



UNIVERSITATEA
LUCIAN BLAGA
— DIN SIBIU —

ȘCOALA DOCTORALĂ DE INGINERIE ȘI MATEMATICĂ

DOMENIUL DE DOCTORAT: INGINERIE INDUSTRIALĂ

REZUMAT

TEZĂ DE DOCTORAT

PROIECTAREA ȘI SINTETIZAREA UNUI HIDROGEL PE BAZĂ DE NANO ȘI MICROPARTICULE FUNCȚIONALIZATE

Doctorand,

Ing. ALEXANDRA NICOLAE (MARANCIUC)

Conducător științific,

Prof. univ. dr. ing. DAN CHICEA

SIBIU, ROMÂNIA 2023

Sincere mulțumiri,

Aș dori să îmi exprim aprecierea pentru toți cei care au fost alături de mine pe parcursul acestor ani, care m-au încurajat și care au făcut visul meu posibil.

Vă mulțumesc pentru tot!

Cuvintele nu pot descrie recunoștința adresată conducătorului meu științific, domnul **Profesor Dr. Habil Dan Chicea** din Universitatea Lucian Blaga din Sibiu, Centrul de Cercetare pentru Sisteme Fizice Complexe, care m-a ghidat pe parcursul anilor de doctorat și care m-a învățat că totul este posibil atunci când crezi. Am cel mai mare respect pentru dumnealui.

Domnule profesor, ați fost un mentor incredibil pentru mine. Ați crezut în visul meu chiar de la prima întâlnire, m-ați sfătuit, încurajat, ajutat în fiecare moment în care am avut nevoie și mi-ați permis să devin un cercetător științific în adevăratul sens al cuvântului. Vă sunt foarte recunoscătoare pentru toată implicarea, pentru tot conținutul științific pe care mi l-ați transferat, pentru răbdare și pentru toate glumele bune.

Abia aștept să ne continuăm călătoria!

De asemenea, aș dori să mulțumesc comisiei de îndrumare, **Conf. Dr. Angela Maria Bănăduc, Prof. dr. ing. Sever Gabriel Racz și Biol. Alexandru Burcea** pentru timpul acordat și sfaturile oferite pe parcursul acestor ani de doctorat.

Aș dori să îi mulțumesc **doamnei cercetătoare Dr. Mirela Maria Codescu** de la Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare în Inginerie Electrică ICPE-CA din București pentru încurajările dumneaei și pentru gândurile bune.

Aș dori să îi mulțumesc în mod special soțului meu, **Florin**, pentru susținerea infinită, pentru încurajările sale în a nu mă opri niciodată din ceea ce iubesc să fac și pentru toată dragostea pe care mi-a arătat-o în toți acești ani.

Mulțumesc, dragul meu, pentru optimismul tău, pentru încredere, pentru înțelegere și pentru tot ajutorul oferit în zilele în care aveam nevoie. Îți mulțumesc pentru toate orele în care mi-ai ascultat experimentele din laborator, chiar dacă pentru tine erau științifico-fantastice și pentru toată bucuria arătată la fiecare succes de-al meu!

Tu și **Foxi**, scumpa noastră pisică, mi-ați făcut chiar și cele mai dificile zile mai frumoase!

Sunt, de asemenea, recunoscătoare părinților mei, **Doina și Costin**, care m-au susținut și iubit necondiționat întreaga mea viață, care m-au susținut în școală și în facultate și care m-au înțeles la fiecare alegere, ajutându-mă să devin ceea ce sunt astăzi.

Mulțumesc, mama și tata!

Doctorand Ing. Alexandra Maranciuc



CUPRINS	2
LISTĂ DE FIGURI	6
LISTĂ DE TABELE	9
PREFAȚĂ	10
INTRODUCERE	12
1. STUDIU DE LITERATURĂ PRIVIND NANOPARTICULELE ȘI ABORDĂRI PRIVIND HIDROGELURILE	16
1.1 ABORDĂRI RECENTE ÎN NANOȘTIINȚĂ	16
1.1.1 NANOTEHNOLOGIE	16
1.1.2 NANOPARTICULE.....	18
1.2 NANOPARTICULE DE ARGINT	22
1.2.1 PARTICULARITĂȚI ALE NANOPARTICULELOR DE ARGINT PRIVIND FORMA, DIMENSIUNEA ȘI SUPRAFAȚA.....	25
1.2.2 PARTICULARITĂȚI ALE NANOPARTICULELOR DE ARGINT PRIVIND PROPRIETĂȚILE ȘI METODELE DE SINTEZĂ	27
1.2.2.1 METODE CHIMICE	31
1.2.2.1.1 REDUCERE CHIMICĂ.....	31
1.2.2.1.2 MICRO-EMULSIE	34
1.2.2.1.3 SINTEZA ELECTROCHIMICĂ	36
1.2.2.1.4 METODA HIDROTERMALĂ	37
1.2.2.2 METODE FIZICE.....	38
1.2.2.2.1 ABLAȚIA LASER	38
1.2.2.2.2 MĂCINAREA CU BILE.....	39
1.2.2.3 SINTEZA VERDE	40
1.2.2.3.1 PLANTE CA AGENȚI REDUCĂTORI.....	40
1.2.2.3.2 BACTERII CA AGENȚI REDUCĂTORI	41
1.2.2.3.3 CIUPERCI CA AGENȚI REDUCĂTORI	42
1.2.3 NANOPARTICULE DE ARGINT: MECANISMUL EFECTULUI ANTIBACTERIAN ...	43
1.2.4 NANOPARTICULE DE ARGINT: TEHNICI DE CARACTERIZARE FIZICO-CHIMICE FOLOSITE ÎN BIOINGINERIE.....	44
1.2.4.1 DESCRIEREA TEHNICII DE DINAMICĂ A ÎMPRĂȘTIERII LUMINII	45
1.2.4.2 DESCRIEREA TEHNICII DE MICROSCOPIE DE FORȚĂ ATOMICĂ	48
1.2.4.3 DESCRIEREA TEHNICII DE DIFRAȚIE DE RAZE X.....	49
1.2.4.4 DESCRIEREA TEHNICII DE MICROSCOPIE ELECTRONICĂ DE BALEIAJ	51
1.2.4.5 DESCRIEREA TEHNICII DE ANALIZĂ INDIVIDUALĂ DE PARTICULĂ.....	53
1.2.4.6 DESCRIEREA TEHNICII DE ANALIZĂ INDIVIDUALĂ A NANOPARTICULELOR	56
1.2.4.7 DESCRIEREA TEHNICII DE ANALIZĂ A PARTICULELOR DEFOCUSATE	57

<u>1.3 FUNCȚIONALIZAREA NANOPARTICULELOR DE ARGINT CU CHITOSAN</u>	59
1.3.1 <u>INFORMAȚII GENERALE DESPRE CHITOSAN</u>	59
1.3.2 <u>PROCESUL DE OBTINERE AL CHITOSANULUI</u>	60
1.3.3 <u>PROPRIETĂȚILE CHITOSANULUI ÎN APLICAȚII BIOINGINERESTI</u>	62
1.3.3.1 <u>BIOCOMPATIBILITATE</u>	62
1.3.3.2 <u>MUCOADEZIUNE</u>	62
1.3.3.3 <u>HEMOCOMPATIBILITATE</u>	62
1.3.3.4 <u>BIODEGRADABILITATE</u>	63
1.3.4 <u>APLICAȚII BIOMEDICALE ALE MATERIALELOR PE BAZĂ DE CHITOSAN</u>	63
1.3.4.1 <u>INGINERIE TISULARĂ</u>	63
1.3.4.2 <u>SISTEME DE ELIBERARE PRELUNGITĂ ALE MEDICAMENTELOR</u>	65
<u>1.4 HIDROGELURI</u>	66
1.4.1 <u>HIDROGELURI CLASIFICATE DUPĂ METODA DE RETICULARE</u>	67
1.4.1.1 <u>RETICULARE PRIN INTERACȚII ELECTROSTATICE</u>	68
1.4.1.2 <u>RETICULARE PRIN LEGĂTURI DE HIDROGEN</u>	68
1.4.1.3 <u>RETICULARE PRIN INTERACȚIUNI CHIMICE</u>	69
1.4.2 <u>HIDROGELURI CLASIFICATE DUPĂ TIPUL DE POLIMERI</u>	69
<u>2. CERCETĂRI EXPERIMENTALE PRIVIND TEHNICA INOVATOARE PROPUȘĂ PENTRU DETERMINAREA DIMENSIUNILOR NANOPARTICULELOR DE ARGINT: DIRECT PARTICLE TRACKING</u>	70
<u>2.1 DIFUZIA ÎN TEHNICILE DE ANALIZĂ A PARTICULELOR</u>	72
<u>2.2 TEHNICA DIRECT PARTICLE TRACKING</u>	74
2.2.1 <u>MISCARE BROWNIANĂ ÎN DIRECT PARTICLE TRACKING</u>	79
<u>2.3 REZULTATE ȘI DISCUȚII ÎN SIMULĂRILE DPT</u>	80
2.3.1 <u>PRIMUL SET DE SIMULĂRI ALE Ag NPs</u>	81
2.3.2 <u>AL DOILEA SET DE SIMULĂRI ALE Ag NPs</u>	84
2.3.2 <u>AL TREILEA SET DE SIMULĂRI ALE Ag NPs</u>	86
<u>2.4 CONCLUZII PARTIALE</u>	88
<u>3. CERCETĂRI EXPERIMENTALE PRIVIND SINTEZA ȘI CARACTERIZAREA NANOPARTICULELOR DE ARGINT</u>	89
<u>3.1 SCOPUL CERCETĂRII EXPERIMENTALE</u>	89
<u>3.2 MATERIALE ȘI TEHNICI DE CARACTERIZARE UTILIZATE ÎN SINTEZA Ag NPs</u>	90
3.2.1 <u>MATERIALE</u>	90
3.2.2 <u>ECHIPAMENTE UTILIZATE ÎN CERCETAREA EXPERIMENTALĂ</u>	90
3.2.3 <u>TEHNICI DE CARACTERIZARE FIZICO-CHIMICE UTILIZATE ÎN AMBELE SINTEZE DE Ag NPs</u>	92
3.2.3.1 <u>SPECTROSCOPIE UV-VIS</u>	92
3.2.3.2 <u>SPECTROSCOPIE ATR-FTIR</u>	93
3.2.3.3 <u>ANALIZA DLS</u>	93
3.2.3.4 <u>TEHNICA AFM</u>	98
<u>3.3 METODOLOGIA DE SINTEZĂ A Ag NPs UTILIZÂND TSC CA AGENT REDUCĂTOR</u>	100

<u>3.4 METODOLOGIA DE SINTEZĂ A Ag NPs UTILIZÂND D-GLUCOZĂ CA AGENT REDUCĂTOR</u>	101
<u>3.5 REZULTATE ȘI DISCUȚII: COMPARATIE ÎNTRE TSC ȘI D-GLUCOZĂ CA AGENTI REDUCĂTORI PENTRU SINTEZA DE Ag NPs</u>	103
3.5.1 REZULTATE ATR-FTIR PENTRU Ag NPs-TSC ȘI Ag NPs-GLUCOZĂ	103
3.5.2 REZULTATE UV-VIS PENTRU Ag NPs-TSC ȘI Ag NPs-GLUCOZĂ	105
3.5.3 REZULTATE AFM PENTRU Ag NPs-TSC ȘI Ag NPs-GLUCOZĂ.....	107
3.5.4 REZULTATE DLS ȘI AFM PENTRU Ag NPs-TSC ȘI Ag NPs-GLUCOZĂ.....	109
<u>3.6 CONCLUZII PARTIALE</u>	110
<u>4. CERCETĂRI EXPERIMENTALE PRIVIND FUNCȚIONALIZAREA NANOPARTICULELOR DE ARGINT CU CHITOSAN</u>	111
<u>4.1 SCOPUL CERCETĂRII EXPERIMENTALE</u>	111
<u>4.2 MATERIALE ȘI TEHNICI DE CARACTERIZARE UTILIZATE ÎN CERCETAREA EXPERIMENTALĂ</u>	111
4.2.1 MATERIALE	111
4.2.2 ECHIPAMENTE ȘI TEHNICI DE CARACTERIZARE UTILIZATE ÎN PROCESUL DE FUNCȚIONALIZARE	112
<u>4.3 PROTOCOL EXPERIMENTAL PROPUȘ ÎN ACEASTĂ TEZĂ PENTRU FUNCȚIONALIZAREA Ag NPs UTILIZÂND CHITOSAN ȘI TSC</u>	112
4.3.1 METODOLOGIA DE SINTEZĂ A Ag NPs-TSC-CHITOSAN.....	112
4.3.2 REZULTATE ȘI DISCUȚII PRIVIND CARACTERIZAREA FIZICO-CHIMICĂ PENTRU PROBLELE Ag NPs-TSC-CH.....	115
4.3.2.1 ANALIZA ATR-FTIR	115
4.3.2.2 ANALIZA UV-VIS.....	118
4.3.2.3 PROPRIETĂȚILE REOLOGICE – DETERMINĂRI DE VÂSCOZITATE.....	120
4.3.2.4 REZULTATE DE DIMENSIUNE – DLS.....	121
<u>4.4 CERCETĂRI EXPERIMENTALE PENTRU FUNCȚIONALIZAREA Ag NPs UTILIZÂND CHITOSAN ȘI NaOH</u>	124
4.4.1 METODOLOGIA DE SINTEZĂ A Ag NPs-NaOH-CHITOSAN	124
4.4.2 REZULTATE ȘI DISCUȚII PRIVIND CARACTERIZAREA FIZICO-CHIMICĂ PENTRU PROBLELE Ag NPs-NaOH-CH.....	127
4.4.2.1 ANALIZA ATR-FTIR	127
4.4.2.2 ANALIZA UV-VIS.....	128
4.4.2.3 PROPRIETĂȚILE REOLOGICE – DETERMINĂRI DE VÂSCOZITATE.....	129
4.4.2.4 REZULTATE DE DIMENSIUNE – DLS.....	129
<u>4.5 TEST ANTIBACTERIAN PENTRU Ag NPs FUNCȚIONALIZATE</u>	132
4.5.1 METODA DE DIFUZIE PE DISC PENTRU CONTROALE.....	134
4.5.2 METODA DE DIFUZIE PE DISC PENTRU Ag NPs-TSC-CH ȘI Ag NPs-NaOH-CH	135
<u>4.6 CONCLUZII PARTIALE</u>	142
<u>5. SINTEZA DE HIDROGEL POLIMERIC PE BAZĂ DE NANOPARTICULE DE ARGINT FUNCȚIONALIZATE</u>	144
<u>5.1 SCOPUL CERCETĂRII EXPERIMENTALE</u>	144
<u>5.2 SINTEZA DE HIDROGEL POLIMERIC</u>	144

<u>5.3 CARACTERIZAREA HIDROGELULUI PRIN MICROSCOPIE</u>	147
<u>5.4 CONCLUZII PARTIALE</u>	148
<u>CONCLUZII FINALE</u>	150
<u>DIRECTII VIITOARE ALE ACESTEI CERCETĂRI</u>	153
<u>CONTRIBUTII PERSONALE ADUSE ÎN CADRUL TEZEI DE DOCTORAT</u>	154
<u>LISTA DE PUBLICATII, CONFERINTE ȘI PARTICIPĂRI ÎN PROIECTE DE CERCETARE</u>	155
<u>REFERINTE</u>	158

În fața dumneavoastră se regăsește teza de doctorat intitulată **“Proiectarea și sintetizarea unui hidrogel pe bază de nano și microparticule funcționalizate”**. Aceasta a fost redactată în vederea finalizării programului de studii doctorale în Inginerie Industrială din cadrul Universității Lucian Blaga din Sibiu, România sub îndrumarea domnului Profesor Dr. Dan Chicea. Implicarea în programul de studii doctorale a debutat în Octombrie 2020 și s-a încheiat în Octombrie 2023. Cariera în cercetare dobândită în urma angajării ca asistent de cercetare în biologie moleculară și în inginerie după absolvirea facultății, din 2018 până în prezent, m-a ajutat să depășesc toate provocările aduse de această teză.

Dorința de a produce materiale pentru a ajuta oamenii în nevoie s-a îndeplinit încă de la obținerea diplomei de licență, unde am fabricat un pansament liofilizat pornind de la materie brută. În această teză de doctorat, am abordat un subiect de interes actual, dat fiind faptul că infecțiile pacienților dobândite din spitale sau din cauza unei neglijențe personale au devenit o problemă la nivel mondial apărută încă de mulți ani și care încă afectează un număr impresionant de oameni. Provocările apărute pe parcursul tezei de doctorat m-au făcut să am mai multă experiență în dezvoltarea nanomaterialelor și a hidrogelurilor polimerice. Am învățat cum să rezolv problemele apărute în fabricarea materialelor în laborator, așadar mi-am dat seama că străduința face parte dintr-un rezultat de succes. Această teză de doctorat m-a învățat să am toleranță și să îmi îmbunătățesc continuu aptitudinile personale și profesionale.

Această teză este o abodare personală în dezvoltarea unei tehnici inovatoare în caracterizarea nanoparticulelor denumită *Direct Particle Tracking* și în sintetizarea unui hidrogel polimeric pe bază de chitosan cu nanoparticule de argint funcționalizate cu chitosan ca aplicație finală, acesta având potențialul să devină un dispozitiv medical industrial pentru rănilor sau arsurile ușoare și medii.

Motivația alegerii acestui subiect în teza de doctorat se datorează nevoilor de produse antimicrobiene care să fie ușor de manevrat și accesibile pentru o largă categorie de oameni. Arsurile sau rănilor infectate ce cauzează inclusiv dureri sunt o problemă mondială. În România, aceste probleme cu pacienți infectați cu bacterii este un subiect foarte bine cunoscut. Așadar, pentru a evita strategia cu antibiotice, care nu oferă întotdeauna rezultatele dorite în cazul unei răni exterioare sau grefarea care nu

este disponibilă pentru toate categoriile de persoane, dezvoltarea unor astfel de hidrogeluri produse cu ajutorul ingineriei pot îmbunătăți vindecarea oamenilor în cazul unor infecții ușoare. Scopul acestora este de a oferi suport ținând cont de compoziția lor pe bază de polimeri în timp ce oferă un efect antibacterian datorită nanoparticulelor de argint.

Rezultatele obținute în teza mea de doctorat aduc contribuții inovatoare în domeniul științei materialelor și cel al ingineriei industriale. Diseminarea rezultatelor a fost atinsă prin publicarea articolelor în jurnale WoS, articole publicate în alte baze de date și prin participarea la conferințe internaționale, preponderent cu prezentări orale și la diferite programe internaționale ca student doctorand. Un alt succes atins în cadrul acestei teze de doctorat a fost participarea în mai multe proiecte de cercetare ca membru în echipă.

Sibiu, August 2023

Ing. Alexandra MARANCIUC



Pielea este un organ important al corpului expus la posibile accidente foarte des. Rănile sau arsurile pot apărea din diverși factori, precum lovituri, temperatură ridicată sau diverse boli. Chiar dacă corpul nostru este proiectat să vindece rănile apărute la nivelul pielii, acest proces este lung și necesită timp. În timpul procesului de vindecare, infecțiile pot apărea, așadar timpul este un factor important și fiecare metodă alternativă poate face diferența.

La nivel național și internațional, comunitatea științifică se străduiește să combată problemele apărute de infecțiile bacteriene și de rezistența lor, una dintre principalele cauze de deces la nivel mondial. Așadar, ingineria medicală a început producerea de dispozitive medicale pentru a oferi tratament pacienților la nevoie deoarece strategiile actuale nu sunt suficiente.

Aplicația antibacteriană propusă ca soluție în această teză se bazează pe nanoparticule de argint funcționalizate cu chitosan integrate într-un hidrogel pe bază de chitosan. Nanoparticulele de argint au demonstrat de-a lungul timpului proprietăți antibacteriene pe diferite tulpini bacteriene. Aceste nanoparticule au capacitatea de a se atașa și de a trece prin membrana bacteriilor utilizând un mecanism specific, de a induce formarea speciilor reactive de oxigen și de a altera căile de replicare ale bacteriilor. Proprietățile lor depind de mai mulți factori fizico-chimici, precum dimensiune, formă, concentrație sau suprafața de la exterior. Funcționalizarea nanoparticulelor de argint cu chitosan este strategia aleasă în cadrul acestei teze de doctorat deoarece crește biocompatibilitatea acestora. Integrarea nanoparticulelor funcționalizate într-un hidrogel pe bază de chitosan le va oferi o eliberare prelungită în timp ce pentru pacient va fi oferit un suport ușor de manipulat. Conform numeroaselor studii din literatură, efectul antimicrobian al nanoparticulelor de argint este mai puternic odată ce particulele sunt mai mici. Datorită importanței dimensiunilor, tehnici avansate au fost dezvoltate cu timpul pentru caracterizarea acestora. Microscopie electronică sau tehnici de dimensionare fizice sunt utilizate preponderent, însă dezvoltarea unei tehnici noi ar putea îmbunătăți informațiile teoretice cunoscute până în prezent privind comportamentul nanoparticulelor.

Una dintre părțile teoretice și practice inovatoare ale acestei teze de doctorat este dezvoltarea unei noi analize de investigare a dimensiunii de nanoparticulă,

denumită, *Direct Particle Tracking*. Aceasta asigură investigarea nanoparticulelor de argint utilizând un sistem optic inovator și un sistem în timp real care arată dimensiunea nanometrică a particulelor și care sugerează un potențial efect antibacterian.

O altă parte aplicativă inovatoare a acestei teze este demonstrată prin funcționalizarea nanoparticulelor de argint care a fost realizată utilizându-se un protocol dezvoltat în laborator, dar și prin dezvoltarea hidrogelului care a fost proiectat și sintetizat în întregime în laborator printr-un protocol personalizat.

Principalul scop al tezei este fabricarea hidrogelului pe bază de chitosan cu nanoparticule de argint funcționalizate utilizând chitosan care ar putea fi amplasat la nivelul răni sau arsurii în vederea reducerii proliferării bacteriene. Cantitatea crescută de apă și de chitosan va împiedica lipirea acestuia, așadar confortul va fi asigurat. Hidrogelul va oferi un efect antibacterian datorită nanoparticulelor de argint care vor fi eliberate treptat din matricea de chitosan a acestuia.

Cel de-al doilea scop al acestei teze de doctorat este investigarea nanoparticulelor de argint prin tehnica inovatoare *Direct Particle Tracking* propusă și descrisă în cadrul tezei. Această tehnică în timp real are marele avantaj de a oferi informații despre caracteristicile dimensionale ale fiecărei particulă de argint individuală și despre cum nanoparticulele de argint interacționează în suspensii.

Cu scopul îndeplinirii acestor cerințe propuse în cadrul tezei de doctorat, au fost propuse obiectivele de cercetare:

- **O1.** Dezvoltarea tehnicii *Direct Particle Tracking* în cadrul laboratorului experimental pentru investigarea nanoparticulelor de argint.
- **O2.** Sinteza nanoparticulelor de argint utilizând două metode de sinteză diferite.
- **O3.** Caracterizarea fizico-chimică a nanoparticulelor de argint și prezentarea discuțiilor rezultatelor privind dimensiunea acestora.
- **O4.** Funcționalizarea nanoparticulelor utilizând chitosan realizată prin două metode de sinteze diferite.
- **O5.** Caracterizarea fizico-chimică a nanoparticulelor de argint funcționalizate cu chitosan și prezentarea discuțiilor rezultatelor.
- **O6.** Determinarea efectului antibacterian al nanoparticulelor de argint funcționalizate.
- **O7.** Proiectarea și fabricarea hidrogelului cu nanoparticule de argint funcționalizate cu chitosan integrate în matricea sa.

Cu scopul îndeplinirii acestor obiective, teza de doctorat a fost împărțită în șase capitole principale și sub-capitolele aferente.

Capitolul I, Studiu de literatură privind nanoparticulele și abordări privind hidrogelurile, sumarizează informații teoretice despre fiecare material utilizat în această cercetare și anume nanoparticule de argint, chitosan și hidrogeluri. Informația concentrată în acest capitol are un impact crescut în literatura existentă în prezent. Capitolul conține informații recente despre proprietățile acestora, despre metodele de sinteză și de caracterizare și despre integrarea lor în aplicații precum dispozitivele medicale.

Capitolul II, Cercetare experimentală privind tehnica inovatoare propusă pentru determinarea dimensiunilor nanoparticulelor de argint: Direct Particle Tracking, expune pașii utilizați în dezvoltarea tehnicii propusă în cadrul acestei teze de doctorat. Capitolul descrie fenomenul fizic care apare în probă, prezintă substratul matematic al metodei și explică cum echipamentul este utilizat în experimentele reale. Rezultatele prezentate în acest capitol sunt pe bază de simulări realizate pentru nanoparticulele de argint. Simulările au fost rulate pe baza programului software dezvoltat și au arătat că metoda este validă și poate fi utilizată în experimente viitoare în dimensionarea nanoparticulelor.

Capitolul III, Cercetări experimentale privind sinteza și caracterizarea nanoparticulelor de argint, prezintă cele două metode de sinteză propuse pentru fabricarea nanoparticulelor de argint. Diferența dintre sinteze bazată pe utilizarea a doi compuși chimici diferiți în reducerile chimice propuse, Citrat tri-sodic dihidratat versus D-glucoză, duce la diferențe observate în urma caracterizării realizate în acest capitol. Așadar, rezultatele privind caracterizarea fizico-chimică a sintezelor focusată pe dimensiunile particulelor sunt expuse în capitolul III.

Capitolul IV, Cercetări experimentale privind funcționalizarea nanoparticulelor de argint cu chitosan, expune abordările utilizate în funcționalizarea nanoparticulelor. Așadar, în acest capitol sunt prezentate metodele propuse pentru funcționalizarea cu chitosan utilizând două abordări distincte, rezultatele obținute în urma caracterizării fizico-chimice a nanoparticulelor de argint funcționalizate și testul antibacterian realizat pe două tulpini, *Escherichia Coli* și *Staphylococcus Aureus*. În plus, capitolul expune protocolul inovator propus în cadrul tezei de doctorat pentru funcționalizare și rezultatele acestuia comparând cu o metodă clasică descrisă în literatură.

Capitolul V, Sinteza hidrogelului polimeric pe bază de nanoparticule de argint funcționalizate, include procesul de fabricare ca aplicație finală a acestei cercetări, hidrogelul pe bază de chitosan cu nanoparticule funcționalizate. Capitolul expune metoda de sinteză propusă pentru pansamentul de tip hidrogel și caracterizarea sa utilizând microscopie optică.

Capitolul VI, Concluzii finale, contribuții personale și direcții viitoare de cercetare, descrie concluziile finale ale acestei cercetări. În acest capitol este subliniată contribuția personală a autorului la domeniul de cercetare și sunt descrise direcțiile viitoare ale cercetării pe baza rezultatelor din această teză de doctorat.

Cuvinte cheie: nanoparticule de argint, dimensiune, sinteză chimică, măsurători DLS, determinări de dimensiune prin AFM, chitosan, funcționalizare, efect antibacterian, hidrogel

I. STUDIU DE LITERATURĂ



1. STUDIU DE LITERATURĂ: NANOȘTIINȚĂ ȘI NANOPARTICULE

Nanotehnologia, un domeniu de cercetare dezvoltat constant din 1959, reprezintă o strategie de cercetare unică și inovatoare [1, 2]. Descrisă prima dată în 1974 de Norio Taniguchi și apoi experimentată în 1981 de doi cercetători de la IBM care au dezvoltat microscopul cu efect tunel [2], nanotehnologia a câștigat proporții în domeniul științei. Potențialul crescut al acestei științe este în strânsă legătură cu cercetarea atomilor și a moleculelor. Posibilitatea dezvoltării de mașini la dimensiune nanometrică și fabricarea de dispozitive cu o distribuție specifică a atomilor a devenit o prioritate pentru cercetători și ingineri. Nanotehnologiile dezvoltate până în prezent creează materiale de dimensiuni reduse cu proprietăți unice care oferă posibilitatea de a fi utilizate în domenii diferite precum industria textilă, electronică sau automatică. Nanotehnologia poate fi considerată domeniul inovator al științei materialelor datorită avantajelor oferite. În ultimii ani, economia a demonstrat îmbunătățiri în ceea ce privește nevoie de materiale mai mici și mai performante în toate domeniile. Pe lângă dimensiunea redusă, nanomaterialele au captat atenția datorită proprietăților fizico-chimice precum conductivitate sau activitate optică [3].

Nanomaterialele au schimbat modelele clasice investigate până în prezent. Nevoia de produse ușoare și sustenabile, terapii țargetate, dispozitive de diagnostic optimizate au dus la descoperirea contribuțiilor benefice ale nanomaterialelor. În medicină, aceste dimensiuni nano sunt studiate din ce în ce mai des. Cea mai importantă proprietate, un raport suprafață/volum mare, crește activitatea acestora în sistemele biologice [4].

Nanoparticulele, un domeniu important al nanotehnologiei, sunt materiale cu dimensiuni nanometrice mai mici de 100 nanometrii considerate materiale 0-D. Proprietățile specifice și bine-definite ale nanoparticulelor le oferă avantaje în diverse aplicații ingineresti. Forma și dimensiunea sunt principalii factori studiați în comunitatea științifică. Acești factori pot influența proprietățile fizico-chimice și optice ale nanoparticulelor. Concentrația soluțiilor de nanoparticule, densitatea sau culoarea sunt alți factori care induc modificări în materialele nanometrice. Fiecare aplicație necesită anumite proprietăți, așadar dependența mărimii sau a formei față de aplicația finală este recunoscută de studiile din literatură.

Nanoparticulele pot fi sintetizate prin diferite strategii. În general există două direcții principale: metodele “top-down” (de la mare la mic) și “bottom-up” (de la mic la mare). În funcție de precursorii și materialele utilizate, cele două abordări se bazează pe tehnologii diferite. Metoda “top-down” se bazează pe transformarea unui material din volum mare în particule mici, în timp ce metoda “bottom-up” implică producția de nanoparticule utilizând reactivi chimici capabili să fie asamblați din faza de atomi în nuclee care ulterior vor crește în clusteri și particule de dimensiuni nanometrice, precum poate fi observat în Figura 1 [5-7]. Particulele organice sunt obținute de obicei prin metode “bottom-up” precum reducere chimică, sol-gel, emulsificare sau procese de auto-asamblare. Aceste metode duc în majoritatea cazurilor la fabricarea de nanoparticule într-o formă sferică și într-o polidispersitate a distribuției de dimensiune datorită tensiunii superficiale inerente care apare în timpul procesului de fabricație. Pe lângă particulele organice, particulele inorganice în forme diferite pot fi obținute prin metode “bottom-up”, de asemenea, de exemplu printr-un proces de nucleație [8].

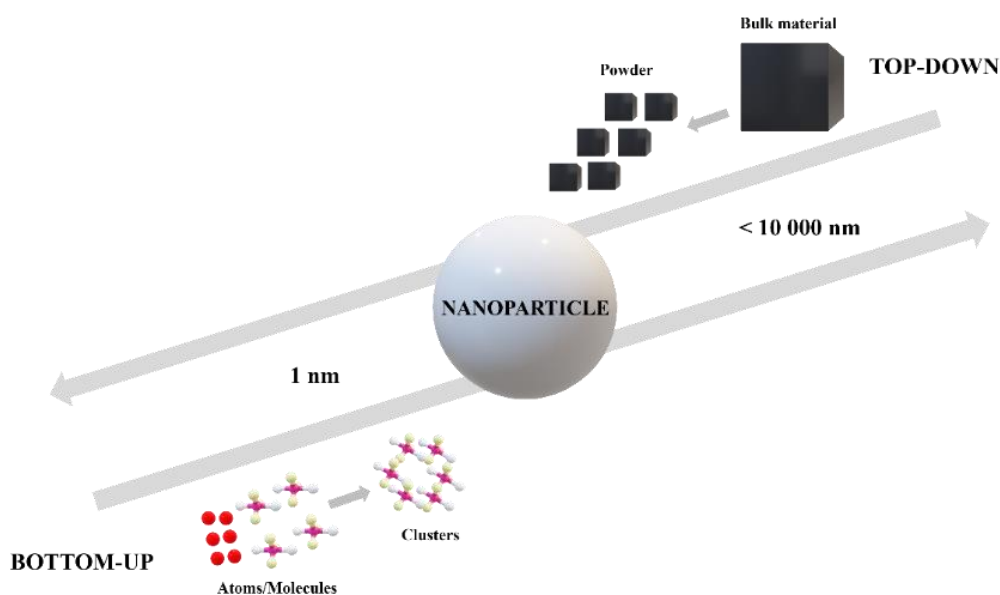


Figura 1. Metode “top-down” versus “bottom-up” din perspectiva nanoparticulelor

2. NANOPARTICULE DE ARGINT

Argintul este un metal maleabil, strălucitor [9], utilizat de mulți ani în aplicații medicale datorită beneficiilor pe care le oferă. Dovezile descrise în istorie au arătat prezența argintului încă din Egiptul antic și Roma antică, fiind considerat un material excelent de stocare [10]. Încă din timpurile lui Hipocrate, argintul a fost utilizat în

vindecarea rănilor, ulcere sau infecții. Argintul a fost prima dată utilizat prin administrarea sa externă sau prin ingestie cu scopul de a vindeca infecțiile interioare [10]. În cultura Indiană, argintul a fost integrat în creme sau medicamente locale pentru reactivitatea sa la bacterii. De-a lungul timpului, argintul a dovedit un puternic caracter antimicrobian fiind folosit procesul de vindecare și în prevenirea bolilor. La sfârșitul anilor 1900, tratamente pe bază de argint coloidal sub formă nanometrică împotriva infecțiilor propuse de Statele Unite ale Americii au dus la o investigație amănunțită a materialelor pe bază de argint utilizate în prezent [10]. Evoluția populației a dus la dezvoltarea nanomaterialelor pe bază de argint care au proprietăți îmbunătățite. Nanoparticulele de argint (Ag NPs) au un raport suprafață/volum foarte mare care crește activitatea lor în corpul uman. Suprafața lor crescută permite o expunere mai bună la tulpinile bacteriene astfel încât efectul antibacterian este îmbunătățit [11]. În plus, odată cu atingerea dimensiunii nanometrice, particulele de argint prezintă proprietăți optice și fizice îmbunătățite prin comparație cu materialul întreg. Conductivitatea lor termică, care se regăsește într-o cantitate ridicată printre valorile specifice metalelor, a dus la integrarea acestor particule în dispozitive industriale ca aplicație finală. Proprietățile unice le-au transformat într-un subiect interesant și pentru domeniul medical unde sunt intens investigate ca agenți antibacterieni.

Forma, o proprietate intens descrisă pentru nanoparticule, influențează raportul suprafață/volum și distribuția particulelor în corp. În cazul Ag NPs, forma este o proprietate capabilă, de asemenea, să modifice răspunsul bacteriilor. Suprafața reactivă crescută a acestor particule de dimensiuni nanometrice este benefică pentru aplicații de tipul eliberare controlată a medicamentelor, în terapii pentru cancer, în regenerarea tisulară sau în aplicații fotocatalitice [13]. În cazul celulelor animale și umane, forma sferică este preferabilă în mai multe aplicații biomedicale. Din moment ce sunt integrate într-un biomaterial, prevenirea efectelor adverse posibile ar trebui luată în considerare la alegerea formei finale. Un raport suprafață/volum mare și o formă adecvată, fără numeroase colțuri, pot duce la o distribuție și la o difuzie adecvate ale nanoparticulelor în corpul uman și pot preveni apoptoza celulară în zona tisulară apropiată implantării dispozitivului medical [13]. Totuși, în cazul bacteriilor, sunt numeroase studii de literatură care susțin utilizarea unor forme triunghiulare ale nanoparticulelor, acestea demonstrând un efect bactericid mai mare [14-16].

Dimensiunea redusă permite particulelor să circule în sistemul circulator odată ce sunt ingerate prin administrare orală sau să rămână în stratul dermal odată ce sunt aplicate pe piele. Efectul dependent de dimensiune a fost demonstrat by Osonga și

colab. [17] care au comparat activitatea antifungică a Ag NPs cu Au NPs sintetizate cu același agent reducător. Studiul a fost realizat pe diferite tipuri de ciuperci, dar și pe bacterii Gram-negative și Gram-pozitive. După o perioadă de incubare, o concentrație mai mare de agent reducător, 10 μM , a oprit aproape în totalitate creșterea ciupercilor, în timp ce la o concentrație mai scăzută de 4 μM , creșterea a fost în continuare observată. Pe lângă importanța concentrației, dimensiunea s-a dovedit de asemenea a fi esențială. Cele mai mici particule identificate cu ajutorul imaginilor TEM (aproximativ 9 nm) au arătat o inhibare totală în cazul ciupercilor și bacteriilor, în timp ce la dimensiuni mai mari, activitatea antimicrobiană a scăzut [17].

Suprafața nanoparticulelor este și ea corelată cu reactivitatea lor [18] din moment ce ionii de Ag pot forma cu ușurință interacțiuni electrostatice cu alte molecule sau alți compuși. În cazul bacteriilor, presupusul mecanism de inhibare este, de asemenea, corelat cu afinitatea argintului pentru grupele sulfat care se găsesc în enzimele sau proteienle din membrana bacteriilor.

Nanoparticulele de argint, împreună cu zincul de exemplu, posedă proprietăți antimicrobiene pentru diferite microorganisme. Nanoparticulele de argint sunt extrem de versatile în ceea ce privește caracteristicile lor. În cazul abordării nanoparticulelor de argint, mecanismul bacteriilor le împiedică pe acestea să le identifice ca potențiali agenți antibacterieni, așadar acțiunile nanoparticulelor sunt urmate de mai multe schimbări: modificarea pompelor de eflux, alterarea membranei astfel încât nanoparticulele să poată intra, creșterea numărului de scurgeri intracelulare și în final alterarea AND-ului prin producerea de ROS (specii reactive de oxigen) care distrug agenții patogeni [19]. Așadar, nanoparticulele de argint distrug microorganismele prin alterarea AND-ului plasmidial și prin inducerea apariției speciilor reactive de oxigen [19].

3. HIDROGELURI

În ingineria tisulară, sunt câteva abordări graduale care includ tratamente pe bază de celule sau molecule biologice, molecule biologice și hidrogeluri sau doar hidrogeluri în vederea tratării rănilor. Aceste produse ale ingineriei tisulare sunt clasificate în funcție de compoziția lor cu focalizare asupra polimerilor. Polimer sintetic sau natural, hidrogelurile oferă proprietăți specifice corelate cu aplicația finală. Ca un polimer natural cu numeroase avantaje, interesul pentru dispozitivele pe bază de chitosan și

derivații lui a crescut gradul până în prezent. Acesta oferă o biocompatibilitate crescută în cazul materialelor metalice sau inerte, este biodegradabil și este un suport optim pentru regenerarea celulelor umane [20].

Hidrogelurile sunt biomateriale organizate în forma unei rețele tridimensionale a lanțurilor polimerice utilizați preponderent în aplicații de inginerie tisulară datorită proprietăților superioare în comparație cu alte pansamente: biocompatibilitate, biodegradabilitate, elasticitate, porozitate, absorbție de apă și proprietăți de gonflare în cazul absorbției exudatului din răni [21]. Acestea sunt materiale 3D cu un procent crescut de apă și solvenți în structura lor. Pot fi ușor manipulați sub diferite forme, sunt confortabili și versatili în ceea ce privește dimensiunea, așadar reprezintă o alegere perfectă pentru rănilor de la nivelul pielii.

II. CERCETRĂRI EXPERIMENTALE

CERCETĂRI EXPERIMENTALE PRIVIND SINTEZA ȘI CARACTERIZAREA FIZICO-CHIMICĂ A NANOPARTICULELOR DE ARGINT

1. SCOPUL CERCETĂRII EXPERIMENTALE

Scopul acestui capitol este de a determina sinteza optimă pentru fabricarea Ag NPs. Din moment ce dimensiunile lor reprezintă un aspect foarte important pentru aplicația antibacteriană finală propusă în această teză, determinarea de dimensiune reprezintă cel mai important aspect în obținerea nanoparticulelor.

Ag NPs au fost sintetizate utilizând două abordări pe bază de reducere chimică. Această metodă de sinteză a fost aleasă deoarece oferă un randament ridicat al reacției într-un timp scurt și în condiții de laborator simple. De asemenea, costurile sunt reduse. Mai departe în acest capitol vor fi expuse cele două sinteze chimice realizate utilizând agenți reducători diferiți pentru același precursor de argint. Așadar, utilizând azotat de argint ca precursor, citratul trisodic dihidratat (TSC) (Ag NPs-TSC) și D-glucoza (Ag NPs-Glucoză) au fost comparate în două reacții de reducere. Scopul acestei comparații a fost de a determina care metodă oferă nanoparticule mai mici pentru aplicația finală tip hidrogel propusă astfel încât o potențială activitate bactericidă să fie indicată. De asemenea, se va concluziona cum reactivii chimici utilizați interacționează cu sarea metalică în formarea Ag NPs.

Ag NPs fabricate utilizând metodele prezentate au fost caracterizate prin mai multe tehnici astfel încât să poată fi validată cea mai bună sinteză chimică realizată în laborator. Diferite tehnici au fost aplicate pentru o analiză dimensională și structurală în ambele probe. Caracterizarea este un pas important în acest domeniu al biomaterialelor deoarece orice material sau dispozitiv produs trebuie să îndeplinească criteriile specifice odată fabricat. Integritatea și compatibilitatea materialelor propuse sunt esențiale dat fiind scopul medical al produsului final.

2. METODOLOGIA DE SINTEZĂ

Pentru această lucrare, materialele utilizate în ambele sinteze chimice au fost achiziționate de la Sigma-Aldrich, Germania și de la VWR Internaional, America, precum se poate observa în Tabelul 1. Materiale au fost utilizate fără purificare.

Table 1. Materiale utilizate în această cercetare pentru sinteza Ag NPs

Reactiv	Formula chimică	Puritate	Forma
Azotat de argint	AgNO ₃	≥99.8% ACS	pudră
Citrat trisodic dihidratat	C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ ·2H ₂ O	99%	pudră
D-glucoză anhidră	C ₆ H ₁₂ O ₆	96%	pudră
Hidroxid de sodiu	NaOH	97%	pudră
Clorură de sodiu	NaCl	>99%	pudră
Acetonă ultrapură	C ₃ H ₆ O	≥99.5% ACS	lichid

2.1 METODOLOGIA DE SINTEZĂ A Ag NPs UTILIZÂND TSC CA AGENT REDUCĂTOR

Prima sinteză propusă a fost cea pe bază de TSC. În această procedură, TSC a fost utilizat ca agent reducător, dar și ca agent stabilizator în formarea Ag NPs, așadar niciun alt reactiv chimic nu a fost introdus în reacție.

Un total de 50 mL de 10 mM Ag NO₃ a fost încălzit într-un pahar Erlenmeyer până ce punctul de fierbere a fost atins. În paralel, o soluție de TSC 1% a fost obținută și adăugată picătură cu picătură peste soluția de Ag NO₃ prin încălzire și amestecare timp de 10 minute. Amestecarea a fost oprită în momentul în care culoarea s-a transformat în galben, precum se observă în Figura 2 și soluția de Ag NPs a fost lăsată să se răcească la temperatura camerei.

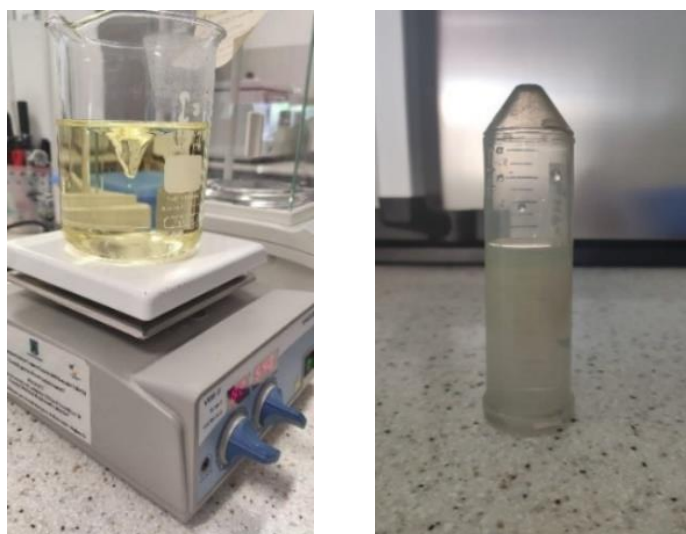


Figura 2. Adăugarea de TSC 1% în AgNO₃ în reacția de reducere și suspensia finală de Ag NPs

Soluția de nanoparticule de argint a fost filtrată utilizând Millex Syringe Pores 0.22 μm de la Sigma-Aldrich. Suspensia finală a fost menținută la temperatura camerei pentru următoarele analize într-un tub de 50 mL, precum se poate observa în Figura 3.

Figura 3 arată fluxul metodologic al sintezei realizate.

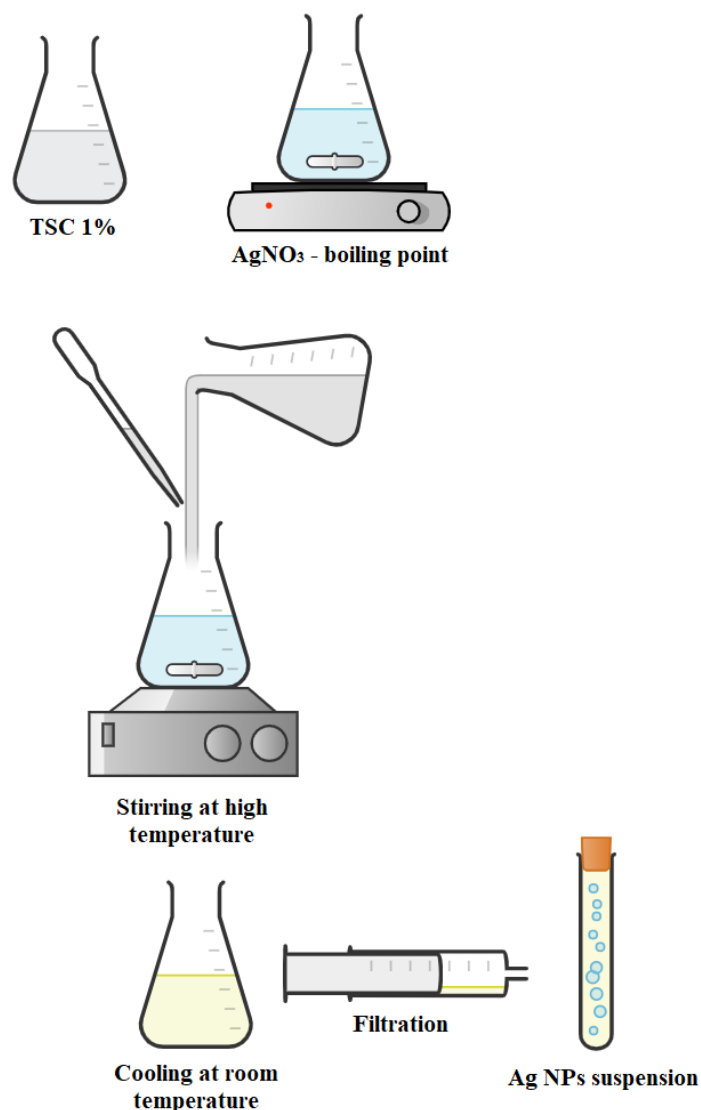
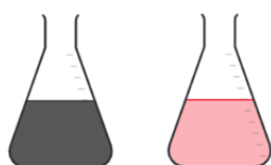


Figura 3. Reducerea TSC în sinteza Ag NPs

2.2. METODOLOGIA SINTEZEI A Ag NPs UTILIZÂND D-GLUCOZĂ CA AGENT REDUCĂTOR

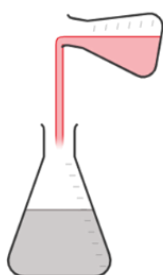
Sinteza realizată a fost pe bază de reducere chimică a AgNO₃ utilizând D-glucoză anhidră 96% și NaOH, precum se poate observa în Figura 4. D-glucoza reduce ionii de argint doar în mediu alcalin, așadar NaOH ajută reducerea chimică fără a influența ceilalți reactivi chimici.

În primul rând, 100 mL de soluție de AgNO_3 5 mM a fost preparată prin dizolvarea completă a pudrei de argint în apă ultrapură pentru 10 minute la temperatura camerei. Al doilea pas a fost pregătirea soluție reducătoare pe bază de D-glucoză ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) și NaOH. Un total de 0.01M de D-glucoză și 0.25 M de NaOH au fost dizolvate în 400 mL apă ultrapură sub agitare magnetică la 82°C timp de 30 de minute. Soluția de argint a fost adăugată treptat în soluția reducătoare până ce culoarea a devenit un galben pal. După 15 minute de agitare, 1.28 M NaCl a fost adăugat în soluție ca agent stabilizator. Ultima parte a sintezei a fost reprezentată de pașii de spălare, realizați cu acetonă ultrapure, înainte ca suspensia să fie uscată la temperatura camerei.



STEP 1:

- (a) Dissolution of AgNO_3 in ultrapure water
- (b) Dissolution of D-glucose and NaOH in ultrapure water



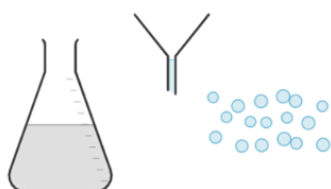
STEP 2:

- Adding the reductive agent solution (b) drop by drop to the silver solution (a)



STEP 3:

- Adding NaCl as stabilizing agent to the final solution obtained



STEP 4:

- Nanoparticles obtained and collected. Further acetone was treatment and drying at room temperature will be performed

Figura 4. Reducerea cu D-glucoză în sinteza Ag NPs

Soluția finală nu a fost filtrată, deoarece în încercarea de a realiza acest pas, filtrele Millex Syringe Pores de $0.22\ \mu\text{m}$ s-au înfundat rapid. Soluția de nanoparticule de argint a fost menținută la temperatura camerei pentru investigații ulterioare.

3. REZULTATE ȘI DISCUȚII: COMPARAȚIE ÎNTRE TSC ȘI D-GLUCOZĂ CA AGENȚI REDUCĂTORI ÎN SINTEZA Ag NPs

Această parte expune o comparație între cele două metode de sinteză propuse în această teză pentru a observa care sinteză este cea care oferă o dimensiune nanometrică în cazul Ag NPs. Metodele de caracterizare au fost aplicate în ambele metode de sinteză cu scopul de a compara diferențele chimice și fizice apărute, dimensiunile și de a observa dacă nanoparticulele pot fi fabricate diferit, dar totuși în dimensiuni nanometrice.

3.1 REZULTATE ATR-FTIR PENTRU Ag NPs-TSC ȘI Ag NPs-GLUCOZĂ

Analiza ATR-FTIR (Spectroscopie de infraroșu cu transformata Fourier cu cristal ATR) a fost realizată pentru a identifica diferitele grupări funcționale și implicațiile lor în sinteza Ag NPs, precum se poate observa în Figura 5 și Figura 6.

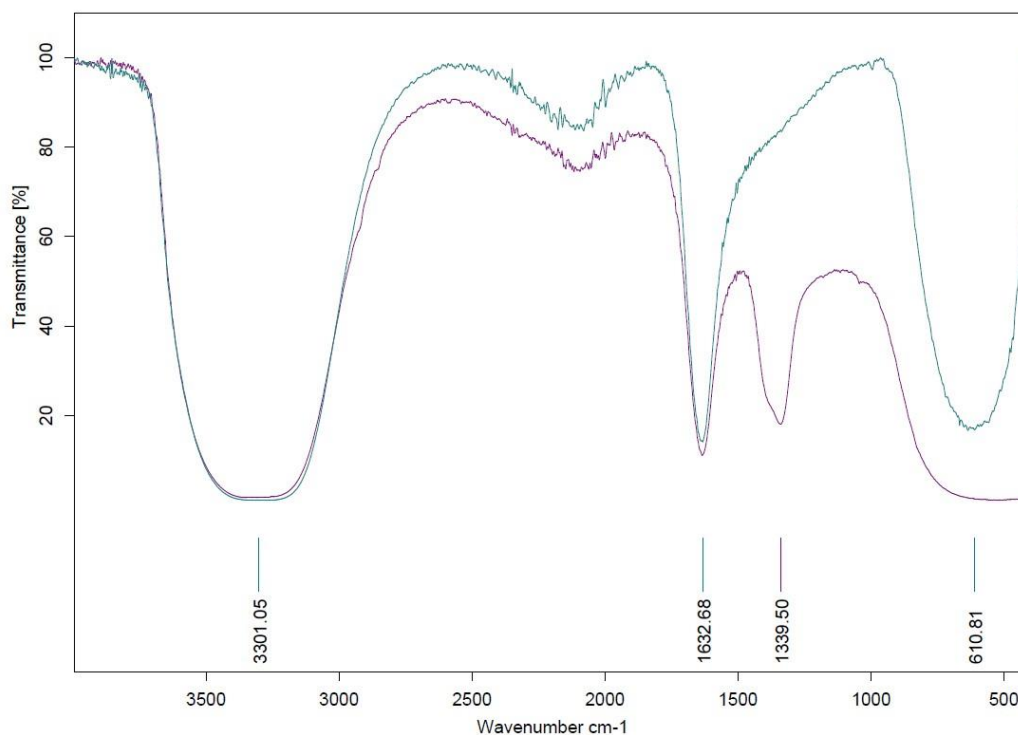


Figura 5. Spectrul ATR-FTIR al suspensiilor apoase AgNO₃ (mov) și al Ag NPs-TSC (verde)

În spectrele Ag NPs-TSC and AgNO₃, la 3301 cm⁻¹ sunt identificate vibrațiile de alungire ale grupărilor O-H și N-H, dat fiind faptul că ele se găsesc în solvenți. Maximul

ascuțit care se observă la 1628 cm^{-1} poate fi corelat cu vibrația moleculei de tip $\text{C}=\text{O}$ care apare în momentul în care agentul reducător acționează și formează legături strânse în jurul nanoparticulelor de argint sau poate fi asociat cu o grupare N-H dintr-o amină. Maximul aflat la 1339 cm^{-1} este un vârf specific care poate fi observat în cazul AgNO_3 . Cel mai important aspect care se observă este dispariția acestui maxim în cazul probei Ag NPs-TSC . Acest rezultat sugerează că nanoparticulele au fost obținute și că AgNO_3 a fost redus. În cazul ultimului maxim, cel de la 610 cm^{-1} , sunt câteva studii în literatură care sugerează o asociere cu o rețea formată din argint bazându-se pe interacțiuni de tipul Ag-Ag [22,23], dar în opinia noastră această rețea este destul de dificil de obținut și de identificat prin analiza FTIR, așadar maximul poate fi asociat cu legături C-H din afara planului care se regăsesc în moleculă [24].

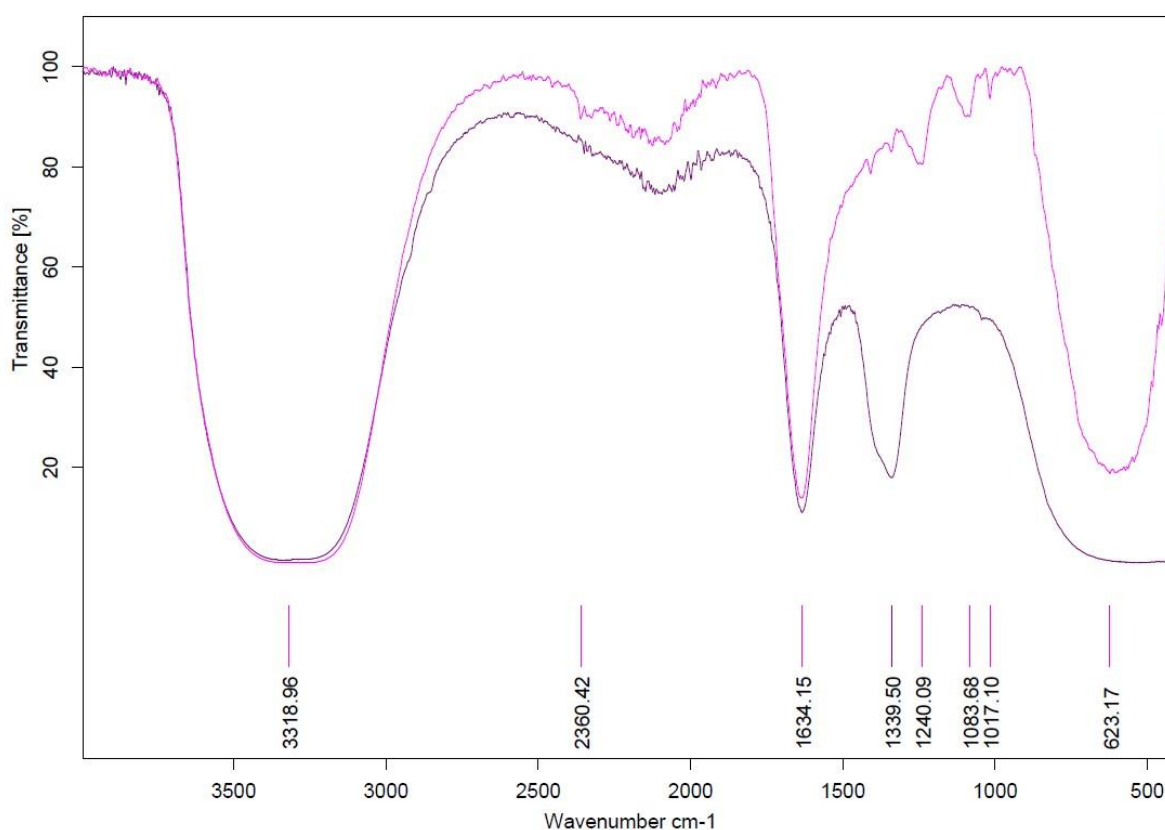


Figura 6. Spectrul ATR-FTIR al suspensiilor apoase AgNO_3 (mov) și al Ag NPs-Glucose (roz)

Spectrul probei Ag NPs-Glucose arată un maxim destul de larg la valoarea de 3318 cm^{-1} asociat cu molecule OH libere regăsite în agentul reducător în procesul de reducere de la Ag^+ la Ag^0 [25, 26]. În cazul AgNO_3 , legăturile -NH- pot fi identificate în urma vibrației moleculelor. La 1634 cm^{-1} maximul poate fi asociat cu gruparea $\text{C}=\text{O}$ sau cu gruparea amino de tip -NH- , în timp ce la 1240 cm^{-1} alungirea specifică grupării -C-

O- este identificată pentru Ag NPs-Glucoză. Maximul aflat la 1339 cm^{-1} este un vârf specific care poate fi observat doar în cazul AgNO_3 , rezultat ce sugerează formarea de Ag NPs. Aceste efecte apar în structura D-glucozei și în interacțiunile ei cu argintul [23, 24, 27]. Reducerea D-glucozei cu NaOH este o bine cunoscută reacție chimică, numită rearanjarea chimică Lobry de Bruyn-van Ekenstein datorită faptului că reacția oferă un amestec de D-glucoză, D-manoză și D-fructoză. Prezența moleculelor OH și C=O este de asemenea explicată prin apariția acestor izomeri în reacția de reducere [28, 29]. Ultimul maxim identificat la 623 cm^{-1} este asociat cu legături C-H. Comparând cu proba anterioară, Ag NPs-TSC și AgNO_3 , în cazul probei Ag NPs-Glucoză se observă că în intervalul 1240 cm^{-1} și 1017 cm^{-1} curba de transmitanță nu este foarte lină. Așadar, o posibilă explicație este reducerea incompletă a ionilor de argint sau obținerea nanoparticulelor în forme diferite.

Rezultatele FTIR au demonstrat că există diferențe între cele două sinteze și între agenții reducători utilizați. Rezultatele au arătat că maximul de la 1339 cm^{-1} , prezent doar în cazul AgNO_3 este absent în suspensiile Ag NPs, așadar reducerea chimică a fost atinsă în ambele cazuri. Celelalte maxime au fost atribuite grupelor funcționale conform literaturii de specialitate. În plus, spectrul obținut în cazul Ag NPs-TSC a arătat rezultate mai promițătoare dat fiind faptul că maximele au fost mai bine definite și au fost identificate valori specifice pentru soluțiile de nanoparticule de argint prin comparație cu Ag NPs-Glucoză.

3.2 REZULTATE UV-VIS ALE Ag NPs-TSC ȘI Ag NPs-GLUCOZĂ

Spectroscopia UV-VIS a fost realizată pentru a scoate în evidență plasmonii de suprafață în cazul nanoparticulelor de argint și pentru a arăta că ionii de argint sunt absenți în cazul suspensiilor finale. Această diferență în prezența ionilor arată că nanoparticulele au fost formate și că precursorul nu se mai află în probele finale.

Figura 7 arată spectrele de absorbție ale AgNO_3 și ale ambelor suspensii de Ag NPs investigate. Linia roșie este asociată cu spectrul AgNO_3 , linia verde reprezintă Ag NPs sintetizate cu TSC, iar linia roz reprezintă Ag NPs sintetizate cu Glucoză.

Examinând Figura 7 poate fi observat că spectrele pentru probe sunt diferite față de spectrul pentru AgNO_3 , ceea ce este un rezultat așteptat. Axa verticală reprezintă absorbția suspensiei și axa orizontală reprezintă lungimea de undă. AgNO_3 prezintă o absorbție ridicată la aproximativ 300 nm care dispare în cazul absorbției ambelor probe. Acest rezultat indică că particulele de argint au fost formate în timpul sintezei și

că AgNO_3 a fost redus. Rezultatul confirmă analiza FTIR realizată în care reducerea AgNO_3 a fost de asemenea observată.

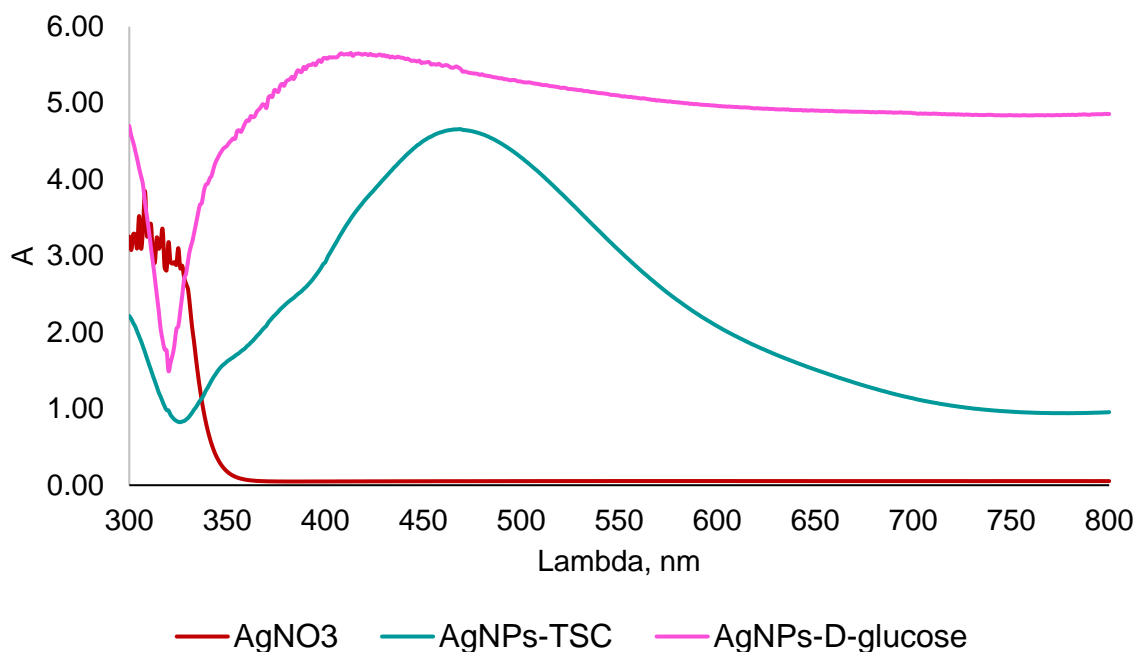


Figura 7. Spectrul de absorbție al suspensiilor AgNO_3 și al ambelor probe Ag NPs

Ambele suspensii de Ag NPs prezintă absorbții pe un interval mai larg al lungimii de undă, dar totuși există o diferență în lățimea maximelor. Proba Ag NPs-TSC prezintă o absorbție mai puternică începând de la 350 nm cu un maxim la aproximativ 460 nm. Lungimea de undă identificată în spectru indică formarea nanoparticulelor de argint, această valoare fiind menționată de majoritatea studiilor din literatură. Rezultatul obținut este consistent cu pozițiile maximelor descoperite în numeroase alte studii [12, 30-33].

Proba Ag NPs-Glucoză prezintă un spectru de absorbție diferit cu un maxim mai larg care sugerează o polidispersitate a suspensiei cu dimensiuni de particule diverse. Totuși, absorbția este regăsită în jurul valorii de 400 nm ceea ce sugerează că și în acest caz particulele de argint au fost formate. Pe baza acestor afirmații, în cazul spectrului UV-VIS pentru Ag NPs-Glucoză a fost sugerat un mix de particule, atât micro, cât și nanoparticule.

Deplasarea falsă apărută la lungimi de undă mai mici în cazul liniei roz induce ideea de nanoparticule mai mici în cazul Ag NPs-Glucoză față de Ag NPs-TSC, dar forma maximului nu este bine definit. Analizele ulterioare vor demonstra că această ipoteză nu este susținută.

3.3 REZULTATE AFM PENTRU Ag NPs-TSC ȘI Ag NPs-GLUCOSE

AFM (Microscopie de Forță Atomică) a fost realizată ca o confirmare a DLS (Dinamica Împrăștierii Luminii) în ceea ce privește rezultatele corelate cu dimensionarea particulelor. Dat fiind faptul că principalul rezultat este obținut din DLS, AFM poate oferi o altă abordare pentru măsurarea dimensiunii, totuși fiind considerat doar o confirmare. Măsurătorile DLS oferă avantajul unui diametru mediu de particulă în întreaga suspensie de argint, în timp ce AFM este aplicat în anumite zone ale probei, nu pe întreaga suprafață.

Mai multe scanări au fost realizate pe diferite regiuni ale probelor sintetizate. O topografie 3D a unei regiuni a Ag NPs-TSC depozitate pe un substrat de mica este prezentată în Figura 8. Aceasta arată o regiune a probei cu 2 nanoparticule identificate în câmp. Z reprezintă înălțimea vârfului cantileverului în timpul scanării și x reprezintă deplasarea orizontală a cantileverului.

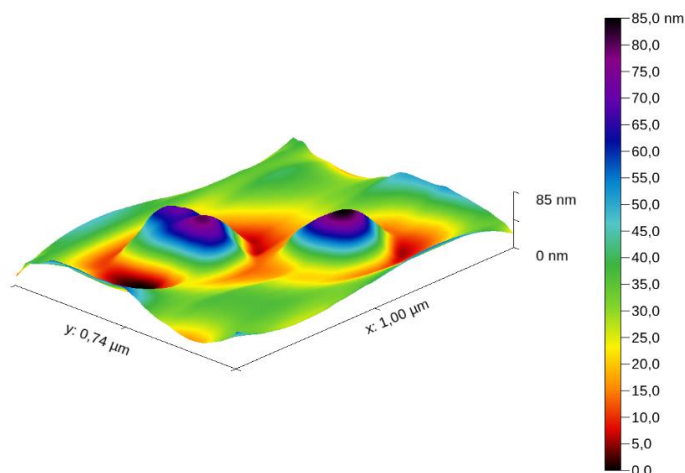


Figura 8. Topografia unei regiuni din probă ilustrând două nanoparticule

Figura 9 arată câteva profile extrase din diferite nanoparticule de pe substrat după scanarea acestora. Poate fi observat că înălțimea profilurilor este diferită, dar totuși în domeniul zecilor de nanometrii, maximul fiind fixat la aproximativ 80 nm.

Un număr total de 29 de profile a fost atent extras din probă și înălțimea fiecărui profil a fost analizat. Înălțimea medie a fost de aproximativ 49 nm pentru proba Ag NPs-TSC și deviația standard a fost de 14 nm, așadar se poate concluziona că diametrul pentru Ag NPs-TSC dat de AFM este de 49 +/-14 nm.

Aceași procedură a fost aplicată pentru Ag NPs-Glucoză unde diametrele nanoparticulelor au fost identificate. Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 2.

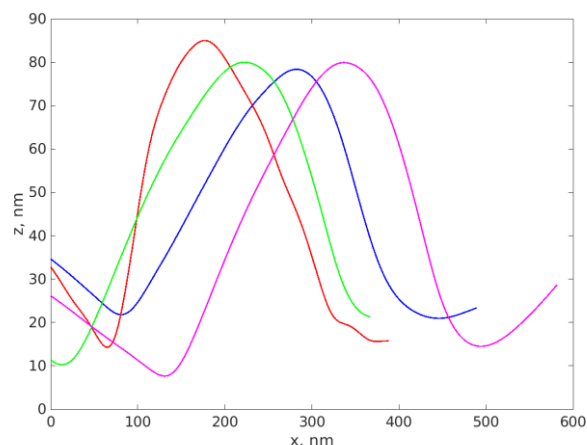


Figura 9. Graficul a patru profile extrase din nanoparticule diferite din proba scanată localizate în zone diferite ale probei

3.4 REZULTATE PRIVIND DIMENSIUNEA DE PARTICULĂ ALE DLS ȘI AFM PENTRU Ag NPs-TSC ȘI Ag NPs-GLUCOSE

Procedura DLS a fost utilizată pentru a procesa seriile temporale înregistrate pe suspensiile probelor Ag NPs. Tabelul 2 descrie diametrul mediu obținut utilizând tehnicile DLS și AFM.

Tabel 2. Diametrele DLS și AFM; erorile obținute în calcularea lor

Număr	Probă	d DLS, nm	Δd DLS, nm	d AFM, nm
1	Ag NPs- Glucoză	1140	107	973
2	Ag NPs-TSC	58	6	49

Tabelul 2 arată rezultatele pentru ambele probe. Se poate concluziona că cele două tehnici de dimensionare confirmă diametrele medii identificate pentru nanoparticulele sintetizate utilizând cele două proceduri de reducere chimică propuse. Rezultatele arată că sinteza pe bază de TSC oferă cele mai mici diametre ale particulelor prin comparație cu sinteza pe bază de glucoză care oferă microparticule de argint, nu nanoparticule. Ambele tehnici sunt consistente din moment ce în toate cazurile rezultatele se corelează.

Aceste rezultate sunt extrem de încurajatoare pentru experimentele ulterioare în testele antibacteriene deoarece efectul bacterian al nanoparticulelor este considerat a fi ce mai puternic prin comparație cu alte dimensiuni de particulă.

III. CERCETRĂRI EXPERIMENTALE

CERCETĂRI EXPERIMENTALE PRIVIND EFECTUL ANTIBACTERIAN AL NANOPARTICULELOR DE ARGINT FUNCȚIONALIZATE

1. SCOPUL CERCETĂRII EXPERIMENTALE

Scopul acestei părți a lucrării este de a expune efectul antibacterian al Ag NPs funcționalizate. Cu scopul de a îndeplini acest obiectiv, Ag NPs au fost funcționalizate cu diferite concentrații de chitosan și utilizând strategii de sinteză diferite. Alegerea chitosanului este susținută de proprietățile sale incredibile dat fiind faptul că este un produs biodegradabil extras din scoici. Funcționalizarea nanoparticulelor va crește biocompatibilitatea lor și timpul lor de eliberare. Funcționalizarea a fost realizată utilizând două protocoale, unul dintre cele două fiind dezvoltat în întregime în laborator în cadrul acestei teze și celălalt fiind unul cunoscut în literatură. Diferența între cele două abordări este dată de agentul reducător introdus în reacție pentru precursorul de argint: TSC (Ag NPs-TSC-Chitosan) versus NaOH (Ag NPs-NaOH-Chitosan).

Susceptibilitatea microorganismelor la Ag NPs-TSC-CH și la Ag NPs-NaOH-CH a fost testată folosind metoda difuziei pe disc.

2. REZULTATE PRIVIND EFECTUL ANTIBACTERIAN

Metode difuziei pe disc a fost realizată utilizând discuri de hârtie sterile achiziționate de la compania Merck pe două tulpini bacteriene *Escherichia coli* (*E. coli*) și *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), precum se poate observa în Figura 10. Discurile încărcate au fost lăsate să se usuce 10 minute înainte de a fi plasate pe suprafața de agar.

Procesul descris în Figura 10 se aplică pentru controale și pentru Ag NPs funcționalizate deoarece pentru rezultate precise controalele trebuie realizate în aceleași condiții ca probele. Controalele sunt reprezentate de toți reactivi utilizați în reacții la concentrațiile menționate. Odată ce testul este realizat, zona de inhibiție apărută în jurul discului încărcat este măsurată și se stabilește, pe baza diametrului acestei zone de inhibiție, care probă are efectul cel mai puternic pe tipul de bacterie testat. Cu cât zona de inhibiție este mai mare, cu atât efectul inhibitor al Ag NPs este mai mare.

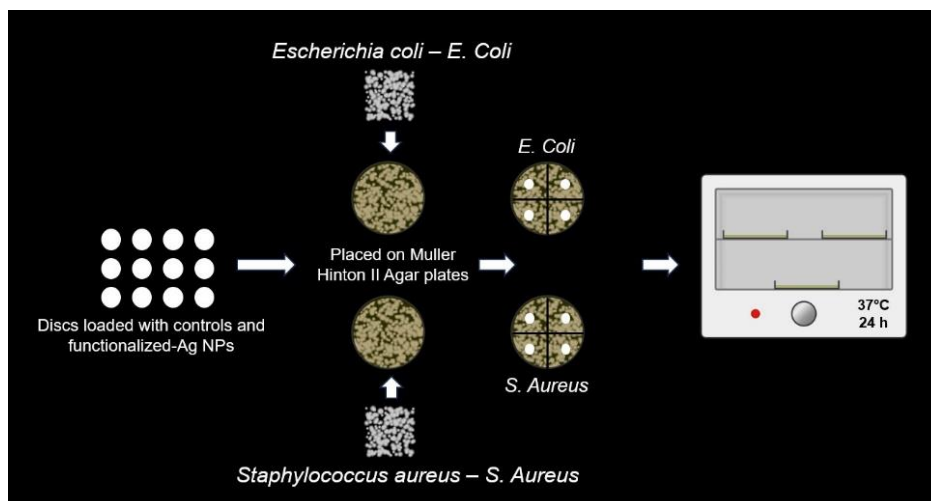


Figura 10. Metoda difuziei pe disc aplicată în testul antibacterian realizat pe Ag NPs funcționalizate

Rezultatele testului antibacterian au demonstrat că în cazul controalelor, nu există nicio zonă de inhibiție în placa Petri, așadar reactivii chimici utilizați în reacții nu au niciun efect asupra *E. Coli* or *S. Aureus*. Testul control a dovedit că orice altă potențială activitate antibacteriană este datorită prezenței nanoparticulelor de argint.

În contrast cu controlul, testul antibacterian realizat pe toate probele descrise în Tabelul 3 utilizând ambele sinteze chimice propuse în această teză, a arătat un efect inhibitor în cazul tuturor probelor.

Tabel 3. Compoziția chimică și descrierea probelor pentru un volum total de 100 mL

Număr	Proba	Chitosan, w/v (%)
1	Ag NP-TSC-CH0.3	0.3
2	Ag NP-TSC-CH0.6	0.6
3	Ag NP-TSC-CH0.9	0.9
4	Ag NP-NaOH-CH0.3	0.3
5	Ag NP-NaOH-CH0.6	0.6
6	Ag NP-NaOH-CH0.9	0.9

Odată ce efectul antibacterian pe *E. Coli* și *S. Aureus* a fost confirmat, diametrele zonelor de inhibiție au fost măsurate utilizând o riglă pentru fiecare tip de tulpină bacteriană și pentru fiecare probă. O zonă de inhibiție mai mare sugerează un efect antibacterian mai mare pentru proba respectivă. Așadar, rezultatele sunt prezentate în Tabelul 4.

Tabel 4. Zonele de inhibiție pentru Ag NPs funcționalizate

Număr	Proba	Zona de inhibiție pentru tulpina de <i>E. Coli</i>	Zona de inhibiție pentru tulpina de <i>S. Aureus</i>
1	Ag NP-TSC-CH03	31 mm	35 mm
2	Ag NP-TSC-CH06	29 mm	33 mm
3	Ag NP-TSC-CH09	30 mm	30 mm
4	Ag NP-NaOH-CH03	31 mm	34 mm
5	Ag NP-NaOH-CH06	29 mm	34 mm
6	Ag NP-NaOH-CH09	29 mm	30 mm

Datele colectate arată că efectul antibacterian cel mai pronunțat este confirmat în probele cu concentrația de chitosan cea mai scăzută, Ag NP-TSC-CH0.3 și Ag NP-NaOH-CH0.3 unde zonele de inhibiție sunt cele mai mari. Între probe nu se identifică diferențe majore pentru aceeași tulpină bacteriană. De exemplu, în cazul *E. Coli*, toate probele prezintă zone de inhibiție similare cu diametre cuprinse între 29 mm-31 mm. În cazul *S. Aureus*, sunt diferențe mici. Cea mai mică concentrație de chitosan a arătat o zonă de inhibiție de 35 mm, în timp ce cea mai mare concentrație a sugerat o zonă de inhibiție de 30 mm.

O diferență reală este observată între cele două tulpini bacteriene. Efectul antibacterian este mai mare pentru *S. Aureus* în comparație cu *E. Coli*. Pentru toate probele, în cazul *S. Aureus* zonele de inhibiție sunt mai mari, începând cu 30 mm.

Acest test calitativ și semi-cantitativ realizat a demonstrat că probele obținute în laborator au capacitatea de a altera bacteriile, așadar integrarea lor în dispozitive medicale ca agenți antibacterini este o abordare posibilă.

IV. CERCETRĂRI EXPERIMENTALE

CERCETĂRI EXPERIMENTALE PRIVIND HIDROGELUL

1. SCOPUL CERCETĂRII EXPERIMENTALE

Scopul întregii cercetări a fost proiectarea și sintetizarea unui hidrogel pe bază de nanoparticule de argint funcționalizate pentru răni infectate și arsuri.

Necesitatea unui hidrogel ca aplicație finală se datorează posibilității de industrializare a acestuia. Fiind un produs proiectat și fabricat în laborator, hidrogelul poate fi obținut la o scară largă cu costuri reduse. Costul redus poate fi justificat de numărul mic de reactivi utilizați, de costul redus al chitosanului și de numărul restrâns de echipamente necesare pentru sinteza sa.

2. HIDROGELUL POLIMERIC

Sinteza hidrogelului a fost realizată utilizând o sinteză chimică pornind de la pudra de chitosan. Utilizând un protocol elaborat în laborator, hidrogelul a fost preparat timp de câteva zile și a fost uscat la temperatură ridicată în cuptor. Figura 11 prezintă rezultatul hidratării hidrogelului polimeric sintetizat în această teză de doctorat drept un dispozitiv medical pentru răni. Rezultatele au dovedit o rezistență crescută a acestui hidrogel în timpul manipulării, așadar produsul cu potențial industrial a fost obținut în timpul tuturor sintezelor realizate.



Figura 11. Hidrogel polimeric hidratat pentru răni

Teza de doctorat abordează subiectul fabricării unui hidrogel ca o necesitate în tratarea infecțiilor. Rănile și infecțiile provocate de arsuri sunt o problemă globală, însă în România numărul de infecții cauzate de bacteriile din spitale este o problemă reală.

Scopul acestei teze de doctorat a fost atins prin îndeplinirea obiectivelor propuse.

În cadrul capitolului II a fost descrisă tehnica *Direct Particle Tracking* care a fost dezvoltată în acest proiect la stadiul de simulări matematice. Cercetarea aplicată realizată în acest stadiu al tezei s-a bazat pe simulări realizate pe suspensii de Ag NPs în care mai multe seturi de analize au fost rulate. Toate cele trei seturi de simulări rulate au arătat că metoda este validă în determinări de dimensiune. Histogramele obținute în urma simulărilor au arătat o distribuție aleatorie a nanoparticulelor utilizând aceleași condiții ca în laborator, iar histogramele distribuției gaussiene au demonstrat că nanoparticulele simulate au fost obținute în intervalul de mărime nanometrică. De la 30 nm la 160 nm, histogramele au arătat distribuții consistente cu valorile utilizate în simulare, așadar a fost dovedită acuratețea metodei.

Procedura a fost testată și pe probe experimentale în laborator, pe suspensii de nanoparticule de argint dizolvate în apă ultrapură. Această cercetare este în dezvoltare din cauza faptului că în cavitatea unde proba este introdusă apar curenți convecționali care pot crea artefacte în procesul de difuzie. O posibilitate a apariției acestor curenți poate fi legată de puterea laserului care lovește proba, așadar pasul următor este reducerea dimensiunii și a grosimii cavității probei, dar și diminuarea puterii laserului.

În cadrul capitolului III a fost prezentată comparația sintezelor nanoparticulelor de argint pe baza rezultatelor caracterizării. Au fost studiate caracteristicile dimensionale și chimice ale nanoparticulelor obținute. Nanoparticulele de argint au fost sintetizate pornind de la precursori în două moduri diferite: o reducere chimică utilizând citratul trisodic dihidratat și o reducere chimică pe bază de D-glucoză. Printr-o analiză comparativă, a fost demonstrat că nanoparticulele obținute utilizând citratul trisodic dihidratat sunt mai mici comparativ cu cele obținute utilizând glucoză. Analizele ATR-FTIR și UV-VIS au confirmat formarea nanoparticulelor de argint, fapt sugerat de modificările apărute în spectrul FTIR. Rezultatele din spectrele UV-VIS au arătat maxime specifice în cazul ambelor sinteze, totuși un maxim ascuțit și bine definit în

jurul valorii de 460 nm a fost identificat în cazul nanoparticulelor sintetizate cu citratul trisodic dihidratat. Măsurătorile DLS au demonstrat o diferență majoră între cele două metode. Nanoparticulele pe bază de citrat trisodic dihidratat au fost măsurate la aproximativ 58 nm, în timp ce reducția pe bază de glucoză a dus la obținerea nanoparticulelor cu dimensiuni până la 1 micron. Acest aspect a fost confirmat de măsurătorile AFM, unde diferența dintre nanoparticule a fost similară: 49 nm versus 943 nm. Dimensiunile reduse obținute în urma reducției pe bază de citrat trisodic încurajează utilizarea acestor nanoparticule în aplicații biomedicale, mai precis în aplicații antibacteriene unde efectul este mai mare odată ce nanoparticulele se regăsesc în domeniul nano.

În cadrul capitoului IV a fost expus procesul de funcționalizare al nanoparticulelor de argint. În vederea funcționalizării, două protocoale au fost stabilite: un protocol stabilit în cadrul acestei teze de doctorat și un protocol clasic pentru funcționalizarea cu chitosan. Alegerea chitosanului s-a datorat efectului de creștere al biocompatibilității nanoparticulelor de argint dat fiind faptul că ele sunt particule metalice. Au fost stabilite trei concentrații de chitosan în fiecare sinteză pentru a observa dacă acest parametru poate influența dimensiunile nanoparticulelor și efectul lor antibacterian: 0.3%, 0.6% și 0.9%. Ambele protocoale sunt pe bază de funcționalizare chimică, dar totuși condițiile și reactivii utilizați sunt diferiți. Prima funcționalizare realizată a fost pe bază de chitosan și citrat trisodic dihidratat. Cea de-a doua funcționalizare, tratamentul clasic din literatură, a fost pe bază de chitosan și NaOH. Comparația între cele două metode a fost realizată analizând diferențele obținute după caracterizare. Rezultatele ATR-FTIR au arătat că în cazul ambelor sinteze, reducerea precursorului AgNO_3 a fost completă deoarece maximul specific acestuia în jurul valorii de 1339 cm^{-1} nu mai este detectat în spectrele probelor. De asemenea, funcționalizarea cu chitosan este sugerată de analiza FTIR, totuși acest rezultat necesită confirmarea și a altor tehnici. Așadar, analiza UV-VIS a expus formarea nanoparticulelor astfel încât în reacție nu s-au identificat ioni de argint în niciun spectru al probelor. În cazul Ag NPs-TSC-CH maximele obținute în rezultatele UV-VIS au demonstrat prezența nanoparticulelor de argint deoarece absorbția lor a debutat în jurul valorii de 350 nm cu un maxim atins la 420 nm. Pentru proba Ag NPs-NaOH-CH maximul specific obținerii de nanoparticule a fost înregistrat la 420 nm, o valoare specifică sintetizării de Ag NPs, dar care este totuși mai mare comparativ cu probele Ag NPs-TSC-CH. Această observație a sugerat deja o diferență între dimensiunile nanoparticulelor, deci au fost realizate măsurătorile DLS. Din moment ce tehnica DLS este o metodă de determinare a dimensiunii,

vâscozitatea fiecare probei este necesară. Proprietățile reologice ale tuturor celor șase probe au fost testate și vâscozitățile lor au fost determinate. S-a putut concluziona că odată ce concentrația de chitosan crește, vâscozitatea crește și ea. Măsurătorile DLS au confirmat observațiile din analiza UV-VIS. Pentru probele Ag NPs-TSC-CH au fost înregistrate dimensiuni ale nanoparticulelor mai mici față de sinteza prin tratamentul clasic: 53 nm pentru chitosan 0.3%, 72 nm pentru chitosan 0.6% și 55 nm pentru chitosan 0.9%. Pentru aceleași concentrații de chitosan, probele Ag NPs-NaOH-CH au prezentat dimensiuni de 14 nm, 73 nm și 317 nm, așadar o diferență destul de mare. În ceea ce privește caracterizarea fizico-chimică, probele Ag NPs-TSC-CH s-au dovedit a fi mai potrivite pentru aplicația finală a acestei teze de doctorat deoarece dimensiunile lor au fost similare ca valori și metoda a fost mult mai precisă. Testele antibacteriene au fost realizate pentru ambele sinteze propuse. După caracterizarea lor, efectul antibacterian pentru cele două sinteze a fost testat utilizând metoda difuziei pe disc pe două tulpini bacteriene: o bacterie Gram-negativă, *Escherichia coli* și o bacterie Gram-pozitivă, *Staphylococcus aureus*. În acest test antibacterian, prima analiză a fost realizată pe controale pentru a exclude implicarea lor în inhibarea bacteriilor. Testul antibacterian realizat pe TSC 1%, NaOH 0.1M și pe chitosan 0.3% nu a demonstrat, în cazul niciunei tulpini bacteriene, nicio inhibiție, așadar efectul antibacterian poate fi asociat doar cu nanoparticulele de argint funcționalizate. Testul pe Ag NPs-TSC-CH a arătat că aceste nanoparticule pot inhiba proliferarea bacteriană prin identificarea unui halou de dimensiuni mari în jurul discurilor impregnate în cazul ambelor plăci Petri cu bacteriile *Escherichia coli* și *Staphylococcus aureus*. Haloul este asociat cu zona de inhibiție care a fost în jur de 30 mm pentru ambele bacterii. Cea mai mică concentrație de chitosan a dovedit a avea cel mai puternic efect pentru ambele microorganisme deoarece zona de inhibiție a fost cea mai mare ca diametru. Probele Ag NPs-NaOH-CH au demonstrat un efect bacterian puternic de asemenea, astfel încât diametrele zonelor de inhibiție ale acestora au fost similare cu cele ale Ag NPs-TSC-CH. Din acest punct de vedere, nu au fost identificate diferențe majore între cele două protocoale, chiar dacă dimensiunile au fost diferite. Totuși, o diferență semnificativă a fost obținută între cele două tulpini, *Escherichia coli* și *Staphylococcus aureus*. În cazul *Staphylococcus aureus*, efectul antibacterian a fost mai puternic deoarece zona de inhibiție a fost mai mare ca diametru pentru ambele protocoale de funcționalizare. Odată ce caracterizările au fost finalizate, proba Ag NP-TSC-CH0.3 a fost aleasă pentru viitoarele aplicații deoarece a prezentat cel mai puternic efect

antibacterian pentru ambele tulpini bacteriene și deoarece particulele, în cazul ei, prezentau dimensiunea dorită de aproximativ 50 nm.

În cadrul capitolului V a fost descrisă aplicația finală a acestei cercetări. Un hidrogel pe bază de chitosan cu nanoparticule de argint funcționalizate cu chitosan (Ag NP-TSC-CH0.3) a fost obținut și analizat prin microscopie optică utilizând un microscop cu o cameră 4k atașată. Așadar, observațiile în timp real și video-urile realizate pentru hidrogel au arătat umbre ale nanoparticulelor în toate straturile acestuia. Din păcate, microscopia optică nu este de ajuns pentru a afirma identificarea nanoparticulelor individuale, însă prezența lor este confirmată. Teste viitoare realizate pe hidrogelul obținut în această teză de doctorat vor fi realizate pentru a analiza în detaliu proprietățile sale și morfologia sa.



În ceea ce privește metoda *Direct Particle Tracking*, experimentele viitoare se vor concentra asupra eliminării curenților apăruți în cavitatea mică a probei, astfel încât doar mișcarea particulelor difuzate să fie înregistrată cu programul software dezvoltat care a demonstrat rezultate optime în simulări. Așadar, experimentele în laborator vor fi realizate pe nanoparticulele de argint obținute.

Funcționalizarea nanoparticulelor de argint utilizând diferiți compuși și determinarea efectului lor antibacterian este o altă strategie menționată ca direcție viitoare de cercetare deoarece a fost demonstrat că dezvoltarea unui protocol nou în laborator poate duce la rezultate promițătoare.

O altă strategie care va fi continuată este cea de testarea și sintetizarea hidrogelului. În această teză de doctorat a fost utilizată o temperatură de uscare ridicată, motiv pentru care o posibilă agregare a nanoparticulelor în aglomerate trebuie luată în considerare. Modificarea parametrilor în reacție este o direcție viitoare de cercetare. În plus, o caracterizare detaliată a hidrogelului va fi de ajutor în înțelegerea mai bună a mecanismului de integrare al nanoparticulelor în matricea de chitosan, așadar cercetările viitoare vor clarifica acest aspect.



Prezenta teză de doctorat a contribuit la îmbunătățirea domeniilor științei materialelor și al ingineriei industriale prin informația relevantă adusă și prin cercetarea experimentală în sinteza de nanoparticule, în funcționalizarea lor și în proiectarea unui posibil produs comercial pe bază de hidrogel.

Contribuțiile personale principale care rezultă din această teză de doctorat sunt:

1. Dezvoltarea unei tehnici de caracterizare inovatoare, *Direct Particle Tracking*, pentru determinări de dimensiuni precise ale nanoparticulelor pe baza difuziei lor.
2. Cercetarea experimentală privind comparația realizată pe cele două sinteze chimice ale nanoparticulelor de argint.
3. Caracterizarea fizico-chimică în ceea ce privește dimensiunea utilizând tehnica DLS personalizată în laborator și tehnica AFM, deoarece, în general, microscopia electronică este utilizată în determinările de dimensiune. Această teză a propus o altă abordare pentru determinări de dimensiune.
4. Propunerea unui protocol personalizat pe bază de citrat trisodic dihidratat și chitosan pentru funcționalizarea nanoparticulelor de argint.
5. Cercetarea experimentală privind o comparație a caracterizării fizico-chimice și a efectelor antibacteriene pentru ambele abordări de funcționalizare pe bază de diferite soluții de chitosan pentru nanoparticulele de argint.
6. Conceperea, proiectarea și fabricarea unui hidrogel polimeric cu cost redus, ușor de manipulat care ar putea fi industrializat ca un produs medical.

LISTA DE PUBLICAȚII, CONFERINȚE ȘI PARTICIPĂRI ÎN PROIECTE INTERNAȚIONALE

* LISTA DE ARTICOLE PUBLICATE ÎN JURNALE WoS

1. **Nicolae-Maranciuc Alexandra**, Chicea Dan, Chicea Liana Maria. *Ag nanoparticles for biomedical applications - Synthesis and characterization - A review*. International Journal of Molecular Sciences **2022**, 23, 5778.

DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23105778>

INDEX: WoS, IF 5.924 Q1, AIS Q2

2. Chicea Dan, **Nicolae-Maranciuc Alexandra***, Doroshkevich Aleksandr S, Chicea Liana Maria, Ozkendir Osman Murat. *Comparative Synthesis of Silver Nanoparticles: Evaluation of Chemical Reduction Procedures, AFM and DLS Size Analysis*. Materials **2023**, 16, 5244.

DOI: <https://doi.org/10.3390/ma16155244>

INDEX: WoS, IF 3.4 Q2, AIS Q1

*Autor corespondent

* LISTA DE ARTICOLE PUBLICATE ÎN ALTE BAZE DE DATE

1. Chicea Dan, Codescu Mirela Maria, **Nicolae Alexandra**, Doroshkevych Oleksandr, Islamov Akhmed, Kulik Mirosław. *Nanoparticles Size Distribution Assessment During Early Synthesis Stages*. MATEC Web Conf. **2021**, 343 01005.

DOI: <https://doi.org/10.1051/matecconf/202134301005>

* LISTA DE LUCRĂRI DE CONFERINȚE

1. Chicea Dan, **Maranciuc Alexandra**. *Direct Optical Particle Tracking for Particle Size Distribution Assessment*. 8th International Conference on Sensors Engineering and Electronics Instrumentation Advances (SEIA' 2022), 21-23 September **2022**, Corfu, Greece, p. 203-210, ISBN: 978-84-09-43854-9

* PREZENTĂRI ORALE LA CONFERINȚE INTERNAȚIONALE ALE AUTORULUI TEZEI

1. Chicea Dan, Codescu Mirela Maria, **Nicolae Alexandra**, Doroshkevych Oleksandr, Islamov Akhmed, Kulik Mirosław. *Nanoparticles Size Distribution Assessment During Early Synthesis Stages*. 10th International Conference on Manufacturing Science and Education (MSE 2021), 02-04 June **2021**, Sibiu, Romania

2. Chicea Dan; **Maranciuc Alexandra**. *Ag-Nps for biomedical applications- synthesis and characterization*. 20th International Balkan Workshop on Applied Physics and Materials Science (IBWAP 2022), 12-15 July **2022**, Constanta, Romania

3. Chicea Dan; **Nicolae-Maranciuc Alexandra**. *Using direct particle tracking to assess Fe₃O₄*. 2nd World Conference on Materials Science and Nanotechnology, 26-28 May **2023**, Brussels, Belgium

4. Chicea Dan; Neague Petru.; **Nicolae-Maranciuc Alexandra**. *A dimensional and structural characterization of Ag-Nps*. 21st International Balkan Workshop on Applied Physics and Materials Science (IBWAP 2023), 11-14 July **2023**, Constanta, Romania

* PREZENTĂRI POSTER LA CONFERINȚE INTERNAȚIONALE ALE AUTORULUI TEZEI

1. Chicea Dan; **Maranciuc Alexandra**. *Direct Optical Particle Tracking for Particle Size Distribution Assessment*. 8th International Conference on Sensors Engineering and Electronics Instrumentation Advances (SEIA' 2022), 21-23 September **2022**, Corfu, Greece

2. **Maranciuc Alexandra**; Chicea Dan; Codescu Mirela Maria. *A comparison of silver micro and nanoparticles with different synthesis methods*. 5th International Conference on Emerging Technologies in Materials Engineering (EmergeMAT), 27-28 October **2022**, Bucharest, Romania

* **POSTERE**

1. Chicea Dan; **Maranciuc Alexandra**; Olaru Sorin. *Nanoparticles size distribution assessment by Direct Optical Particle Tracking*. TIM 22 Physics Conference, 23-25 November **2022**, Timisoara, Romania

* **PARTICIPĂRI ÎN PROGRAME INTERNAȚIONALE PENTRU DOCTORANZI**

1. Visiting PhD student in an international exchange programme at **Institute of Human Genetics PAS in Poznan, POLAND** from 28 March to 1 April **2022**.

2. Participation at **European School On Nanosciences & Nanotechnologies (ESONN 2023)** at **Université Grenoble Alpes in Grenoble, FRANCE** from 27 August to 9 September **2023**: participation in lectures and practical works.

* **PARTICIPĂRI ÎN PROIECTE DE CERCETARE CA MEMBRU ÎN ECHIPĂ**

1. International project between Joint Institute Nuclear Research, Dubna and Romania (**2021**):

Study of spatial distribution of particles in liquid media with different water content and energy parameters of ZrO₂ nanopowder dispersion system using DLS and SANS methods

2. Excellence Hasso Plattner (LBUS-HPI-ERG-2020-07) grant from Lucian Blaga University of Sibiu (**2021-2022**):

Development of advanced numerical algorithms and robust computational protocols for dimensional and structural characterization of nanostructures

1. Khan, I.; Saeed, K.; Khan, I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian journal of chemistry*. **2019**, *12*, 908-931.
2. Dolez, P.I. Nanomaterials definitions, classifications, and applications. In *Nanoengineering*; Elsevier: 2015; pp. 3-40.
3. Jeevanandam, J.; Barhoum, A.; Chan, Y.S.; Dufresne, A.; Danquah, M.K. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein journal of nanotechnology*. **2018**, *9*, 1050-1074.
4. Chaturvedi, S.; Dave, P.N. Nanomaterials: Environmental, human health risk. In *Handbook of nanomaterials for industrial applications*; Elsevier: 2018; pp. 1055-1062.
5. Mathur, P.; Jha, S.; Ramteke, S.; Jain, N. Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*. **2018**, *46*, 115-126.
6. 14. Liu, Y.; Mai, S.; Li, N.; Yiu, C.K.; Mao, J.; Pashley, D.H.; Tay, F.R. Differences between top-down and bottom-up approaches in mineralizing thick, partially demineralized collagen scaffolds. *Acta biomaterialia*. **2011**, *7*, 1742-1751.
7. 15. Kargozar, S.; Mozafari, M. Nanotechnology and Nanomedicine: Start small, think big. *Materials Today: Proceedings*. **2018**, *5*, 15492-15500.
8. Fu, X.; Cai, J.; Zhang, X.; Li, W.-D.; Ge, H.; Hu, Y. Top-down fabrication of shape-controlled, monodisperse nanoparticles for biomedical applications. *Advanced drug delivery reviews*. **2018**, *132*, 169-187.
9. Kumar, S.S.D.; Rajendran, N.K.; Houreld, N.N.; Abrahamse, H. Recent advances on silver nanoparticle and biopolymer-based biomaterials for wound healing applications. *International journal of biological macromolecules*. **2018**, *115*, 165-175.
10. Mathur, P.; Jha, S.; Ramteke, S.; Jain, N. Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*. **2018**, *46*, 115-126.
11. Deshmukh, S.P.; Patil, S.; Mullani, S.; Delekar, S. Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. *Materials Science and Engineering: C*. **2019**, *97*, 954-965.
12. Marinescu, L.; Ficai, D.; Oprea, O.; Marin, A.; Ficai, A.; Andronescu, E.; Holban, A.-M. Optimized Synthesis Approaches of Metal Nanoparticles with Antimicrobial Applications. *Journal of Nanomaterials*. **2020**, *2020*.
13. Ankamwar, B., *Size and shape effect on biomedical applications of nanomaterials*, in *Biomedical Engineering-Technical Applications in Medicine*. 2012, IntechOpen: London, United Kingdom. p. 93-114.
14. Pal, S.; Tak, Y.K.; Song, J.M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium Escherichia coli. *Applied and environmental microbiology*. **2007**, *73*, 1712-1720.
15. 51. Vo, Q.K.; Phung, D.D.; Vo Nguyen, Q.N.; Hoang Thi, H.; Nguyen Thi, N.H.; Nguyen Thi, P.P.; Bach, L.G.; Van Tan, L. Controlled Synthesis of Triangular Silver Nanoplates by Gelatin-Chitosan Mixture and the Influence of Their Shape on Antibacterial Activity. *Processes*. **2019**, *7*, 873.
16. 52. Morones, J.R.; Elechiguerra, J.L.; Camacho, A.; Holt, K.; Kouri, J.B.; Ramírez, J.T.; Yacaman, M.J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*. **2005**, *16*, 2346.
17. Osonga, F.J.; Akgul, A.; Yazgan, I.; Akgul, A.; Eshun, G.B.; Sakhaee, L.; Sadik, O.A. Size and shape-dependent antimicrobial activities of silver and gold nanoparticles: a model study as potential fungicides. *Molecules*. **2020**, *25*, 2682.
18. Nicolae, A.; Grumezescu, A.M., *Recent progress in polyester-urethanes*, in *Materials for Biomedical Engineering*. 2019, Elsevier. p. 409-423.
19. Bruna, T.; Maldonado-Bravo, F.; Jara, P.; Caro, N. Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Applications. *International Journal of Molecular Sciences*. **2021**, *22*, 7202.
20. Brück, W.M.; Slater, J.W.; Carney, B.F. Chitin and chitosan from marine organisms. *Chitin, chitosan, oligosaccharides and their derivatives: biological activities and applications*. Taylor & Francis, Boca Raton. **2010**, 11-19.
21. Rodríguez-Rodríguez, R.; Velasquillo-Martínez, C.; Knauth, P.; López, Z.; Moreno-Valtierra, M.; Bravo-Madriral, J.; Jiménez-Palomar, I.; Luna-Bárcenas, G.; Espinosa-Andrews, H.; García-Carvajal, Z.Y. Sterilized chitosan-based composite hydrogels: Physicochemical characterization and in vitro cytotoxicity. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. **2020**, *108*, 81-93.
22. Fayaz, A.M.; Balaji, K.; Girilal, M.; Yadav, R.; Kalaichelvan, P.T.; Venketesan, R. Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. **2010**, *6*, 103-109.

23. Dayakar, T.; Rao, K.V.; Park, J.; Sadasivuni, K.K.; Rao, K.R. Non-enzymatic biosensing of glucose based on silver nanoparticles synthesized from *Ocimum tenuiflorum* leaf extract and silver nitrate. *Materials Chemistry and Physics*. **2018**, *216*, 502-507.
24. Setyaningrum, D.; Riyanto, S.; Rohman, A. Analysis of corn and soybean oils in red fruit oil using FTIR spectroscopy in combination with partial least square. *International Food Research Journal*. **2013**, *20*, 1977-1981.
25. Awad, M.A.; Eid, A.M.; Elsheikh, T.M.; Al-Faifi, Z.E.; Saad, N.; Sultan, M.H.; Selim, S.; Al-Khalaf, A.A.; Fouda, A. Mycosynthesis, characterization, and mosquitocidal activity of silver nanoparticles fabricated by *Aspergillus niger* strain. *Journal of Fungi*. **2022**, *8*, 396.
26. Gul, A.; Fozia; Shaheen, A.; Ahmad, I.; Khattak, B.; Ahmad, M.; Ullah, R.; Bari, A.; Ali, S.S.; Alobaid, A. Green synthesis, characterization, enzyme inhibition, antimicrobial potential, and cytotoxic activity of plant mediated silver nanoparticle using *Ricinus communis* leaf and root extracts. *Biomolecules*. **2021**, *11*, 206.
27. Singh, P.; Mijakovic, I. Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles Is Stronger If the Production Host and the Targeted Pathogen Are Closely Related. *Biomedicines*. **2022**, *10*, 628.
28. Sowden, J.C.; Schaffer, R. The Reaction of D-Glucose, D-Mannose and D-Fructose in 0.035 N Sodium Hydroxide at 35°. *Journal of the American Chemical Society*. **1952**, *74*, 499-504.
29. 257. Nagasawa, T.; Sato, K.; Shimada, Y.; Kasumi, T. Efficient conversion of D-glucose to D-fructose in the presence of organogermanium compounds. *Journal of Applied Glycoscience*. **2016**, *63*, 39-45.
30. Fu, L.-M.; Hsu, J.-H.; Shih, M.-K.; Hsieh, C.-W.; Ju, W.-J.; Chen, Y.-W.; Lee, B.-H.; Hou, C.-Y. Process Optimization of Silver Nanoparticle Synthesis and Its Application in Mercury Detection. *Micromachines*. **2021**, *12*, 1123.
31. 239. Kelly, K.L.; Coronado, E.; Zhao, L.L.; Schatz, G.C. The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment. *The Journal of Physical Chemistry B*. **2003**, *107*, 668-677.
32. 240. Wiley, B.; Sun, Y.; Mayers, B.; Xia, Y. Shape-Controlled Synthesis of Metal Nanostructures: The Case of Silver. *Chemistry – A European Journal*. **2005**, *11*, 454-463.
33. Abkhalimov, E.V.; Ershov, V.A.; Ershov, B.G. “Pure” silver hydrosol: nanoparticles and stabilizing carbonate ions. *Journal of Nanoparticle Research*. **2019**, *21*, 93.