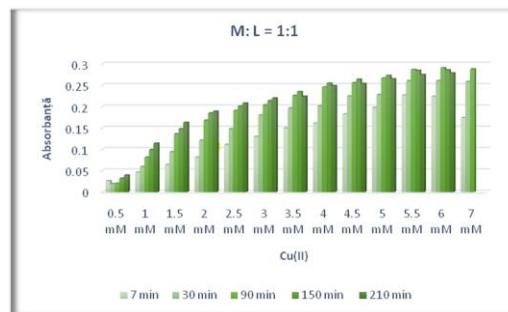
Studiul de pH s-a realizat prin luarea în lucru a două soluții cu pH=5 preparate în aceleași condiții. Scopul acestui protocol experimental a fost acela de a identifica dacă există diferențe majore ale valorilor de pH în urma modificării volumului la prelevarea probelor pentru analizele spectrofotometrice. Pe durata analizei (160 minute), pH-ul acesta se păstrează constant nefiind influențat de volumul probelor sau variația temperaturii din timpul procesului, fenomen datorat transferului termic în urma manevrării sticlăriei.



**Figura 6.6.** Variația în timp a intensității absorbției combinațiilor complexe până la formarea nanoparticulelor

#### Legendă

- timpul necesar complexării moleculelor de (+)-CatH cu ionii de Cu(II)
- stabilitatea combinațiilor complexe în timp
- momentul formării nanoparticulelor



**Figura 6.7.** Influența concentrației ionului de Cu(II) asupra formării nanoparticulelor în funcție de durata de reacție

Figura 6.6 ilustrează momentul apariției nanoparticulelor sub forma precipitatului, însoțită de scăderea în intensitate a picului. Din aceste date se poate observa că timpul necesar formării combinațiilor complexe este de 50 de minute pentru parametrii utilizați, fiind urmată de stabilizarea acestora în timp (coloanele galben intens) și apoi de formarea

nanoparticulelor în intervalul 100- 160 min. Analiza spectrofotometrică a evidențiat o creștere a concentrației complexului format o dată cu creșterea concentrației ionului de cupru. Aceasta este apreciată prin creșterea intensității picului corespunzător inelului B (formarea legăturii dintre (+)-catehină și Cu(II)). În cazul utilizării soluției de Cu(II) cu concentrația de 7 mM formarea nanoparticulelor are loc după doar 90 minute (Figura 6.7), iar pentru restul soluțiilor după 150 min.

### **6.2.2. Studiu privind influența raportului stoechiometric (metal: ligand) în formarea nanoparticulelor cu ionii de cupru(II)**

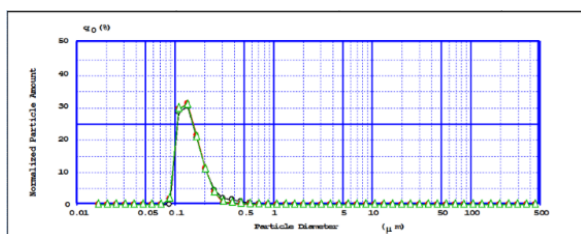
Studiul privind variația raportului stoechiometric metal: ligand indică faptul că raportul de 1:1 este cel favorabil obținerii nanoparticulelor cu ioni de Cu(II) și standard de catehină. Creșterea concentrației molare a ionului de cupru sau a catehinei, nu face decât să rezulte sub formă de exces de ioni metalici sau liganzi după finalizarea reacției. Astfel se obțin nanoparticule cu aspect unimodal și cu un diametru mediu de 100 nm.

## **6.3. Biosinteza nanoparticulelor pe bază de extracte din coaja de molid**

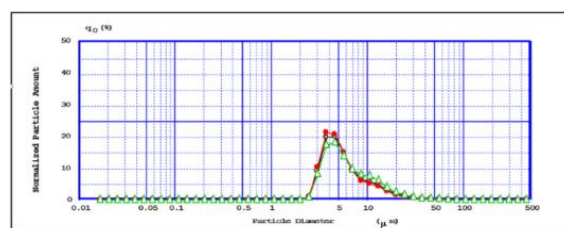
Biosinteza nanoparticulelor pe bază de extract polifenolic din coaja de molid s-a realizat prin co-precipitarea sării de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  și  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Astfel, pentru biosinteza nanoparticulelor de Cu(II) și Fe(III) s-au luat în lucru o soluții în concentrație de 1mM și extract polifenolic obținut în prezența ultrasunetelor (TPC=42,41 mg GAE/g coajă).

### **6.3.1. Biosinteza nanoparticulelor utilizând în sistem ioni de Cu(II)**

Raportul volumic, Cu(II): extract polifenolic, utilizat în acest studiu este de 10:1. Rezultatele experimentale au indicat că la temperatura camerei nu are loc formarea nanoparticulelor cu ionii de Cu(II) și că prezența luminii nu influențează procesul de obținere a acestora. Curbele de distribuție dimensională au indicat prezența nanoparticulelor de dimensiuni cuprinse între 50-70 nm ca având un aspect unimodal în primele 20 min de reacție pentru probele supuse agitării magnetice și prezența nanoparticulelor cu dimensiuni cuprinse între 50-500 nm și cu un diametru mediu de 151 nm pentru probele obținute în absența agitării magnetice.



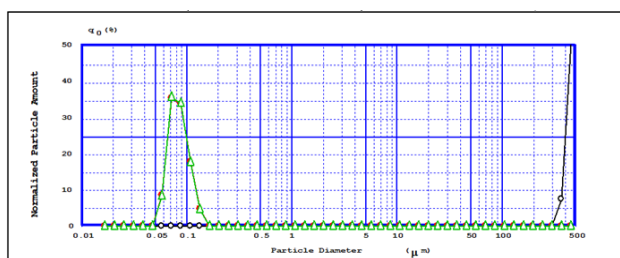
**Figura 6.10.** Distribuția dimensională a nanoparticulelor pentru suspensia obținută la temperatura de 90-96°C fără agitare magnetică



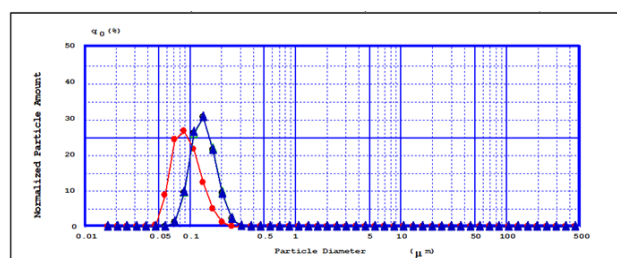
**Figura 6.11.** Distribuția nanoparticulelor pentru suspensia obținută la temperatura de 90-96°C cu agitare magnetică. Timp de reacție 50 minute

### 6.3.2. Biosinteza nanoparticulelor utilizând în sistem ioni de Fe(III)

Biosinteza nanoparticulelor de Fe(III) a avut loc la temperatura camerei prin variația raportului volumic Fe(III) (1mM): extract (1:1, 1:3, 2:1 și 1:10). Formarea nanoparticulelor cu ionii de Fe(III) are loc instantaneu, din momentul punerii soluțiilor în contact. Experimentele au avut loc în mediu apos și etanolic, fiind posibilă formarea și analiza nanoparticulelor obținute în extractul apos la rapoartele volumice Fe(III): extract = 2:1 și 10:1, iar pentru extractul etanolic la rapoartele 1:1 și 2:1. În cazul extractului apos (Figura 6.14.) se observă obținerea nanoparticulelor cu diametrul mediu de 71 nm pentru raportul 2:1 și nanoparticule cu diametrul mediu de 110 nm pentru raportul 10:1. În cazul extractului cu etanol: apă 70% (v/v) și ionii de Fe(III) se observă obținerea nanoparticulelor cu diametrul mediu de 145 nm pentru raportul 2:1 și nanoparticule cu diametrul mediu de 185 nm pentru raportul 1:1.



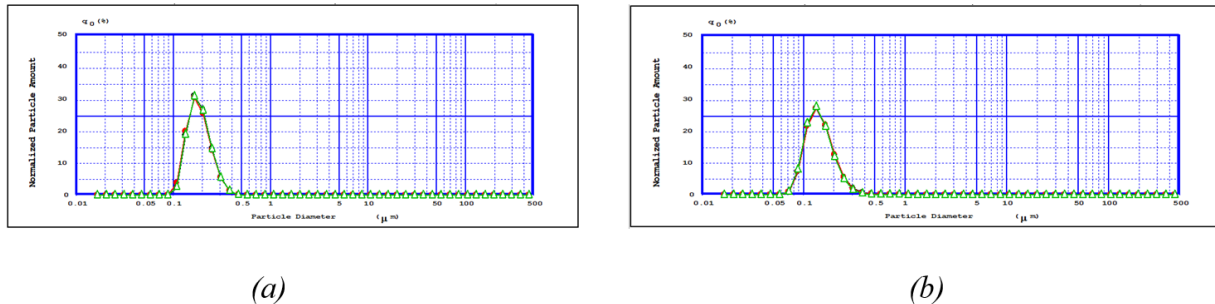
(a)



(b)

**Figura 6.14.** Caracterizarea dimensională a nanoparticulelor de fier(III) sintetizate în prezența extractului apos la raportul volumic = 2:1 (a) și 10:1 (b)

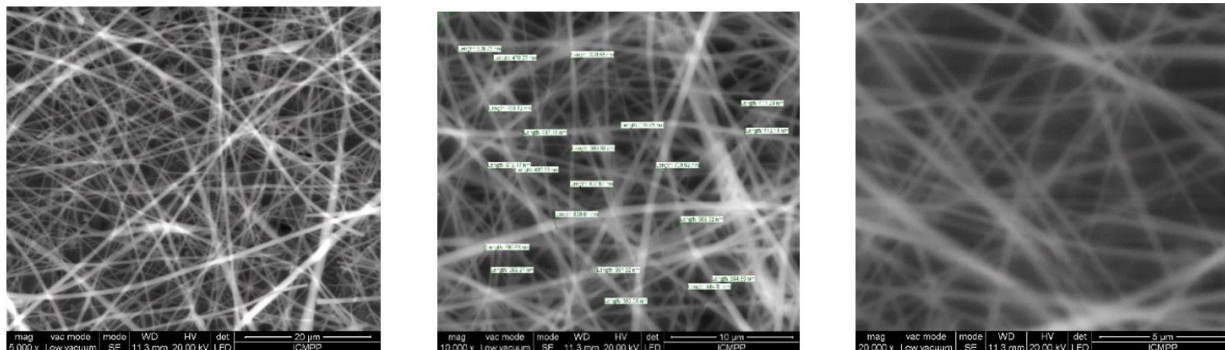




**Figura 6.15.** Caracterizarea dimensională a nanoparticulelor de fier sintetizate în prezența extractului etanolic la raportul volumic = 1:1 (a)) și 2:1 (b))

#### 6.4. Includerea extractului polifenolic în $\beta$ -ciclodextrină modificată cu L-lactidă prin procesul de electrospinning

Includerea prin electrospinning, a extractului polifenolic, în fibre de  $\beta$ -ciclodextrină modificată cu lactidă (astfel încât să fie compatibilă cu solventul utilizat în procesul de extracție) s-a investigat prin microscopia electronică de baleiaj (SEM). Extractul polifenolic a fost înglobat cu succes în moleculele de  $\beta$ -CDLA, fibrele rezultate având dimensiuni mai ridicate comparativ cu  $\beta$ -CDLA singur (250 nm) având un diametru mediu de 400 nm.



**Fig. 6.17.** Imagini SEM pentru morfologia fibrelor de  $\beta$ -CDLA încărcate cu extract polifenolic

#### 6.5. Potențiale aplicații de mediu ale nanomaterialelor obținute

Compușii sintetizați în acest capitol, pot avea aplicații de mediu putând fi utilizați ca biosorbenți pentru depoluarea apelor uzate sau în sisteme biologice ca agenți antibacterieni. Studiile de literatură au demonstrat faptul că polifenolii din extractele din biomasă aduc un plus proprietăților biologice ale acestor clase de compuși, iar prin studiul actual s-a dovedit obținerea cu succes a nanoparticulelor, complexilor și nanofibrelor de  $\beta$ -ciclodextrină. Prin urmare, sinteza acestor biocompuși deschid noi direcții de cercetare având în vedere aplicabilitatea acestora în sistemele biologice și de mediu.

## CAPITOLUL 7. SINTEZA ȘI CARACTERIZAREA CRIOGELURILOR PE BAZĂ DE EXTRACT POLIFENOLIC DIN COAJA DE MOLID ȘI DEXTRAN

În scopul obținerii a de noi criogeluri bioactive s-au investigat sistematic următorii parametri: gradul de reticulare, raportul dintre reactanți și concentrația dextranului. Etilenglicol diglicidileterul (EGDGE) s-a folosit drept reticulant având rol de agent stabilizator în timpul procesului de gelifiere. Pentru studiul comparativ s-au sintetizat și probe martor ce conțin doar dextran și EGDGE drept agent de reticulare.

### 7.1. Studiul privind influența volumului de extract polifenolic în formarea criogelurilor

Având în vedere sinteza criogelurilor, volumele diferite de extract polifenolic concentrat a fost raportat la volumul de dextran luat în lucru. Astfel, probele au fost notate ca fiind **PF :Dx = 1 :5 (v/v)** pentru criogelurile ce conțin 1 mL extract și respectiv **PF :Dx = 1 :2,5 (v/v)** pentru criogelurile ce conțin 2 mL extract din coaja de molid. Caracterizarea criogelurilor obținute s-a făcut din punct de vedere al randamentului de sinteză, a gradului de umflare, a porozității, și a compoziției structurale, elementale și morfologice.

#### 7.1.1. Randamentul de obținere a criogelurilor pe bază de dextran și extract polifenolic din coaja de molid

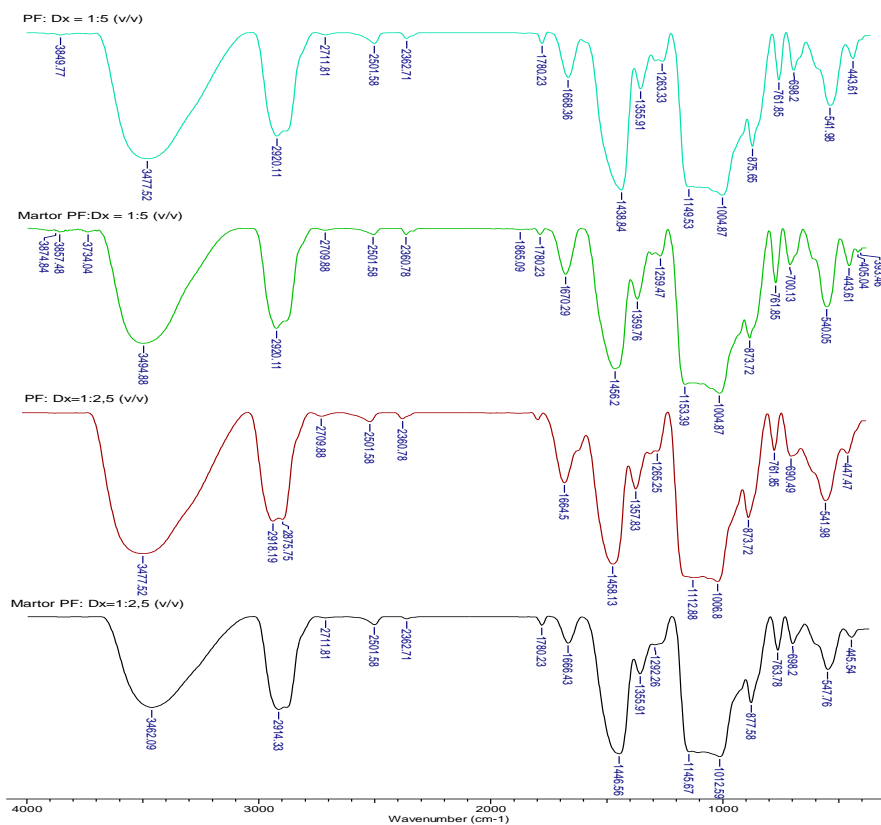
**Tabel 7.1.** Influența volumului de extract polifenolic asupra randamentului de obținere, GFY %, al criogelurilor

Reticulant	Cod probă	Conținut (grame)	W <sub>d</sub> (g)	W <sub>m</sub> (g)	GFY %
EGDGE 50%	<b>PF:Dx = 1:2,5 (v/v)</b>	1 g Dx 20% <b>1,4 g</b> polifenoli 0,852 g NaOH 5M 0,41925 g EGDGE 50%	2,2830	3,67125	<b>62,19%</b>
	<b>Martor PF:Dx = 1:2,5 (v/v)</b>	1 g Dx 20% <b>0 g</b> apă 0,852 g NaOH 5M 0,41925 g EGDGE 50%	2,1402	2,27125	<b>94,23%</b>
	<b>PF:Dx = 1:5 (v/v)</b>	1 g Dx 20% <b>0,7 g</b> polifenoli 0,852 g NaOH 5M 0,41925 g EGDGE 50%	2,2573	2,97125	<b>75,97%</b>
	<b>Martor PF:Dx = 1:5 (v/v)</b>	1 g Dx 20% <b>0 g</b> apă 0,852 g NaOH 5M 0,41925 g EGDGE 50%	2,1895	2,27125	<b>96,4%</b>

Rezultatele experimentale prezentate în Tabelul 7.1. relevă un randament crescut pentru obținerea criogelurilor ce conțin 1 mL extract polifenolic comparativ cu cele ce conțin 2 mL. Acest fapt poate fi datorat imobilizării în structura polimerică a dextranului a unui număr mai mare de compuși polifenolici prezenți în extractul din coaja de molid. Randamentul mai scăzut în cazul obținerii criogelurilor ce conțin 2 mL extract concentrat poate fi datorat moleculelor de compuși polifenolici neimobilizați în structura dextranului ce apoi au suferit un proces de oxidare ca urmare a pregătirii probei pentru analiză.

### 7.1.2. Analiza FT-IR a criogelurilor

Analiza prin spectroscopie FT-IR a fost aleasă ca o metodă adițională de caracterizare a criogelurilor pe bază de dextran și încărcate cu extractul din coaja de molid. După cum se poate observa în Figura 7.2, această analiză oferă certitudinea unei structuri compoziționale complexe, cu un conținut însemnat de grupări aromatice atribuite compușilor polifenolici și lanțurilor polimerice corespunzătoare dextranului.



**Figura 7.2.** Spectrele FT-IR ale criogelurilor PF:Dx = 1:2,5 (v/v) respectiv PF:Dx = 1:5 (v/v) și a probelor martor corespunzătoare acestora

Astfel, spectrul FT-IR permite identificarea vibrațiilor de alungire corespunzătoare dextranului, înregistrate la lungimile de undă cuprinse între 1100 - 1300  $\text{cm}^{-1}$  corespunzătoare grupărilor hidroxil și a legăturilor C-O din inelele glucopiranozice respectiv la banda de absorbție de 3400  $\text{cm}^{-1}$  corespunzătoare vibrațiilor de alungire a grupărilor hidroxil specifice polizaharidelor și a compușilor fenolici (Dinu și colab. 2011). Benzile de absorbție între 2800-3400  $\text{cm}^{-1}$  corespund vibrației de întindere C-H. Semnalele benzilor de absorbție cuprinse între 1400- 1700  $\text{cm}^{-1}$  pot fi atribuite vibrațiilor nucleului aromatic.

### 7.1.3. Analiza compoziției elementale a criogelurilor

Compoziția elementală a suprafeței criogelurilor încărcate cu polifenoli a permis investigarea mai precisă a compoziției probelor precum și investigarea proprietăților de suprafață ale acestora. Analiza EDX oferă posibilitatea evaluării compoziției elementale la suprafața criogelurilor încărcate cu polifenoli comparativ cu cele obținute în absența acestora. În urma analizei s-a demonstrat încapsularea cu succes a compușilor polifenolici prezenți în extractul din coajă de molid, prin apariția elementelor corespunzătoare sau identificate în compușii naturali de tip polifenol (Tabel 7.2.).

**Tabel 7.2.** Analiza elementală a criogelurilor în funcție de raportul volumic dintre extractul polifenolic și dextranul luat în lucru

Element	PF:Dx = 1:2,5 (v/v)		PF:Dx = 1:2,5 (v/v) Martor		PF:Dx = 1:5 (v/v)		PF:Dx = 1:5 (v/v) Martor	
	Wt%	At%	Wt%	At%	Wt%	At%	Wt%	At%
C	46,88	55,72	48.37	57.27	50.07	58.59	48.16	56.94
N	01,44	01,47	01.49	01.51	01.73	01.73	01.68	01.70
O	39,99	35,69	38.44	34.16	38.73	34.02	38.89	34.52
Na	11,27	7	10.85	06.71	09.02	05.52	10.71	06.62
Mg	0,075	0,045	-	-	00.04	00.02	-	-
P	0,06	0,03	-	-	00.05	00.02	-	-
K	0,065	0,025	-	-	00.08	00.03	-	-
Zn	0,25	0,055	-	-	00.28	00.06	-	-
Cl	-	-	00.86	00.34	-	-	00.55	00.22

### 7.1.4. Determinarea porozității (P%)

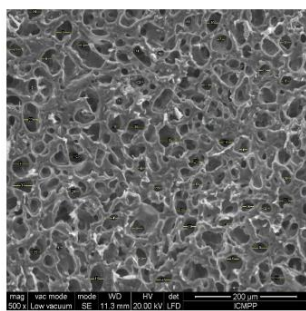
Din rezultatele experimentale se poate observa că nu există o diferență majoră între cele două probe, valorile porozității fiind apropiate. Valorile obținute se corelează cu cele

raportate anterior în literatura de specialitate pentru gelurile obținute prin tehnica îngheț/dezgeț (Dinu și colab., 2011).

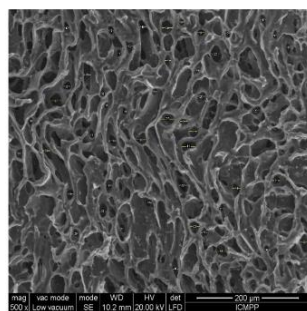
**Tabel 7.3.** Influența volumului de extract polifenolic asupra porozității, P%, criogelurilor

Nr. Crt. Porozitate%	PF:Dx = 1:2,5 (v/v)	Martor PF:Dx = 1:2,5 (v/v)	PF:Dx = 1:5 (v/v)	Martor PF:Dx = 1:5 (v/v)
<b>P<sub>1</sub> %</b>	57.86	48.68	55.8	57.25
<b>P<sub>2</sub> %</b>	56.60	48.05	54.22	55.24
<b>M<sub>a</sub></b>	<b>57.23</b>	<b>48.36</b>	<b>55.01</b>	<b>56.25</b>

### 7.1.5. Structura morfologică a criogelurilor PF :Dx = 1 :5 (v/v) respectiv PF :Dx = 1 :2,5 (v/v)

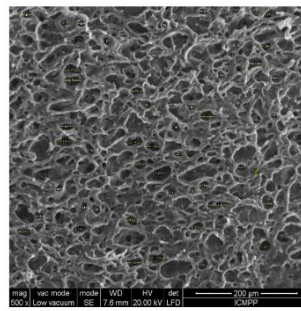


A

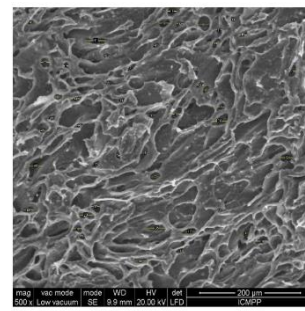


B

**Figura 7.4.** Imagini SEM ale criogelurilor PF: Dx = 1: 2,5 (v/v) (A) respectiv a probei martor (B)



A



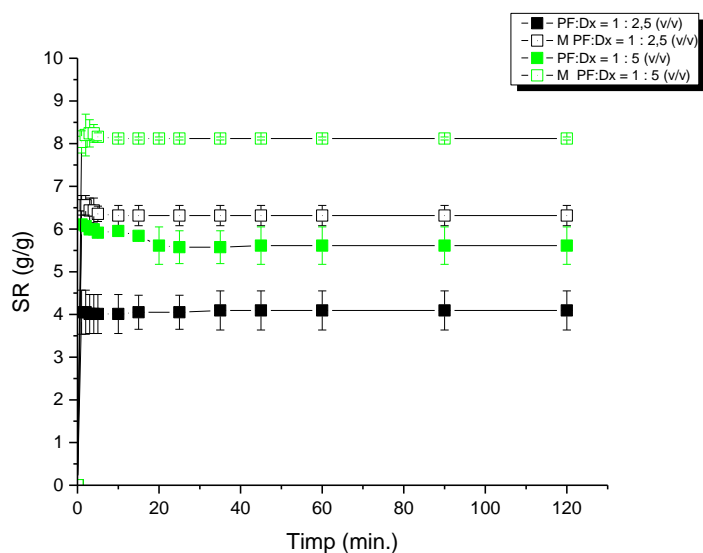
B

**Figura 7.5.** Imagini SEM ale criogelurilor PF: Dx = 1: 5 (v/v) (A) respectiv a probei martor (B)

Analiza SEM a criogelurilor încărcate cu polifenoli cu raportul volumic PF: Dx = 1: 2,5 (v/v) a permis identificarea porilor cu dimensiuni cuprinse între 40 și 100 μm (Figura 7.4. (A)). În cazul probelor obținute în absența extractului polifenolic s-au putut identifica, pori ce prezintă o formă alungită comparativ cu cea sferică în cazul probelor încărcate cu polifenoli (Figura 7.4. (B)), cu dimensiuni cuprinse între 40-700 μm. Analiza SEM a criogelurilor încărcate cu polifenoli cu raportul volumic PF: Dx = 1: 5 (v/v) a permis, de asemenea, identificarea porilor de dimensiuni variate. Astfel, s-au putut identifica ca fiind majoritari porii cu dimensiuni cuprinse între 10 -100 μm pentru probele încărcate cu polifenoli (Figura. 7.5. (A)). Criogelurile obținute în absența extractului polifenolic (Figura 7.5.(B)) a permis identificarea, porilor cu dimensiuni cuprinse între 10-700 μm. Analizele SEM pentru ambele probe indică imobilizarea cu succes a compușilor polifenolici în structura polimerică a dextranului.

### 7.1.6. Gradul de umflare a criogelurilor pe bază de dextran și extractul din coaja de molid

În cazul probei PF :Dx = 1 :5 (v/v) se observă o umflare instantanee, însă aceasta scade în primele 20 minute de la contactul cu apa ultrapură, după care atinge pragul de echilibru. Acest fapt poate fi datorat eliberării anumitor molecule de polifenoli captate slab în structura polimerică a dextranului. Cu toate acestea în cazul probei PF :Dx = 1 :2,5 (v/v), se observă o creștere a gradului de umflare a criogelurilor în primele 35 de minute, de la imersarea acestora în apa ultrapură, după care valorile se păstrează constante. Fenomenul poate fi explicat printr-o captare și reținere mai eficientă a compușilor polifenolici din extractibil în structura dextranului.



**Figura. 7.6.** Gradul de umflare a gelurilor încărcate cu polifenoli raportate la cantitatea de extract polifenolic luat în lucru

### 7.2. Studiu privind influența concentrației dextranului în formarea criogelurilor

Probele utilizate pentru studiul influenței concentrației de dextran în formarea criogelurilor s-au notat astfel: **PF:Dx5%** pentru criogelurile ce conțin dextran în concentrație de 5 %, **PF:Dx10%** pentru criogelurile ce conțin dextran 10% respectiv **PF:Dx20%** pentru probele ce conțin dextran în concentrație de 20%. extractului polifenolic cu apă bidistilată și respectarea aceluiași volum final de reactanți.

### 7.2.1. Randamentul de obținere a criogelurilor pe bază de dextran și extract polifenolic din coaja de molid

**Tabel 7.4.** Randamentul de obținere a criogelurilor pe bază de dextran și extract polifenolic din coaja de molid

Denumire	Probă	Conținut (grame)	W <sub>d</sub> (g)	W <sub>m</sub> (g)	GFY %
EGDGE 50%	<b>PF:Dx 5 %</b>	0.05 g Dx 5% 0.0028 g polifenoli 0.1704 g NaOH 0.0559 g EGDGE 50%	0.2331	0.2791	<b>83.51%</b>
	<b>PF:Dx 5 % Martor</b>	0.05 g Dx 5% 0 g apă 0.1704 g NaOH 0.0559 g EGDGE 50%	0.2296	0.2766	<b>83 %</b>
	<b>PF:Dx 10%</b>	0.1 g Dx 10% 0.0028 g polifenoli 0.1704 g NaOH 0.0559 g EGDGE 50%	0.2892	0.3291	<b>87.87%</b>
	<b>PF:Dx 10% Martor</b>	0.05 g Dx 5% 0 g apă 0.1704 g NaOH 0.0559 g EGDGE 50%	0.2632	0.3263	<b>80.66%</b>
	<b>PF:Dx 20%</b>	1 g Dx 20% 1,4 g polifenoli 0,852 g NaOH 5M 0,2795 g EGDGE 50%	2,0252	3,5315	<b>57,34%</b>
	<b>PF:Dx 20% Martor</b>	1 g Dx 20% 0 g apă 0,852 g NaOH 5M 0,2795 g EGDGE 50%	1,8711	2,1315	<b>87,78%</b>

Rezultatele experimentale prezentate în Tabelul 7.4. relevă un randament mai crescut pentru obținerea criogelurilor ce conțin extract polifenolic și Dx10%, urmată de probele cu un conținut de 5% respectiv 20% dextran. În schimb se poate observa un randament de obținere mai mare în cazul utilizării dextranului în concentrație de 20% pentru probele sintetizate în absența extractului polifenolic. Acest fapt poate indica fie o afinitate mai crescută a compușilor polifenolici față de o concentrație mai scăzută a compusului gazdă, fie incapacitatea dextranului de a capta o cantitate mai mare din compușii de interes, datorată concentrație prea scăzute.

### 7.2.2. Analiza FT-IR a criogelurilor

În urma analizei spectrofotometrice nu s-au observat modificări majore în cazul structurii criogelurilor obținute prin modificarea concentrației dextranului. Diferența dintre acestea fiind

dată doar de intensitatea picurilor, dar nu și de o modificare valabilă a benzilor de absorbție. Acest fapt este perfect normal dată fiind creșterea în concentrație a compusului gazdă, dextran.

### 7.2.3. Determinarea compoziției elementale a criogelurilor

**Tabel 7.5.** Analiza elementală a criogelurilor sintetizate în prezența diferitor concentrații de dextran

	PF:Dx5%		PF:Dx5% Martor		PF:Dx10%		PF:Dx10% Martor		PF:Dx20%		PF:Dx20% Martor	
	Wt%	At%	Wt%	At%	Wt%	At%	Wt%	At%	Wt%	At%	Wt%	At%
<b>C</b>	44.41	60.78	19.83	26.93	21.85	29.60	21.99	29.87	44.48	53.38	47.43	56.30
<b>N</b>	01.55	01.82	03.60	04.20	02.88	03.34	02.94	03.43	01.70	01.75	01.33	01.35
<b>O</b>	18.80	19.32	46.83	47.76	44.65	45.42	43.22	44.09	41.01	36.94	39.29	35.02
<b>Na</b>	06.91	04.94	29.74	21.11	30.42	21.53	31.84	22.60	12.52	07.85	11.55	07.16
<b>Mg</b>	00.05	00.03	-	-	-	-	-	-	00.03	00.02	-	-
<b>P</b>	00.17	00.09	-	-	00.07	00.04	-	-	-	-	-	-
<b>K</b>	00,44	00,18	-	-	00.14	00.06	-	-	00.06	00.02	-	-
<b>Zn</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	00.20	00.04	-	-
<b>Cl</b>	27,67	12,83	-	-	-	-	-	-	-	-	00.40	00,16

Rezultatele experimentale ilustrate în tabelul 7.5, permite identificarea ionilor corespunzători compușilor biologici în concentrații și prezență corespunzătoare fiecărei probe în funcție de afinitatea acestora față de concentrațiile dextranului luate în lucru. Astfel, pentru probele încărcate cu polifenoli ce conțin 5% respectiv 10% dextran s-a identificat în plus prezența ionilor de fosfor, iar în cazul probelor ce conțin dextran 20% se poate observa prezența ionilor de zinc. Acest fapt poate fi explicat printr-o afinitate aparte asupra anumitor clase de compuși polifenolici din extractul cojii de molid față de capacitatea dextranului de a le imobiliza, care la rândul său este influențată de concentrația acestuia.

### 7.2.4. Determinarea porozității (P%)

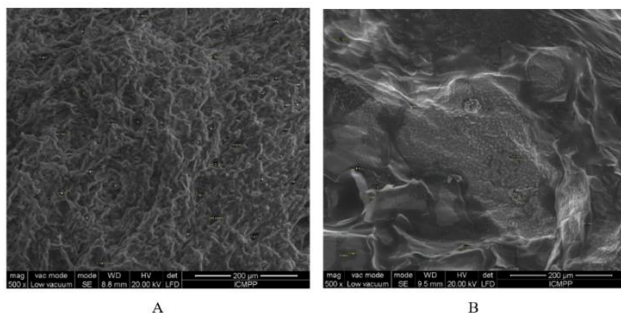
**Tabel 7.6.** Influența concentrației dextranului asupra porozității, P%, criogelurilor

Probă	PF :Dx 5 %	PF :Dx 5% Martor	PF :Dx 10 %	PF :Dx 10 % Martor	PF :Dx 20%	PF :Dx 20% Martor
<b>P<sub>1</sub> %</b>	74.38	80,39	83.98	70.49	95.89	58.57
<b>P<sub>2</sub> %</b>	80.25	77.41	83.06	75.44	96.83	58.92
<b>M<sub>a</sub></b>	<b>77.31</b>	<b>78.9</b>	<b>83.52</b>	<b>72.96</b>	<b>96.36</b>	<b>58.74</b>

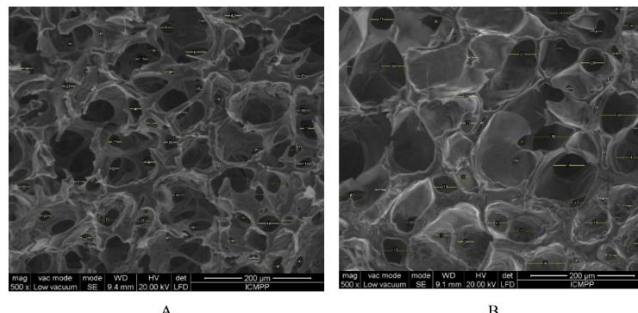


Din rezultatele experimentale se poate observa că nu există o diferență majoră între cele două probe a cărei concentrație a dextranului este de 5% respectiv 10%, valorile porozității fiind apropiate. Cu toate acestea proba PF:Dx20% prezintă o capacitate de reticulare mai eficientă prin tehnica îngheț/dezgeț comparativ cu celelalte două probe.

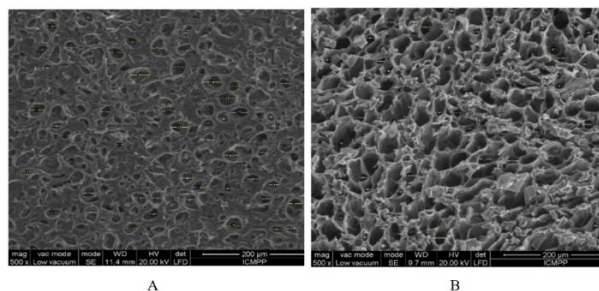
### 7.2.5. Structura morfologică a criogelurilor PF :Dx5%, PF :Dx10%, respectiv PF :Dx20%



**Figura 7.9.** Imagini SEM ale criogelurilor PF:Dx5 % încărcate cu polifenoli (A) respectiv a probei martor (B)



**Figura 7.10.** Imagini SEM ale criogelurilor PF:Dx10 % încărcate cu polifenoli (A) respectiv a probei martor (B)

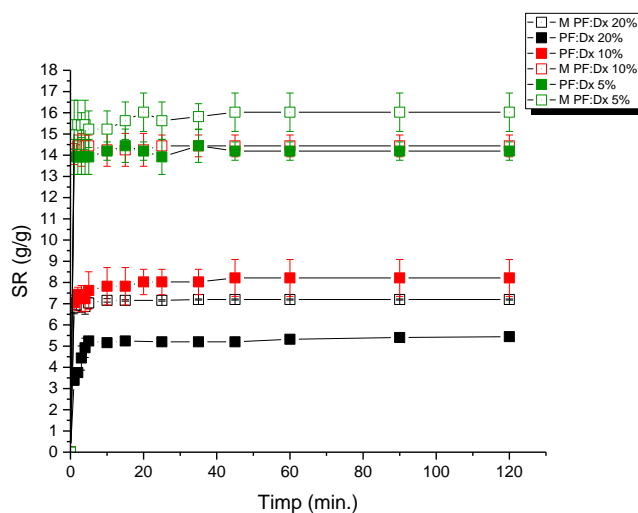


**Figura. 7.11.** Imagini SEM ale criogelurilor PF:Dx20 % încărcate cu polifenoli (A) respectiv a probei martor (B)

Comparând cele trei tipuri de probe sintetizate, putem spune că nu există diferențe majore în ceea ce privește dimensiunea porilor, excepție făcând proba PF:Dx5%, în care imaginile SEM prezintă obținerea unei structuri compacte. Deși dimensiunea porilor este relativ aceeași, majoritari fiind cei cu dimensiuni cuprinse între 40  $\mu\text{m}$  - 70  $\mu\text{m}$  și cu o medie a acestora de aproximativ 50 $\mu\text{m}$ , Proba PF: Dx20% prezintă o structură poroasă mult mai densă comparativ cu PF:Dx10%, ceea ce poate fi datorat unei matrici a dextranului mult mai stabilă o dată cu creșterea concentrației acestuia.

### 7.2.6. Gradul de umflare a criogelurilor obținute prin variația concentrației de dextran

Criogelurile sintetizate în prezența dextranului de concentrație de 5% respectiv 10%, (PF :Dx 5%, PF :Dx10%) ating mai greu pragul de echilibru comparativ cu probele sintetizate în prezența dextranului de concentrație 20 %. Acest fenomen poate fi datorat capacității dextranului, care, în concentrație mai mare, poate forma criogeluri cu proprietăți hidrofilice pronunțate. Utilizarea dextranului în concentrație de 20% conferă o stabilitate și hidrofilitate mai ridicată criogelurilor încărcate cu polifenoli, permițând o reținere mai eficientă a compușilor polifenolici naturali din coaja de molid.



**Figura 7.12.** Influența concentrației de dextran asupra formării criogelurilor încărcate cu polifenoli și a probelor martor

### 7.3. Studiul privind influența volumului de reticulant, EGDGE 50%, în formarea criogelurilor

Pe parcursul sintezei, s-a urmărit influența volumului de reticulant EGDGE 50% asupra morfologiei structurale ale acestora și capacitatea de includere a compușilor polifenolici naturali în lanțurile polimerice ale dextranului. Astfel probele au fost notate cu **PF :EG = 1 :0,25 (v/v)** în cazul criogelurilor ce conțin 0,5 mL EGDGE 50%, **PF :EG = 1 :0,375 (v/v)** pentru probele ce conțin 0,75 mL EGDGE, respectiv cu **PF :EG = 1 :0,5 (v/v)** pentru criogelurile ce conțin 1 mL EGDGE 50%. Și în acest caz probele martor au fost obținute prin înlocuirea extractului polifenolic cu apă bidistilată cu respectarea aceluiași volum final de reactanți.

### 7.3.1. Randamentul de obținere a criogelurilor în funcție de volumul de reticulant EGDGE 50% adăugat și capacitatea de reticulare a acestora

**Tabel 7.7.** Rezultate GFY % pentru criogelurile obținute cu volume diferite de reticulant EGDGE 50%

Reticulant	Probă	Conținut (grame)	W <sub>d</sub> (g)	W <sub>m</sub> (g)	GFY %
EGDGE 50%	<b>PF:EG = 1: 0,375 (v/v)</b>	1 g Dx 20% 1,4 g polifenoli 0,852 g NaOH 5M <b>0,41925 g EGDGE 50%</b>	2,2830	3,67125	<b>62,19%</b>
	<b>PF:EG = 1: 0,375 (v/v) Martor</b>	1 g Dx 20% 0 g apă 0,852 g NaOH 5M 0,41925 g EGDGE 50%	2,1402	2,27125	<b>94,23%</b>
	<b>PF:EG = 1: 0,25 (v/v)</b>	1 g Dx 20% <b>1,4 g</b> polifenoli 0,852 g NaOH 5M <b>0,2795 g EGDGE 50%</b>	2,0252	3,5315	<b>57,34%</b>
	<b>PF:EG = 1: 0,25 (v/v) Martor</b>	1 g Dx 20% <b>0 g</b> apă 0,852 g NaOH 5M <b>0,2795 g EGDGE 50%</b>	1,8711	2,1315	<b>87,78%</b>
	<b>PF:EG = 1: 0,5 (v/v)</b>	1 g Dx 20% <b>1,4 g</b> polifenoli 0,852 g NaOH 5M <b>0,559 g EGDGE 50%</b>	2,6532	3,811	<b>69,62%</b>
	<b>PF:EG = 1: 0,5 (v/v) Martor</b>	1 g Dx 20% <b>0 g</b> apă 0,852 g NaOH 5M <b>0,559 g EGDGE 50%</b>	2,4395	2,411	<b>91,1%</b>

Diferențele foarte mici dintre cele trei modalități de reticulare nu pot concluziona eficiența adevărată a gradului de reticulare fără alte analize prealabile, însă rezultatele randamentului de obținere sunt în concordanță cu datele din literatura de specialitate ce vizează obținerea acestor tipuri de compuși (Dinu și colab., 2011).

### 7.3.2. Analiza FT-IR a criogelurilor

Analiza prin spectrofotometrie FT-IR a fost aleasă ca o metodă adițională de caracterizare a criogelurilor pe bază de dextran și încărcate cu extractibil din coaja de molid. Această analiză oferă certitudinea unei structuri compoziționale complexe, cu un conținut însemnat de grupări aromatice atribuite compușilor polifenolici și lanțurilor polimerice corespunzătoare dextranului. Analiza spectrofotometrică nu a relevat modificări majore în cazul structurii criogelurilor obținute prin modificarea volumului de reticulant EGDGE 50% și raportat

la extractul polifenolic din coaja de molid. Diferența dintre acestea fiind dată doar de intensitatea picurilor, dar nu și de o modificare valabilă a benzilor de absorbție.

### 7.3.3. Determinarea compoziției elementale a criogelurilor

Compoziția elementală a suprafeței criogelurilor sintetizate cu volume diferite de reticulant EGDGE 50% a permis investigarea mai amănunțită a compoziției acestora prin investigarea proprietăților de suprafață. Și de această dată se poate observa încapsularea cu succes a compușilor polifenolici prezenți în extractul cojii de molid în toate cele 3 cazuri a variației volumului de reticulant adăugat, fapt dovedit prin apariția ionilor metalici corespunzători compușilor chimici naturali. Astfel încât în cazul probelor PF:EG = 1 : 0,25 (v/v) și PF:EG = 1 : 0,5 (v/v) s-a identificat în plus prezența ionilor de magneziu și zinc, iar în cazul probei PF:EG = 1 : 0,375 (v/v) se poate observa prezența unei cantități mai mari de oxigen și sodiu în structura criogelului. Acest fapt poate fi explicat printr-o încapsulare a anumitor clase de compuși polifenolici din extractul cojii de molid la structura dextranului în funcție de volumul de reticulant EGDGE 50% adăugat.

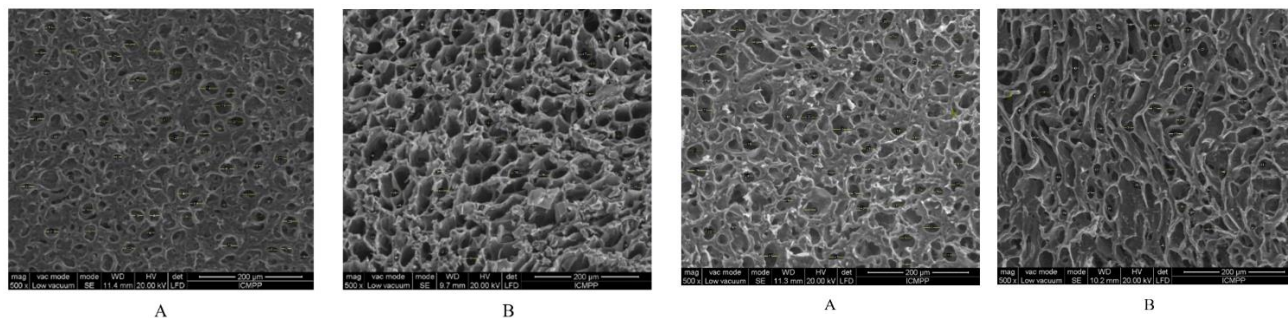
### 7.3.4. Determinarea porozității (P%)

**Tabel 7.9.** Influența raportului volumic PF: EG asupra porozității, P%, criogelurilor

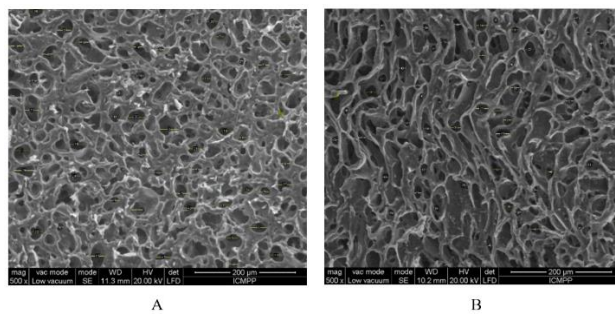
Probă	PF: EG = 1: 0.25 (v/v)	PF:EG = 1:0.25 (v/v) Martor	PF:EG = 1: 0.375 (v/v)	PF: EG = 1: 0.375 (v/v) Martor	PF: EG = 1: 0.5 (v/v)	PF: EG = 1: 0.5 (v/v) Martor
<b>P<sub>1</sub> %</b>	95.89	58.57	57.86	48.68	94.28	55.95
<b>P<sub>2</sub> %</b>	96.83	58.92	56.60	48.05	94.21	52.60
<b>M<sub>a</sub></b>	<b>96.36</b>	<b>58.74</b>	<b>57.23</b>	<b>48.36</b>	<b>94.24</b>	<b>54.27</b>

Rezultatele experimentale ilustrate în tabelul Tabelul 7.9. indică o reticulare bună a compușilor polifenolici la structura polimerică a dextranului după efectuarea ciclurilor de îngheț/dezgheț, în toate cele trei cazuri ale rapoartelor volumice PF: EG aplicate. Se poate observa că nu există o diferență majoră între cele două probe PF: EG= 1:0,25 (v/v) și PF: EG= 1:0,5 (v/v) valorile porozității fiind apropiate, fiind în acord cu analiza SEM prezentată anterior. Valorile obținute corelează cu cele raportate anterior în literatura pentru gelurile obținute prin tehnica îngheț/dezgheț (Dinu et al. 2011).

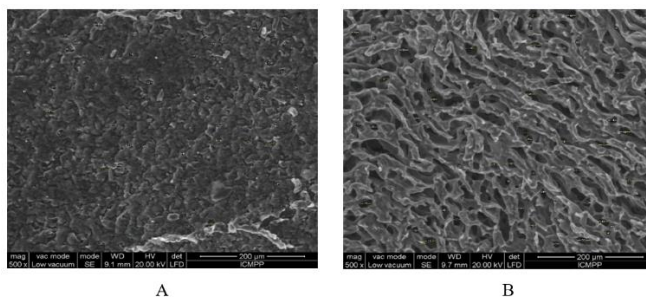
### 7.3.5. Structura morfologică a criogelurilor PF:EG = 1: 0,25 (v/v), PF:EG = 1: 0,375 (v/v) respectiv PF:EG = 1: 0,5 (v/v)



**Figura 7.15.** Imagini SEM ale criogelurilor PF:EG = 1: 0,25 (v/v) încărcate cu polifenoli (A) respectiv a probei martor (B)



**Figura 7.16.** Imaginile SEM ale criogelurilor PF:EG = 1: 0,375 (v/v) încărcate cu polifenoli (A) respectiv a probei martor (B)



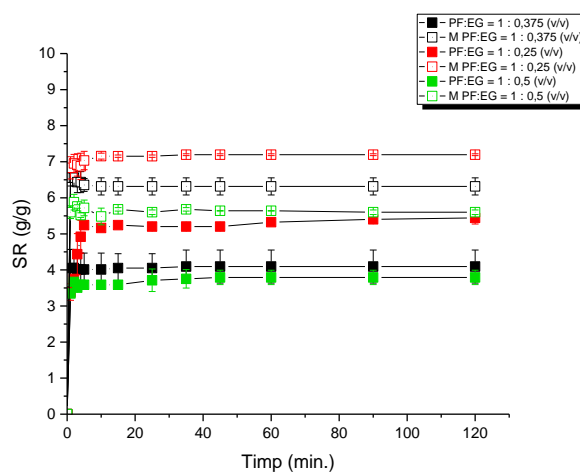
**Figura 7.17.** Imagini SEM ale criogelurilor PF:EG = 1: 0,5 (v/v) încărcate cu polifenoli (A) respectiv a probei martor (B)

Imaginile SEM prezentate în figura 7.15 corespund probelor ce conțin raportul volumic PF: EG= 1:0,25 (v/v) atât pentru cele sintetizate în prezența extractului polifenolic, cât și pentru cele martor. Se observă o structură poroasă bine definită în cazul probei martor, în schimb cea încărcată cu polifenoli prezintă o matrice poroasă compactă, ceea ce poate indica o conglomerare a compușilor polifenolici la structura dextranului. Analiza SEM a permis identificarea porilor cu dimensiuni cuprinse între 10  $\mu\text{m}$  - 100 $\mu\text{m}$ , cu o medie de 56  $\mu\text{m}$  (Figura 7.15 (A)). În cazul probei martor s-au identificat pori cu dimensiunii cuprinse între 10  $\mu\text{m}$  - 70  $\mu\text{m}$ , cu o medie de 53  $\mu\text{m}$  (Figura 7.15 (B)).

Imaginile SEM din figura 7.16 prezintă structura poroasă a criogelurilor PF:EG = 1: 0,375 (v/v). Analiza SEM a criogelurilor încărcate cu polifenoli cu raportul volumic PF:EG = 1: 0,375 (v/v) a permis identificarea porilor de dimensiuni variate cuprinse între 40 și 100  $\mu\text{m}$ , iar în cazul probelor obținute în absența extractului polifenolic s-au identificat pori cu dimensiuni cuprinse între 70 - >100  $\mu\text{m}$ .

Imaginile SEM ilustrate în figura 7.17. prezintă o structură internă compactă a criogelurilor încărcate cu extract polifenolic din coaja de molid neputând face posibilă identificarea corespunzătoare a dimensiunilor porilor. Cu toate acestea s-a reușit identificarea prezenței unor structuri poroase cu dimensiuni de până la 70  $\mu\text{m}$ . În cazul probei martor se poate observa o structură poroasă clară, cu o geometrie alungită a acestora și dimensiuni medii cuprinse între 40  $\mu\text{m}$  - 100  $\mu\text{m}$ .

### 7.3.6. Gradul de umflare a criogelurilor sintetizate prin variația raportului volumic PF :EG



**Figura 7.18.** Gradul de umflare a gelurilor încărcate cu polifenoli în funcție de cantitatea de reticulant EDGDE 50% luat în lucru

În toate cele trei cazuri se observă o comportare a gradului de umflare asemănătoare cu atingerea pragului de echilibru în primele 20 minute pentru probele PF:EG = 1 : 0,25 (v/v), PF:EG respectiv PF:EG = 1 : 0,5 (v/v) și în primele 5 minute pentru proba PF:EG = 1 : 0,375 (v/v). În cazul probei PF:EG = 1 : 0,25 (v/v) se observă un ușor retard în capacitatea de umflare a criogelurilor comparativ cu celelalte două probe. Comparând cele trei tipuri de probe, pe baza rezultatelor gradului de umflare a acestora, putem afirma că criogelurile ce conțin raportul volumic PF :EG = 1 : 0,375 (v/v) sunt de preferat pentru a fi utilizate pentru experimentele viitoare, având proprietatea de a reticula mai eficient compușii polifenolici din coaja de molid.

Ținând cont de studiile efectuate în cadrul acestui capitol se poate afirma că cantitățile ideale pentru sinteza criogelurilor 2 mL extract polifenolic, 5 mL Dextran 20% și 1 mL EGDE 50%.

## CAPITOLUL 8. APLICAȚII ALE CRIOGELURILOR ÎNCĂRCATE CU EXTRACT POLIFENOLIC DIN COAJA DE MOLID ÎN SISTEME BIOLOGICE ȘI DE MEDIU

Literatura de specialitate oferă informații legate de activitatea și aplicațiile nanoparticulelor în sisteme biologice sau de mediu. Pentru a contribui cu informații noi la studiile actuale, s-a ales propunerea unor aplicații pentru criogelurile încărcate cu extract polifenolic din coaja de molid. Astfel, pentru a evalua potențialele aplicații biologice și de mediu ale criogelurilor încărcate cu extract polifenolic s-au luat în lucru trei probe, astfel:

- proba martor (DxPF0) ce nu conține extract polifenolic;
- DxPF1 ce conține 0,7 g extract polifenolic concentrat (CTP= 42,41 mg GAE/g coajă)
- DxPF2 ce conține 1,4 g extract polifenolic concentrat/uscat (CTP = 42,41 mg GAE/g coajă).

### 8.1. Aplicații în sisteme biologice

#### 8.1.1. Utilizarea criogelurilor în sisteme biologice ca agenți antibacterieni

Activitatea antibacteriană a probelor de criogel și a extractului polifenolic brut a fost evaluată împotriva tulpinilor Gram-pozitive și Gram-negative (Gram-pozitiv *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) și Gram-negative *Escherichia coli* (ATCC 25922) și *Salmonella typhymurium*) prin determinarea numărului de celule bacteriene viabile utilizând metoda numărării pe plăci. Studiul s-a realizat pe plăci Petri sterile, ce au fost inoculate cu 1 mL din fiecare diluție bacteriană și menținute la temperatura camerei, aproximativ 25 °C, timp de 24 de ore permițând bacteriilor să formeze colonii vizibile.

**Tabel 8.1.** Inhibarea creșterii bacteriene de către criogelurile pe bază de dextran și extract polifenolic

Microorganism		Inhibarea creșterii bacteriene (%)			
		DxPF0	DxPF1	DxPF2	PF
Gram(+)	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	51	100	100	100
Gram(-)	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	27	100	100	100
Gram(-)	<i>Salmonella typhymurium</i> ATCC14028	67	100	100	100

Atât probele de criogel care conțin extract polifenolic din coaja de molid, precum și extractul în sine, au demonstrat o activitate remarcabilă, inhibând complet creșterea bacteriană

(100%) atât pentru tulpinile Gram-pozitive, cât și pentru cele Gram-negative. Acestea s-au dovedit a fi mai eficiente în inhibarea creșterii coloniilor bacteriene comparativ cu criogelurile pe bază de dextran fără extract.

### 8.1.2. Utilizarea criogelurilor în sisteme biologice ca agenți antioxidanți

Activitatea antioxidantă a probelor de criogel pe bază de dextran și extract polifenolic a fost evaluată utilizând testul de captare a radicalilor liberi DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil). Acest test este bine cunoscut pentru măsurarea capacității antioxidanților de a neutraliza radicalii liberi, care sunt molecule reactive implicate în procesele de oxidare celulară.

**Tabel 8.2.** Activitatea de captare a radicalilor DPPH al extractului polifenolic și al criogelurilor

Probă	DPPH radical inhibitor (%)	IC <sub>50</sub> (mg/mL)
DxPF0	0	-
DxPF1	30,37±0,11	-
DxPF2	<b>42,19±0,29</b>	-
PF 3.33 mg/mL	78,17±0,19	1,76±0,05
PF 1.66 mg/mL	54,12±0,12	
PF 0.83 mg/mL	17,11±0,11	

Proba martor de criogel (fără extract polifenolic) nu a prezentat activitate antioxidantă. Criogelurile pe bază de dextran și extract polifenolic au arătat proprietăți moderate de captare a radicalilor liberi; cea mai mare activitate antioxidantă a fost observată pentru proba care conține cea mai mare concentrație de extract (DxPF2) (Tabelul 8.2). În schimb, extractul polifenolic din coaja de molid a prezentat o capacitate bună de captare a radicalilor DPPH (peste 70% inhibare a radicalului DPPH la 3,33 mg/mL).

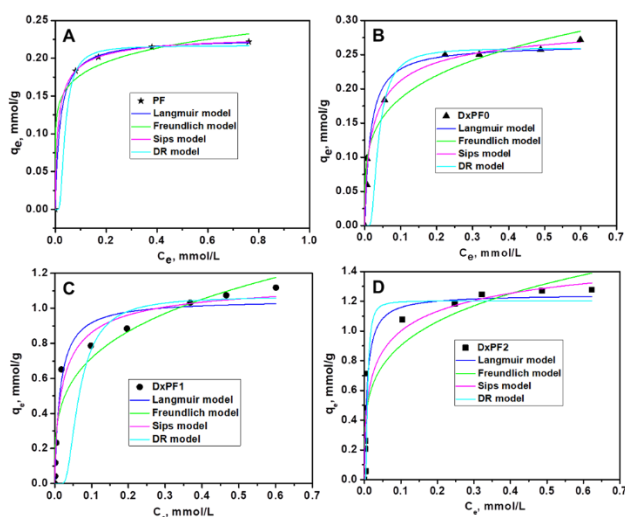
## 8.2. Aplicații în sisteme de mediu

### 8.2.1. Utilizarea criogelurilor pe bază de extract polifenolic ca adsorbanti pentru îndepărtarea unor coloranți

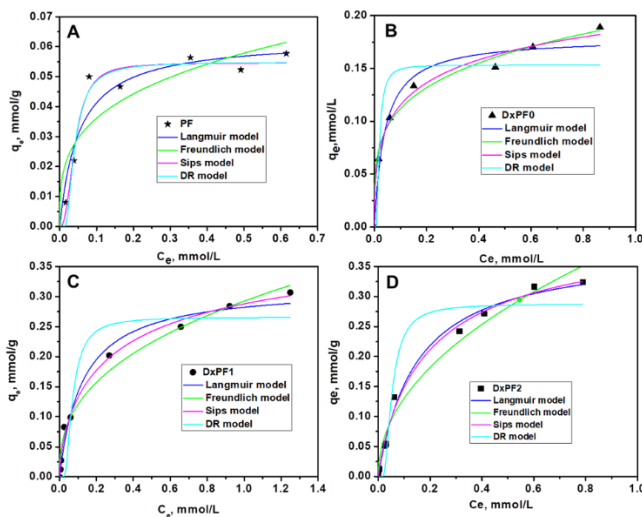
Testele efectuate în cadrul acestui studiu oferă informații despre capacitatea de adsorbție a criogelurilor încărcate cu extract polifenolic. Pentru a înțelege procesul de sorbție și capacitatea de reținere a coloranților de tip albastru de metil (MB) și cristal violet (CV) s-au efectuat studii cinetice pentru fiecare colorant în parte. Izotermele de adsorbție prezintă relația între cantitatea de colorant adsorbită pe unitatea de masă a sorbentului și concentrația colorantului în soluție la echilibru, la o temperatură constantă. Acestea sunt esențiale pentru a



înțelege mecanismele de sorbție și pentru a determina capacitatea maximă de sorbție a sorbenților. Caracterul izotermelor de adsorbție a colorantului de către criogeluri a fost determinat din valorile de echilibru  $q_e$  și  $C_e$  la diferite concentrații ale coloranților. Capacitatea de sorbție la echilibru a fost investigată pentru a identifica sorbenții cu cele mai bune performanțe în îndepărtarea coloranților CV și MB.



**Figura 8.7.** Rezultatele experimentale pentru izotermele de sorbție a CV pe sorbenții PF (A), DxPF0 (B), DxPF1 (C) și DxPF2 (D) și modelele de izoterme obținute prin ajustarea neliniară a izotermelor Langmuir, Freundlich, Sips și D-R



**Figura 8.8.** Rezultatele experimentale pentru izotermele de sorbție a MB pe sorbenții PF (A), DxPF0 (B), DxPF1 (C) și DxPF2 (D) și modelele de izoterme obținute prin ajustarea neliniară a izotermelor Langmuir, Freundlich, Sips și D-R

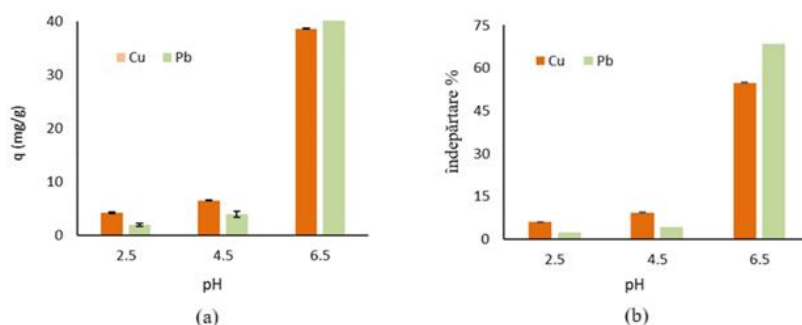
Datele experimentale și ajustarea celor patru modele de izoterme (Langmuir, Freundlich, Sips și Dubinin-Radushkevich - D-R) sunt prezentate în Figurile 8.7A-D și 8.8. A-D. Modelul Sips descrie cel mai bine procesul de sorbție pentru ambii coloranți.

Capacitățile experimentale de sorbție au fost: 0,2217 mmol/g pentru extractul de polifenoli, 0,2716 mmol/g pentru criogelul DxPF0, 1,1180 mmol/g pentru criogelul DxPF1 și 1,2779 mmol/g pentru criogelul DxPF2. Cantitatea de MB adsorbită la echilibru pe criogelurile DxPF2, DxPF1, DxPF0 și pe extractul de polifenoli a fost mult mai mică comparativ cu cea obținută în cazul colorantului CV.

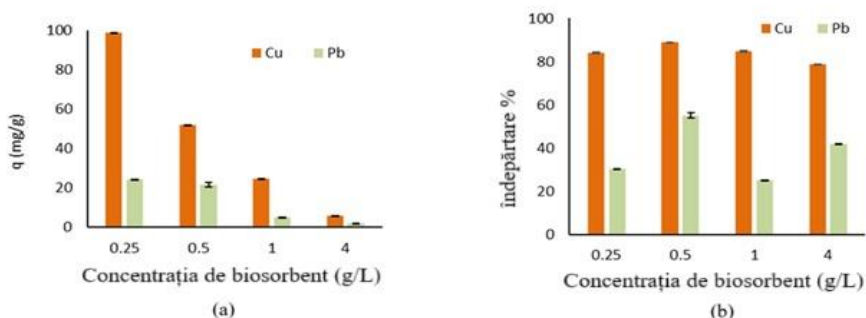
Criogelurile pe bază de dextran și extract polifenolic au demonstrat capacități maxime de sorbție, superioare altor biosorbenți pentru coloranții CV și MB, conform cercetărilor actuale. Acest lucru indică faptul că aceste criogelurii ar putea fi biosorbenți promițători pentru

îndepărtarea eficientă a moleculelor de colorant, în special a celor cationic, din apele uzate, oferind o soluție eficientă și ecologică pentru tratarea apelor uzate contaminate cu coloranți.

### 8.2.2. Utilizarea criogelurilor ca biosorbenți pentru decontaminarea apelor poluate cu ioni de metale grele



**Figura 8.8.** Capacitatea maximă de adsorbție a ionilor de Cu(II) și Pb(II) în funcție de pH (a) și eficiența de îndepărtare a acestora de către criogelul încărcat cu extract polifenolic din deșeu de biomasă (b)



**Figura 8.9.** Cantitatea de poluant adsorbită pe suprafața biosorbentului (a) și eficiența de îndepărtare a ionilor metalici (b) la contactul cu diferite concentrații de criogel încărcat cu extract polifenolic din deșeu de biomasă

În acest sens, s-a efectuat un studiu preliminar pentru a evalua capacitatea de adsorbție de către criogelurile încărcate cu extract polifenolic din coaja de molid a ionilor metalici Cu(II) și Pb(II). Studiul preliminar s-a realizat prin dozarea concentrației de adsorbant și s-a urmărit influența pH-ului soluțiilor de ioni metalici asupra capacității de sorbție a criogelului. Experimentele au fost realizate în regim staționar și tehnica de analiză utilizată pentru determinarea concentrației de plumb și cupru din soluția inițială, cât și din supernatant după timpul de contact cu biosorbentul, a fost Spectrometria de Absorbție Atomică în flacără (AAS).

### **Influența pH-ului**

Pentru a analiza influența pH-ului asupra capacității de sorbție a criogelurilor, s-au preparat soluții de Cu(II) cu o concentrație de 30 ppm și Pb(II) cu o concentrație de 20 ppm care s-au pus în contact cu 0,25g/L sorbent și s-au lăsat timp de 4 ore sub agitare continuă la 125 rpm. La finalul reacției, soluțiile au fost filtrate și s-au supus analizei prin AAS. Rezultatele experimentale sunt ilustrate în figura 8.8. În cazul soluțiilor metalice de Pb(II) s-a reușit reținerea a 1,99 mg/g (Figura 8.8.a) reprezentând 2,33% din cantitatea maximă pentru pH-ul de 2,5, respectiv 3,99 mg/g echivalentul a 4,05% pentru soluția cu pH 4,5. Pentru soluția cu pH=6,5 rezultatele au arătat o capacitate de adsorbție de 66,68 mg/g ioni de Pb(II) pe suprafața biosorbentului, reprezentând 68,49% din cantitatea maximă ce putea fi adsorbită de către criogelul încărcat cu extract polifenolic din deșeu de biomasă. În urma rezultatelor se poate observa că criogelul încărcat cu extract polifenolic din deșeu de biomasă prezintă activitate adsorbantă în cazul ambelor tipuri de metal, eventual cu o afinitate ușor mai ridicată pentru ionii de Pb(II) în cazul pH-ului de 6,5.

### **Studiul de dozare a biosorbentului**

Rezultatele experimentale obținute arată că o concentrație mai mică de biosorbent (0,25 g/L) duce la reținerea unei cantități mai mari de poluant (98,75 mg/g Cu(II) respectiv 24,13 mg/g Pb(II)) pe suprafața acestuia comparativ cu o concentrație mai crescută de biosorbent. În cazul soluțiilor ce conțin 0,5 g/L biosorbent se observă o creștere privind eficiența de îndepărtare a ionilor de Cu(II) și Pb(II) de până la 88,86% respectiv 55,07% (figura 8.9.b), însă datorită suprasaturației cu biosorbant are loc inhibarea procesului de adsorbție a ionilor ducând la o scădere a cantității de metal adsorbit (Figura 8.9.a).

Prin urmare, biosorbentul a prezentat bune capacități de adsorbție și a ionilor metalici Cu(II) și Pb(II). Rezultatele sunt promițătoare și confirmă datele ilustrate în studiile de adsorbție a ionilor metalici de către alte materiale adsorbante. Însă pentru a definitiva studiul, este necesară continuarea investigației pentru a determina cinetica și izoterma de adsorbție.

## CONCLUZII GENERALE

- Studiile efectuate în cadrul acestei teze de doctorat, s-au axat pe obținerea extractibilelor din coaja de molid și utilizarea acestora prin mai multe variante de formulare. S-a reușit astfel proiectarea mai multor bioproduse cu aplicabilitate în sisteme biologice și de mediu;
- Ca sursă de biomasă a fost utilizată coaja de molid ce reprezintă un deșeu generat de industria de prelucrare a lemnului. Materia primă este caracterizată de un conținut de umiditate de 9,73% și cenușă de 3,62%, iar componenții principali sunt prezenți în următoarele procente: lignina 36,15%, celuloză 28,72% și hemiceluloze 14,08%;
- Pentru obținerea extractibilelor s-a optat pentru o metodă de extracție neconvențională și anume cea asistată de ultrasunete generate de o sondă de ultrasonare. Stadiul actual a demonstrat că această variantă este mai eficientă din punct de vedere al conținutului total de polifenoli, dar și a timpului de extracție (10 minute față de 45 minute în cazul băii de ultrasonare)
- Influența parametrilor de proces a fost studiată prin realizarea unui plan experimental factorial complet de tipul  $3^3=27$  experimente, în care temperatura, timpul și amplitudinea sondei au fost considerați parametri independenți, iar conținutul total de polifenoli parametrul dependent. În urma analizelor s-au determinat condițiile optime de obținere a extractului polifenolic din coaja de molid prin intermediul sondei sunt la temperatura = 40 °C, amplitudinea = 30 % și timpul = 10 min, concentrația fiind 42,41 mgGAE/g coajă de molid;
- Analiza HPLC a extractului polifenolic obținut demonstrează separarea compușilor de tip acid siringic și respectiv ferulic în cantități mari, dar și a catehinei și a acizilor galic, vanilic și p-cumaric;
- Studiul privind proprietățile biologice ale extractului polifenolic a permis analiza capacității antioxidante și anticancerigene. Rezultatele experimentale au arătat o interacțiune clară cu moleculele de ADN, ceea ce indică o capacitate anticancerigenă semnificativă a compușilor naturali din extract;
- Rezultatele studiului privind capacitatea antioxidantă au indicat o scădere a potențialului radicalului superoxid odată cu creșterea concentrației de extract polifenolic din sistem, ceea ce indică un comportament antioxidant promițător;
- Pentru creșterea randamentului de extracție a compușilor polifenolici dar și creșterea stabilității la factorii oxidativi, s-a studiat extracția asistată de ultrasunete în prezența  $\beta$ -ciclodextrinei (pe baie de ultrasunete). Rezultatele experimentale obținute nu au fost notabile,

deoarece compusul de încapsulare se degradează în prezența ultrasunetelor pentru parametrii de proces;

- Pentru a valorifica extractul polifenolic din coaja de molid obținut prin extracția asistată de ultrasunete generate de sonda de ultrasonare, s-a studiat posibilitatea de formulare a acestora sub formă de combinații complexe, nanoparticule, fibre, dar și de imobilizare în criogeluri polimerice naturale pe bază de dextran;

- Studiile realizate au arătat că pentru obținerea combinațiilor complexe cu stabilitate mai ridicată este de preferat utilizarea ca mediu de reacție a etanolului 70%, iar pentru sinteza mai rapidă a nanoparticulelor este de preferat utilizarea acetatului de sodiu 20mM. Datele obținute au evidențiat de asemenea formarea nanoparticulelor cu dimensiuni cuprinse între 50 și 500 nm și un diametru de 100 nm;

- Biosinteza nanoparticulelor pe bază de extractibile din coajă de molid s-a realizat prin coprecipitarea sării de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  și  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . În cazul ionilor de  $\text{Cu(II)}$ , rezultatele experimentale au indicat că la temperatura camerei nu are loc formarea nanoparticulelor și că prezența luminii nu influențează procesul de obținere a acestora. Curbele de distribuție dimensională au indicat prezența nanoparticulelor de dimensiuni cuprinse între 50-70 nm ca având un aspect unimodal în primele 20 min de reacție pentru probele supuse agitării magnetice și prezența nanoparticulelor cu dimensiuni cuprinse între 50-500 nm și cu un diametru mediu de 151 nm pentru probele obținute în absența agitării magnetice. Biosinteza nanoparticulelor de  $\text{Fe(III)}$  a avut loc la temperatura camerei, iar formarea lor are loc instantaneu. Experimentele au avut loc în mediu apos și etanolic; în cazul extractului apos s-a observat obținerea nanoparticulelor cu diametrul mediu de 71 nm pentru raportul 2:1 și nanoparticule cu diametrul mediu de 110 nm pentru raportul 10:1. În cazul extractului cu etanol: apă 70% (v/v) s-a observat obținerea nanoparticulelor cu diametrul mediu de 145 nm pentru raportul 2:1 și nanoparticule cu diametrul mediu de 185 nm pentru raportul 1:1;

- Testele preliminare privind incluziunea, prin electrospining a compușilor polifenolici în fibre de  $\beta$ -ciclodextrină modificată cu lactidă s-au cuantificat prin intermediul analizei SEM. Imaginile SEM au indicat obținerea cu succes a nanofibrelor. Extractul polifenolic a fost înglobat cu succes în moleculele de  $\beta$ -CDLA, fibrele rezultate având dimensiuni mai mari, comparativ cu  $\beta$ -CDLA fără extract de 400 nm;

- Pentru obținerea condițiilor optime de sinteză a criogelurilor, cu proprietăți bioactive, s-a investigat în mod sistematic gradul de reticulare, raportul dintre reactanți și concentrația

dextranului. Etilenglicol diglicidileterul (EGDGE) s-a folosit drept reticulant având rol de agent stabilizator în timpul procesului de gelifiere. S-a realizat un număr de 3 cicluri îngheț/dezgheț, folosind o temperatură de îngheț de -18 °C, un timp de îngheț de 24h, o temperatură de dezgheț de 22 °C și un timp de dezgheț de 2h pentru a obține filme de criogel stabile.

- În funcție de rapoartele volumice utilizate (PF :Dx, PF :EG) și de concentrația dextranului s-a reușit obținerea criogelurilor cu structuri poroase de dimensiuni relativ mici, cu o medie de 55 μm. Criogelurile astfel sintetizate prezintă proprietăți chimice foarte bune, cu o viteză a gradului de umflare și porozitate foarte ridicate. Analizele FTIR și EDX au demonstrat includerea cu succes a extractului polifenolic din coaja de molid în structura polimerică a dextranului. În urma experimentelor se poate concluziona că utilizarea unui raport volumic PF :Dx = 1 :2,5 (v/v) respectiv PF :EG = 1 :0,375 (v/v) și o concentrație a dextranului de 20% sunt de preferat în obținerea acestui tip de compuși.

- Analiza proprietăților biologice ale criogelurilor obținute a demonstrat o capacitate antimicrobiană ridicată, inhibând complet creșterea bacteriană (100%) atât pentru tulpinile Gram- pozitive, cât și pentru cele Gram-negative.

- Comparativ cu extractul polifenolic ca atare cu o capacitate de peste 70% de inhibare a radicalului DPPH la 3,33 mg/mL, criogelurile pe bază de dextran și extract au arătat proprietăți antioxidante moderate, cel mai ridicat fiind în cazul criogelurilor cu un conținut mai ridicat de polifenoli.

- Criogelurile cu polifenoli au prezentat proprietăți foarte bune de adsorbție a unor coloranți toxici (albastru de metilen și violet cristal). Criogelurile au prezentat capacități superioare de sorbție, indicând faptul că aceste criogeluri ar putea fi sorbenți promițători pentru îndepărtarea eficientă a moleculelor de colorant din apele uzate.

- Rezultate promițătoare s-au obținut și în cazul testelor de sorbție a ionilor unor metale grele din apele uzate. Astfel, criogelurile pe bază de dextran și încărcate cu extract polifenolic din coaja de molid au dovedit bune capacități de absorbție la pH de 6,5, utilizând cantități mici de sorbent de 0,25 mg.

- Prin urmare, rezultate obținute în cadrul studiilor de doctorat, prezintă o contribuție semnificativă în ceea ce privește valorificarea deșeurilor rezultate în urma prelucrării lemnului, prin obținerea de bioproduse cu potențiale aplicații în sistemele biologice și de mediu. Toate obiectivele studiului au fost îndeplinite.

## ACTIVITATE ȘTIINȚIFICĂ

### **Lucrări științifice publicate și în curs de publicare în reviste cotate ISI:**

- Maria Marinela Lazar, **Roxana Petronela Damaschin**, Irina Volf, Maria Valentina Dinu, Deep cleaning of crystal violet and methylene blue dyes from aqueous solution by dextran-based cryogel adsorbents, *Gels*, 10, 546, 2024. **(Q1, IF: 5,0)**;
- **Roxana Petronela Damaschin**, Maria Marinela Lazar, Caludiu-Augustin Ghiorghita, Ana Clara Aprotosoiaie, Irina Volf, Maria Valentina Dinu, Stabilization of *Picea abies* speruce bark extracts within ice-templated porous dextran hydrogels, *Polymers*, manuscript ID: polymers-3195704 **(Q1, IF: 4,7)**.

### **Articole publicate în reviste indexate în baze de date internaționale (BDI):**

- **Roxana-Petronela Damaschin**, Valentin I. Popa, Irina Volf, A Suitable Method For Polyphenols Complexes With Copper, *Buletinul Institutului Politehnic din Iași, Secția Chimie și Inginerie Chimică*, 64 (68), 3, 2018.

### **Participări la conferințe:**

- **Roxana-Petronela Damaschin**, Cătălina Anișoara Peptu, Mirela Goanță, Valentin I. Popa, Irina Volf, A suitable method for copper complexes with flavonoids, *TU Iasi Doctoral School Conference*, 23-24 mai, Iași, (<http://www.csd.tuiasi.ro/>) (comunicare)
- **Roxana-Petronela Damaschin**, Valentin I. Popa, Irina Volf, Studies on some polyphenols complexes and nanoparticles with copper(II). 4th International Conference on Chemical Engineering (ICCE 2018), Innovative materials and processes for a sustainable development Oct. 30 – Nov.2, Iași, Romania (<http://www.ch.tuiasi.ro/ICCE2018/index.html>). (poster);
- **Roxana-Petronela Damaschin**, Constantin Carausu, Catalina Peptu, Irina Volf, Central composite experimental design for ultrasound assisted extraction of polyphenols from *Picea abies* bark wastes. 10th International Conference on Environmental Engineering and Management (ICEEM 10) September 17-20, ([www.iceem.ro](http://www.iceem.ro)). (poster);
- Maria Marinela Lazar, **Roxana Petronela Damaschin**, Irina Volf, Claudiu Augustin Ghiorghita, Ana Clara Aprotosoiaie, Maria Valentina Dinu, Development of antioxidant and antimicrobial bioactive porous hydrogels based on renewable resources. *Congresul International Conference „Prepare the future by promoting excellence” XXXIV edition*, 29 feb.- 3 mar 2024, Iași, România (poster).

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- Farhan M., Rehman A.A., Ahmad A., Hadi S.M., Flavonoids-Induced Redox Cycling of Copper Ions Leads to Generation of Reactive Oxygen Species: A Potential Role in Cancer Chemoprevention, *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 569-578 (2018).
- Bejenari I, Hristea G., Cărașu C., Mija A., Volf I., A Sustainable Approach on Spruce Bark Waste Valorization through Hydrothermal Conversion, *Processes*, 10(1), 111, (2022)
- Belkassa, K., Khelifa, M., Batonneau-Gener, I., Marouf-Khelifa, K., Khelifa, A., Understanding of the mechanism of crystal violet adsorption on modified halloysite: Hydrophobicity, performance, and interaction, *J. Hazard. Mater.*, 415, 125656, (2021)
- Bera S.R., Saha S., Biosynthesis and characterization of *Thevetia peruviana* leaf extract capped CdTe nanoparticles in photoconductive and photovoltaic applications, *Materials Today: Proceedings*, 5, 3476–3485, (2018)
- Cannavacciuolo C., Pagliari S., Celano R., Campone L., Rastrelli L., Critical analysis of green extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, and optimization strategies-A review, *TrAC Trends in Analytical Chemistry Volume 173*, (2024)
- Carbone K., Macchioni V., Petrella G., Cicero D.O., Exploring the potential of microwaves and ultrasounds in the green extraction of bioactive compounds from *Humulus lupulus* for the food and pharmaceutical industry *Ind Crop Prod*, 156 (2020)
- Chatterjee N.S., Sukumaran H.G., Dara P.K., Ganesan B., Ashraf M., Anandan R., Mathew S, Nagarajarao R.C., Nano-encapsulation of curcumin in fish collagen grafted succinyl chitosan hydrogel accelerates wound healing process in experimental rats, *Food Hydrocolloids for Health Volume 2*, (2022)
- Chen, L.; Zhu, Y.; Cui, Y.; Dai, R.; Shan, Z.; Che, H. Fabrication of starch-based high-performance adsorptive hydrogels using a novel effective pretreatment and adsorption for cationic methylene blue dye: Behavior and mechanism, *Chem. Eng. J.*, 405, 126953 (2021)
- Damaschin R.P., Popa V.I., Volf I., A Suitable Method For Polyphenols Complexes With Copper, *Buletinul Institutului Politehnic Din Iași Publicat De Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” Din Iași Volumul 64 (68), Numărul 3, Secția Chimie Și Inginerie Chimică*, (2018)



- Dheyab M.A., Aziz A.A., Jameel M.S., Khaniabadi P.M., Mehrdel B., Mechanisms of Effective Gold Shell on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Core Nanoparticles Formation using Sonochemistry Method, *Ultrasonics Sonochemistry*, (2019)
- Ferreira L.F., Minuzzi N.M., Rodrigues R.F., Pauletto R., Rodrigues E., Emanuelli T., Boci V.C., Citric acid water-based solution for blueberry bagasse anthocyanins recovery: optimization and comparisons with microwave-assisted extraction (MAE) *LWT*, 133 (2020)
- Francis A.O., Zaini M.A.A., Muhammad I.M., Abdulsalam S., El-Nafaty U.A. Physicochemical modification of chitosan adsorbent: A perspective. *Biomass- Convers. Biorefinery*. 2021:1– 19 (2021)
- Ghiorghita C.A., Platon I.V., Lazar M.M., Dinu M.V., Aprotosoiaie A.C., Trends in polysaccharide-based hydrogels and their role in enhancing the bioavailability and bioactivity of phytochemicals, *Carbohydrate Polymers*, Vol. 334, (2024)
- Ghiteșcu R.E., Volf I., Carausu C., Bühlmann A.M., Gilca I.A., Popa V.I., Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark, *Ultrasonics Sonochemistry* (22): 535-541, (2015),
- Meregalli M.M., Puton B.M.S., Camera F.D.M., Amaral A.U., Zeni J., Cansian R.L., Mignoni M.L., Backes G.T., Conventional and ultrasound-assisted methods for extraction of bioactive compounds from red araçá peel (*Psidium cattleianum* Sabine) *Arab J Chem*, 13 (2020), pp. 5800-5809
- Micale N., Citarella A., Molonia M.S., Speciale A., Cimino F., Saija A., Cristani M., Hydrogels for the Delivery of Plant-Derived (Poly)Phenols, *Molecules*. 2020 Jul; 25(14): 3254, (2020)
- Moreno-Luna F.B., A. Tovar-Corona, Herrera-Perez J.L., Santoyo-Salazar J., Rubio-Rosas E., Vázquez-Cuchillo O., Quick synthesis of gold nanoparticles at low temperature, by using Agave potatorum extracts, *Materials Letters*, 235, 245-257, (2019)
- Nie L., Chang P., Liang S., Hu K., Hua D., Liu S., Sun J., Wang T., Okoro O.V., Shavandi A., Polyphenol rich green tea waste hydrogel for removal of copper and chromium ions from aqueous solution, *Cleaner Engineering and Technology*, Volume 4, 100167, (2021)
- NREL. (2013). *Biomass characterization*. National Renewable Energy Laboratory. <https://www.nrel.gov/bioenergy/biomass-characterization.html>
- Nutrizio M., GajdošKljusurić J, BadanjakSabolović M., BursaćKovačević D., Šupljika F., Putnik P., SemenčićČakić M., Dubrović I., Vrsaljko D., Maltar Strmečki N., Jambrak A.R., Valorization of sage extracts (*Salvia officinalis* L.) obtained by high voltage electrical discharges: process control and antioxidant properties *Innov Food Sci Emerg Technol*, 60 (2020), Article 102284

- Patil S.S., Pathak A., Rathod V.K., Optimization and kinetic study of ultrasound assisted deep eutectic solventbased extraction: a greener route for extraction of curcuminoids from *Curcuma longa* Ultrason Sonochem, 70 (2021)
- Pereira Antonio G.B., Rodrigues Francisco H.A., Paulino Alexandre T., Martins Alessandro F., Fajardo André R., Recent advances on composite hydrogels designed for the remediation of dye-contaminated water and wastewater: A review, Journal of Cleaner Production, Volume 284, 124703, (2021)
- Seera, S.D.K.; Kundu, D.; Gami, P.; Naik, P.K.; Banerjee, T. Synthesis and characterization of xylan-gelatin cross-linked reusable hydrogel for the adsorption of methylene blue, Carbohydr. Polym., 256, 117520, (2021)
- Seida Yoshimi, Tokuyama Hideaki, Hydrogel Adsorbents for the Removal of Hazardous Pollutants—Requirements and Available Functions as Adsorbent, Gels., 8(4): 220, (2022)
- Tutunchi P., Roufegarinejad L., Hamishehkar H., Alizadeh A., Extraction of red beet extract with  $\beta$ -cyclodextrin-enhanced ultrasound assisted extraction: a strategy for enhancing the extraction efficacy of bioactive compounds and their stability in food models Food Chem, 297 (2019),
- Tyliszczak B., Drabczyk a., Kudłacik-Kramarczyk S., Rudnicka K., Gatkowska J., Sobczak- Kupiec A., Jampilek J., In vitro biosafety of pro-ecological chitosan-based hydrogels modified with natural substances Journal of Biomedical Materials Research Part A, 107 (11) (2019)
- Ungureanu, G., Bejenari, I., Hristea, G., & Volf, I., Carbonaceous Materials from Forest Waste Conversion and Their Corresponding Hazardous Pollutants Remediation Performance. *Forests*, 13(12), (2022),
- Wong S.M., Zulkifli M.Z.A., Nordin D., Teow Y.H. Synthesis of Cellulose/Nano-hydroxyapatite Composite Hydrogel Absorbent for Removal of Heavy Metal Ions from Palm Oil Mill Effluents. *J. Polym. Environ.* 2021; 29:4106–4119.
- Wu M., Brown A. C., Applications of Catechins in the Treatment of Bacterial Infections. *Pathogens*, 10(5), 546; (2021)
- Xiong Y., Chen M., Warner R.D., Fang Z., Incorporating nisin and grape seed extract in chitosan- gelatine edible coating and its effect on cold storage of fresh pork, Food Control Volume 110, (2020)
- Zurob E., Cabezas R., Villarroel E., Rosas N., Merlet G., Quijada Maldonado E., Romero J., Plaza A., Design of natural deep eutectic solvents for the ultrasound-assisted extraction of hydroxytyrosol from olive leaves supported by COSMO-RS, Sep Purif Technol, 248 (2020)