



**Universitatea Națională de Știință și Tehnologie
POLITEHNICA din București
Școala doctorală de Inginerie Chimică și
Biotehnologii**



Teză de doctorat

Biomateriale pe bază de produse apicole pentru regenerarea țesutului dermic

Coordonator:

Prof. Dr. Ing. Ecaterina ANDRONESCU

Doctorand:

Corina Dana DUMITRU

Bucuresti

2025

Cuprins

I. Stadiul actual al dezvoltării în domeniu.....	3
<i>Scopul tezei si obiectivele acesteia</i>	<i>5</i>
II. Contribuții originale	7
1..... <i>Sisteme pe bază de colagen cu tinctură de propolis pentru ingineria țesutului dermic</i>	<i>7</i>
2. <i>Biomateriale pe bază de produse apicole și eficiența lor în regenerarea țesuturilor moi ...</i>	<i>10</i>
3. <i>Filme compozite antimicrobiene pe bază de alginat–chitosan cu miere, propolis, lăptișor de matcă și nanoparticule de argint obținute prin sinteză verde.....</i>	<i>16</i>
III. Concluzii generale	23
<i>Perspective de viitor</i>	<i>24</i>
<i>Lista de publicații</i>	<i>25</i>
<i>Participari la conferințe</i>	<i>25</i>
<i>Premii.....</i>	<i>26</i>
<i>Bibliografie selectiva</i>	<i>27</i>

I. Stadiul actual al dezvoltării în domeniu

Creșterea continuă la nivel global a leziunilor cutanate – fie ele cauzate de traumatisme, arsuri, răni cronice sau intervenții chirurgicale – a intensificat cererea pentru strategii avansate și eficiente de vindecare a rănilor. Ingineria tisulară dermică a devenit un domeniu esențial al medicinei regenerative, având ca scop dezvoltarea de materiale biocompatibile și bioactive care pot restabili integritatea pielii, preveni infecțiile și stimula regenerarea rapidă a țesuturilor. Cu toate acestea, multe dintre materialele convenționale utilizate în îngrijirea rănilor sunt pe bază de substanțe sintetice, care adesea nu sunt biocompatibile, pot provoca reacții adverse sau contribuie la apariția rezistenței la antibiotice din cauza utilizării excesive a agenților antimicrobieni.

În acest context, biomaterialele naturale, în special cele derivate din produsele apicole, oferă o alternativă extrem de promițătoare [1-3].

Problema abordată în această teză se concentrează pe dezvoltarea de biomateriale noi pentru ingineria tisulară dermică, cu un accent special pe înlocuirea agenților activi sintetici convenționali cu compuși bioactivi naturali. Motivația acestei abordări derivă din conștientizarea tot mai mare a limitărilor și posibilelor efecte adverse asociate cu substanțele sintetice utilizate frecvent în îngrijirea rănilor – cum ar fi reacțiile alergice, vindecarea întârziată, citotoxicitatea și apariția bacteriilor rezistente la antibiotice.

În contrast, produsele naturale, în special cele derivate din activitatea albinelor – cum ar fi lăptișorul de matcă, propolisul și mierea – constituie o sursă bogată de molecule biologice active cu proprietăți terapeutice bine documentate. Acestea includ efecte antimicrobiene, antiinflamatorii, antioxidante și regenerative, esențiale pentru o vindecare optimă a rănilor. Prin integrarea acestor compuși în matrici biopolimerice, cum ar fi chitosanul sau alți purtători biocompatibili, devine posibilă dezvoltarea de materiale compozite care nu doar sprijină repararea tisulară, ci și reduc riscul de infecție și reacții adverse, datorită originii naturale și biocompatibilității acestora [4-7].

Această teză susține că utilizarea produselor apicole în locul substanțelor sintetice nu doar că se aliniază principiilor chimiei verzi și designului sustenabil al biomaterialelor, ci și amplifică potențialul terapeutic al pansamentelor pentru răni. Obiectivul este crearea unor materiale care să fie mai sigure, mai eficiente și mai bine tolerate de organismul uman, menținând – sau chiar depășind – performanțele alternativelelor sintetice existente.

Substanțele derivate din albine, cum ar fi lăptișorul de matcă, propolisul și mierea, sunt recunoscute pe scară largă pentru proprietățile lor terapeutice, incluzând efecte antimicrobiene,

antiinflamatorii, antioxidante și de regenerare tisulară. Acești compuși bioactivi oferă o alternativă naturală, sustenabilă și biocompatibilă la agenții sintetici utilizați frecvent în îngrijirea convențională a rănilor. Utilizarea lor în această lucrare este motivată de interesul tot mai mare pentru materiale biologice active, care se aliniază principiilor sintezei verzi și medicinei regenerative.

Cercetarea se concentrează pe integrarea acestor produse apicole într-o matrice biopolimerică – cum ar fi collagenul, chitosanul și alginatul de sodiu – pentru a crea un material compozit adecvat aplicațiilor dermice. Chitosanul, cunoscut pentru excelențele sale proprietăți de biocompatibilitate, biodegradabilitate și suport în procesul de vindecare a rănilor, acționează ca un suport versatil care sporește eficiența compușilor bioactivi încorporați. Materialele rezultate sunt concepute pentru a avea proprietăți multifuncționale: promovarea proliferării celulare, stimularea activității collagenului și keratinocitelor, modularea răspunsurilor inflamatorii și asigurarea unei protecții antibacteriene eficiente [8-10].

Lăptișorul de matcă contribuie în mod special la vindecarea rănilor prin conținutul său de defensină-1, care stimulează migrarea keratinocitelor și exprimarea MMP-9 — procese esențiale pentru reepitelizare. Acidul 10-HDA, un acid gras principal din lăptișorul de matcă, prezintă activitate antimicrobiană cu spectru larg și modulează expresia genelor implicate în inflamație. Propolisul, bogat în flavonoide și compuși fenolici, oferă o activitate antimicrobiană și antioxidantă puternică, în timp ce mierea susține hidratarea țesuturilor, inhibă dezvoltarea bacteriană și favorizează debridarea autolitică.

Împreună, acești agenți naturali manifestă efecte sinergice, sporind potențialul regenerativ al pansamentului și reducând riscul de infecție. Prin valorificarea activităților biologice intrinseci ale produselor apicole și integrarea acestora într-o platformă avansată de biomateriale, această lucrare aduce o contribuție semnificativă în domeniul ingineriei biomedicale bazate pe produse naturale. Rezultatele obținute prezintă un potențial important pentru îmbunătățirea tratamentului rănilor, în special în cazul leziunilor cutanate complexe, cum ar fi arsurile, ulcerele și rănilor infectate. Mai mult, această abordare promovează sustenabilitatea și se aliniază eforturilor globale de reducere a dependenței de terapiile sintetice și bazate pe antibiotice.

Selecția produselor apicole ca agenți funcționali în biomaterialele dermice este în concordanță cu tendințele actuale din cercetarea biomedicală, care pun accent pe sustenabilitate, biocompatibilitate și multifuncționalitate. De asemenea, utilizarea purtătorilor biopolimerici

precum chitosanul, gelatina sau colagenul pentru încapsularea și eliberarea controlată a acestor compuși contribuie la creșterea eficacității terapeutice, stabilității mecanice și eficienței în mediile specifice rănilor.

Această cercetare aduce o contribuție semnificativă literaturii de specialitate în domeniul biomaterialelor regenerative, propunând o strategie inovatoare și holistică de îmbunătățire a procesului de vindecare a rănilor prin aplicarea optimizată științific a produselor apicole. Prin integrarea înțelepciunii tradiționale cu cele mai noi descoperiri din știința materialelor, ea urmărește să conecteze terapiile naturale cu practica clinică, contribuind astfel la progresul ingineriei tisulare dermice.

Scopul tezei și obiectivele acesteia

Această teză doctorală este motivată de mai multe considerații fundamentale. Din perspectivă medicală, există o nevoie urgentă de materiale de vindecare a rănilor mai sigure și mai eficiente, care să susțină regenerarea rapidă a dermului și să reducă riscul de infecții, în special în cazul victimelor arsurilor și al pacienților cu răni cronice. Din punct de vedere științific, integrarea produselor apicole în biomateriale avansate reprezintă o abordare nouă, ce combină apiterapia tradițională cu tehnicile moderne de inginerie tisulară. În același timp, utilizarea produselor apicole oferă o strategie naturală și sustenabilă, acestea fiind resurse regenerabile, biodegradabile și biocompatibile, care reduc dependența de substanțe sintetice și se aliniază priorităților globale de protecție a mediului și a sănătății umane. Potențialul lor terapeutic este bine documentat, printr-o gamă largă de activități biologice — inclusiv antioxidante, antimicrobiene, antiinflamatoare și regenerative — care le susțin aplicabilitatea în repararea pielii. Literatura de specialitate validează eficiența lor în accelerarea reepitelizării, reducerea inflamației și prevenirea infecțiilor microbiene. Relevanța translațională a acestei lucrări constă în dezvoltarea de materiale naturale, biofuncționale, pentru îngrijirea rănilor și substituția pielii, bazate pe produse apicole, care prezintă un potențial clinic considerabil, oferind soluții accesibile, cu risc scăzut și rentabile, atât în medicina umană, cât și în cea veterinară [11-14].

Pornind de la aceste considerații, cercetarea contribuie la domeniul biomaterialelor regenerative prin propunerea unei strategii inovatoare și integrate de optimizare a vindecării rănilor, bazată pe utilizarea produselor apicole. Prin îmbinarea cunoștințelor tradiționale cu tehnologiile avansate din știința materialelor, teza urmărește să conecteze terapiile naturale cu practica clinică, facilitând progresul ingineriei tisulare dermice.

Scopul principal al acestei cercetări doctorale a fost obținerea și caracterizarea unor biomateriale naturale noi, cu potențiale aplicații în ingineria tisulară dermică, prin utilizarea polimerilor biocompatibili în combinație cu compuși bioactivi, în special cei derivați din produse apicole. Studiul a fost structurat pe mai multe etape, fiecare având ca obiectiv proiectarea și evaluarea unor materiale cu proprietăți biologice și funcționale îmbunătățite. În mod specific, obiectivele au inclus: obținerea și caracterizarea unor bureți pe bază de collagen îmbogățiți cu tinctură de propolis, utilizați prin tehnica liofilizării pentru a genera structuri poroase și biocompatibile adecvate regenerării dermice; formularea și analiza unor filme bioactive pe bază de chitosan și alginat de sodiu, în care au fost incorporate produse apicole individual sau în combinație, cu scopul de a crea materiale flexibile, antimicrobiene, destinate tratamentului rănilor; sinteza și încorporarea de nanoparticule de argint în filme îmbogățite cu produse apicole printr-o metodă verde, utilizând propolisul atât ca agent reducător, cât și ca agent stabilizator, pentru a crește eficiența antimicrobiană într-o manieră ecologică și biocompatibilă; realizarea unei caracterizări fizico-chimice și structurale detaliate a tuturor materialelor dezvoltate, utilizând tehnici precum SEM, FT-IR și analiza termică, pentru a investiga interacțiunile dintre componente și stabilitatea acestora; precum și evaluarea proprietăților biologice ale materialelor prin teste de citotoxicitate pe linii celulare relevante, pentru a asigura biocompatibilitatea, alături de teste antimicrobiene împotriva agenților patogeni comuni ai rănilor, pentru a demonstra eficiența lor în prevenirea infecțiilor.

Prin atingerea acestor obiective, teza urmărește să contribuie la dezvoltarea unor biomateriale naturale sustenabile, eficiente și multifuncționale, capabile să sprijine regenerarea țesutului dermic și să îmbunătățească rezultatele în managementul îngrijirii rănilor.

Biomaterialele sunt substanțe create și proiectate pentru a interacționa cu sistemele vii, inclusiv cu celulele, țesuturile și organele. Ele îndeplinesc o funcție esențială în domeniile medical, farmaceutic și biotehnologic, prin sprijinirea sau îmbunătățirea proceselor biologice, de cele mai multe ori chiar în interiorul corpului uman. În ultimii ani, utilizarea lor în vindecarea rănilor a înregistrat progrese notabile, mai multe produse aflându-se în prezent în studii clinice. În ingineria tisulară, biomaterialele furnizează în principal suport structural și distribuție a sarcinii mecanice, facilitând atașarea, creșterea și diferențierea celulară, contribuind totodată la definirea formei și dimensiunii țesutului regenerat [15-16].

II. Contribuții originale

1. Sisteme pe bază de collagen cu tinctură de propolis pentru ingineria țesutului dermic

Prima direcție de cercetare a abordat obținerea unor sisteme destinate vindecării rănilor, utilizând substanțe active naturale precum collagenul și tinctura de propolis. Collagenul a fost folosit ca matrice bioactivă, având un rol important în regenerarea epitelului, iar propolisul pentru activitatea sa antibacteriană. Sistemele obținute au fost analizate prin spectroscopie FT-IR, analiză DSC, Micro CT, spectroscopie UV-VIS și degradare enzimatică.

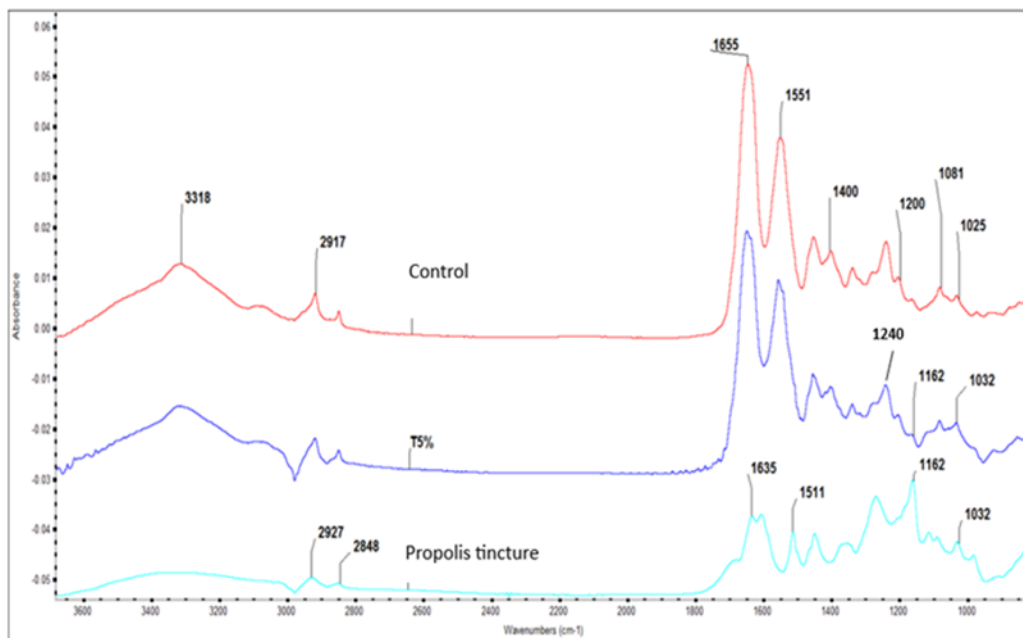


Fig. 1 Spectre FT-IR ale materiilor prime (tinctură de collagen și tinctură de propolis) și probei T 5%.

Analizele FT-IR și DSC oferă dovezi convingătoare privind integrarea propolisului în matricile de collagen. Spectrul FT-IR (fig.1) evidențiază benzi specifice care corespund inelelor aromatice ale flavonoidelor – componente esențiale ale propolisului – confirmând nu doar prezența propolisului, ci și integrarea sa structurală în cadrul collagenului. În plus, curba DSC(fig. 2) indică o creștere a temperaturii de denaturare în prezența propolisului, ceea ce sugerează o stabilitate

termică sporită și posibile îmbunătățiri ale proprietăților mecanice ale matricei datorită efectului de întărire oferit de propolis.

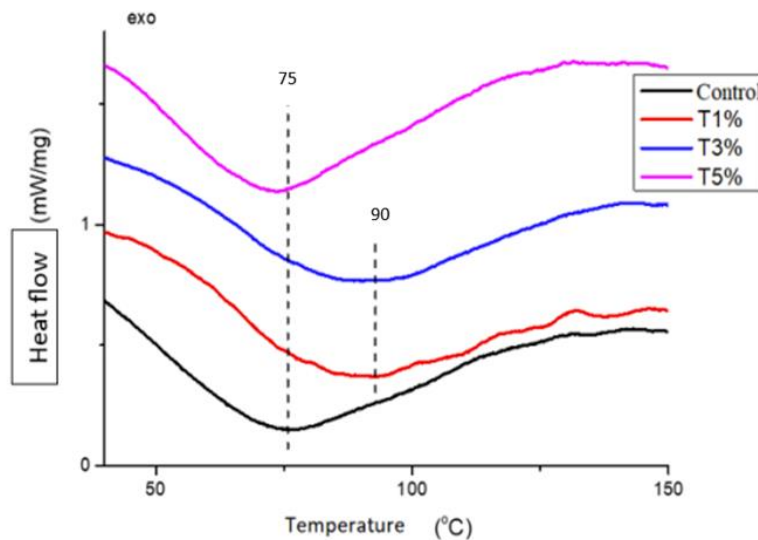


Fig. 2 Curba DSC pentru probele de control, T1%, T3% și T5%

Pe lângă analizele spectroscopice, imaginile Micro CT (fig. 3) arată că toate probele conțin pori, cu o porozitate deschisă predominantă. Porii deschiși facilitează schimbul de gaze și difuzia nutrienților, aspecte esențiale pentru regenerarea țesuturilor. Cantitatea neglijabilă de porozitate închisă sugerează că sistemul este bine structurat pentru a susține infiltrarea și migrarea celulară, ceea ce îi sporește aplicabilitatea în domeniul dermal.

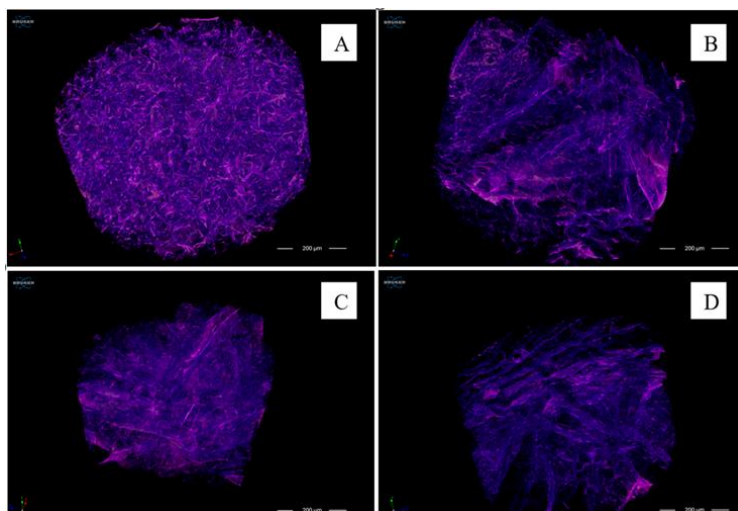


Fig. 3 Imagini microCT ale probei de control (A), T1% (B), T3% (C) și T5% (D).

Analiza UV-VIS a fost realizată pentru a determina profilul de eliberare al substanței active (propolis) din matricea polimerică. Conform graficului (Fig. 4), o eliberare semnificativă de propolis are loc în primele 24 de ore.

Analiza profilurilor de eliberare ale probelor pe bază de collagen și tinctură de propolis relevă aspecte interesante privind comportamentul acestora. Proba cu cea mai mică concentrație de tinctură de propolis (1%) prezintă cea mai mare cantitate de propolis eliberat. Această observație sugerează că concentrațiile mai reduse pot facilita un mecanism de eliberare mai eficient, posibil datorită unei obstrucții mai mici în interiorul matricei polimerice.

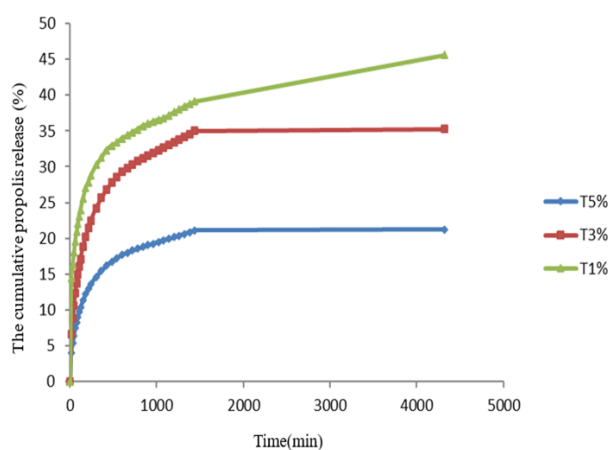


Fig. 4. Profilurile de eliberare ale probelor T1%, T3% și T5% în soluție tamponată cu pH fosfat

Analizele UV-VIS evidențiază o corelație critică între concentrația tincturii de propolis și interconectivitatea porilor.

În concluzie, analiza detaliată a pansamentelor pe bază de collagen care încorporează tinctură de propolis ilustrează potențialul acestui sistem ca biomaterial pentru tratamentul rănilor. Cercetări viitoare ar putea viza rafinarea formulării pentru a maximiza eficacitatea terapeutică, asigurând în același timp menținerea integrității structurale și a funcționalității în timp.

2. Biomateriale pe bază de produse apicole și eficiența lor în regenerarea țesuturilor moi

Având confirmată eficiența propolisului în matricea de collagen, următoarea etapă a fost să explorăm efectele combinate ale mierii, propolisului și lăptișorului de matcă.

Probele au fost realizate folosind miere de salcâm, tinctură de propolis și lăptișor de matcă pur. Pentru obținerea amestecului, au fost folosite 20 mL de tinctură de propolis, 5 g de lăptișor de matcă și 35 g de miere. Amestecul obținut a fost omogenizat într-un baie de apă timp de 20 de minute și depozitat ulterior într-un loc întunecat, în recipiente bine sigilate.

Pentru prepararea filmelor pe bază de alginat de sodiu și chitosan, mai întâi s-au preparat straturile de alginat de sodiu prin dizolvarea mierii/tincturii de propolis/lăptișorului de matcă sau a amestecului în 50 mL de apă distilată, împreună cu 1 g de alginat de sodiu și 0,1 g de glicerină.

Pe baza unor rapoarte din literatura de specialitate [20,21] și a experimentelor exploratorii proprii, au fost alese următoarele raporturi pentru obținerea a cinci probe (Figura 1): A — control, AH (3,5 g de miere), AP (2 mL tinctură de propolis), ARj (0,5 g lăptișor de matcă), AM (5 mL amestec).

Probele au fost turnate în plăci Petri și uscate în vid, la 35 °C, timp de 24 de ore. Ulterior, soluția de chitosan a fost preparată prin dizolvarea a 2 g de chitosan în 50 mL de acid acetic 1%. 10 mL din această soluție a fost turnată peste fiecare strat de alginat de sodiu și uscată în vid, la 35 °C, timp de 24 de ore.

Analiza SEM a compozitelor alginat de sodiu–chitosan a relevat diferențe morfologice distincte între formulele studiate. Proba martor (A) prezintă o structură relativ netedă și compactă, indicativă pentru o matrice polimerică bine formată. Adăugarea mierii (AH) modifică ușor suprafața, rezultând o textură mai netedă cu porozitate minoră, probabil datorită încorporării componentelor organice. Proba cu propolis (AP) prezintă o suprafață mai aspră, cu structuri granuloase vizibile (Fig. 2), sugerând separarea fazelor sau agregarea particulelor rășinoase [24].

Formula infuzată cu lăptișor de matcă (ARj) arată o aparență fibros-stratificată, cu zone de rugozitate crescută, probabil datorită interacțiunii dintre proteinele lăptișorului și matricea polimerică.

În cazul compozitului cu amestec de miere, propolis și lăptișor (AM), morfologia este foarte eterogenă, caracterizată prin texturi diferite și potențiale interacțiuni de fază între agenții bioactivi multipli (Fig. 5).

În ansamblu, imaginile SEM evidențiază influența semnificativă a produselor apicole asupra caracteristicilor morfologice ale compozitelor alginat–chitosan, cu grade variabile de rugozitate, porozitate și modificări structurale în toate formulele.

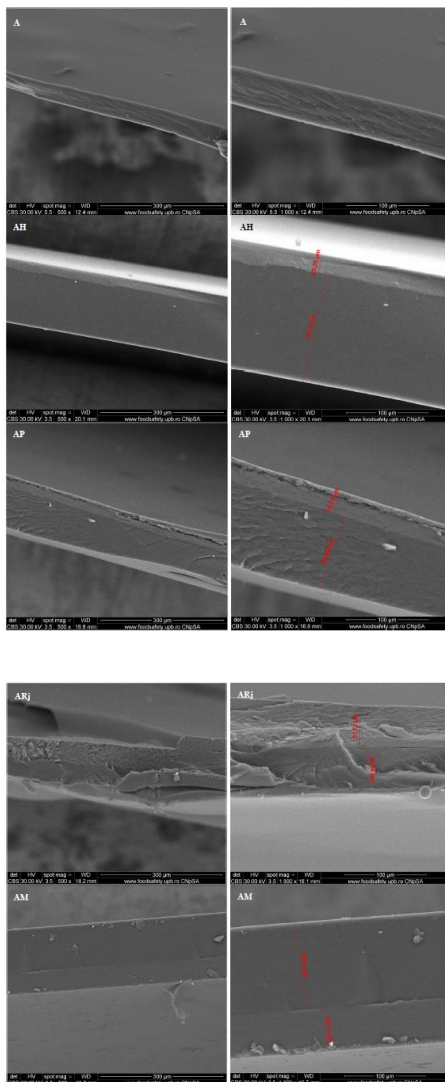


Fig. 5 Imagini SEM pentru peliculele compozite A; AH; AP; ARj; și AM.

În analiza FTIR a probelor, observăm vibrațiile –OH și –NH între 3260 și 3280 cm^{-1} , care evidențiază legăturile de hidrogen ce susțin structura polimerică. Vârfurile de la 2923 și 2880 cm^{-1} reflectă prezența grupărilor –CH₂, iar benzile între 1594 și 1603 cm^{-1} indică legături C=O și C=C din polizaharide (fig. 6).

Adăugarea produselor apicole generează noi benzi între 1619 și 1638 cm^{-1} , asociate vibrațiilor C=O din zaharuri și proteinelor, iar vârful de la 1542 cm^{-1} evidențiază banda amide II. Alte benzi, precum cea de la 1408 cm^{-1} , corespund carbohidraților și aminoacizilor, arătând interacțiunile moleculare din probe.

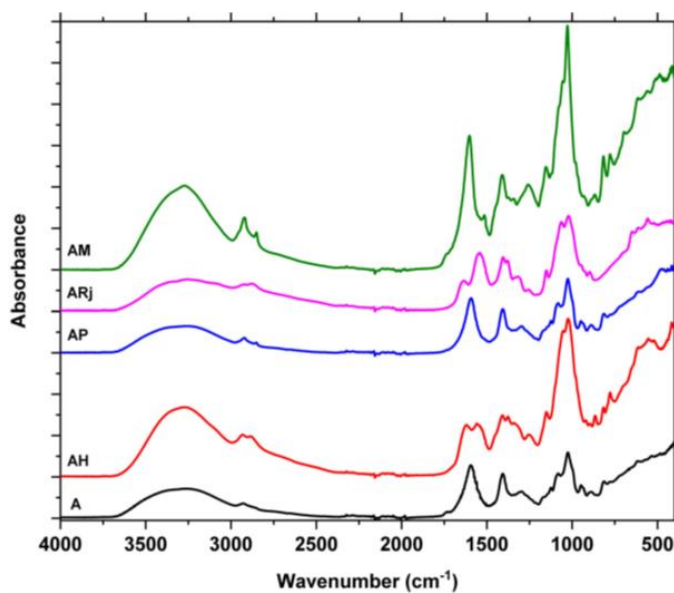


Fig. 6. Spectre FTIR ale probelor obtinute: A; AH; AP; ARj și AM

Analiza termogravimetrică arată că pierderea de masă începe la $\sim 115^\circ\text{C}$, continuă între 115 și 460°C prin deshidratare și oxidare parțială, apoi între 460 și 720°C apare fragmentarea lanțurilor polimerice. După 720°C , materialul se oxidează complet, ceea ce confirmă stabilitatea termică și comportamentul chimic al biomaterialelor (fig. 7).

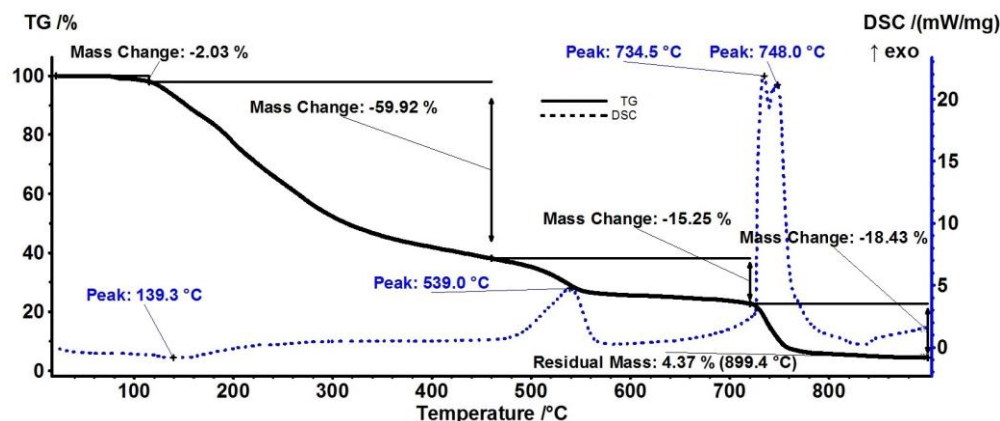


Fig. 7. Analiza termică (curbe TG și DSC) pentru proba AM

În ceea ce privește activitatea antibacteriană, filmele alginat-chitosan au prezentat un efect inhibitor semnificativ asupra tuturor bacteriilor Gram-pozitive testate (fig. 8).

Probele îmbogățite cu propolis (AP) și amestecul de produse apicole (AM) au avut cele mai mari zone de inhibiție, demonstrând un efect sinergic.

Pentru bacteriile Gram-negative, probele cu tinctură de propolis și amestecul de produse apicole au arătat activitate semnificativ mai mare decât proba martor (fig. 9).

Mierea pură nu a generat zone de inhibiție semnificative, dar încorporată în film (AH) a manifestat activitate antibacteriană bună, mai ales împotriva *P. aeruginosa* și *E. coli*.

Acest efect se datorează eliberării controlate a compușilor bioactivi din matricea filmului, protecției lor și îmbunătățirii contactului cu celulele bacteriene.

Rezultatele confirmă că sistemele de livrare bazate pe filme polimerice pot amplifica semnificativ activitatea antimicrobiană a produselor naturale, creând un efect sinergic între matrice și compușii bioactivi.

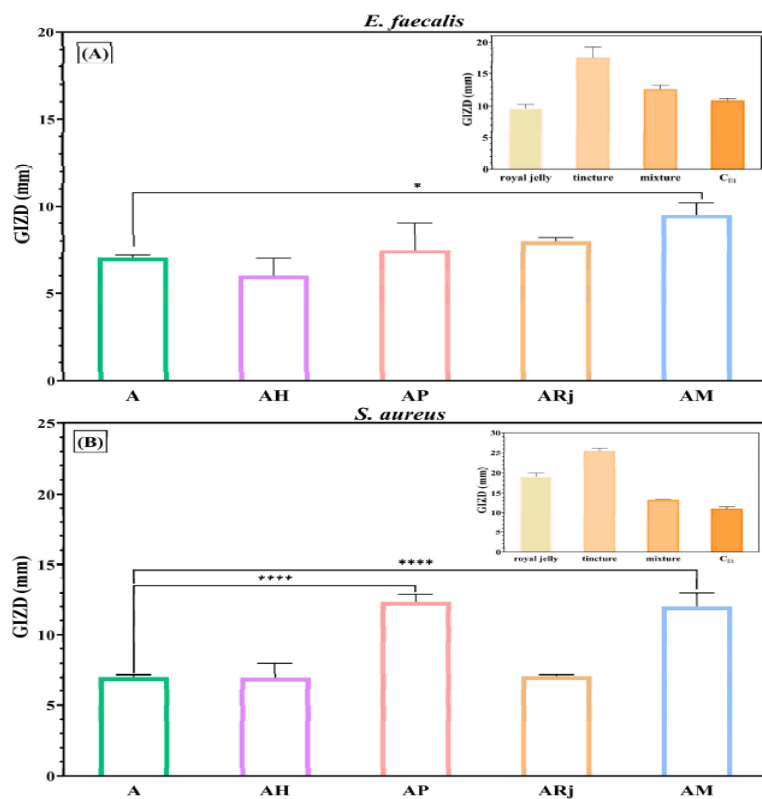


Fig. 8 Profiluri antibacteriene ale probelor împotriva bacteriilor Gram-pozitive

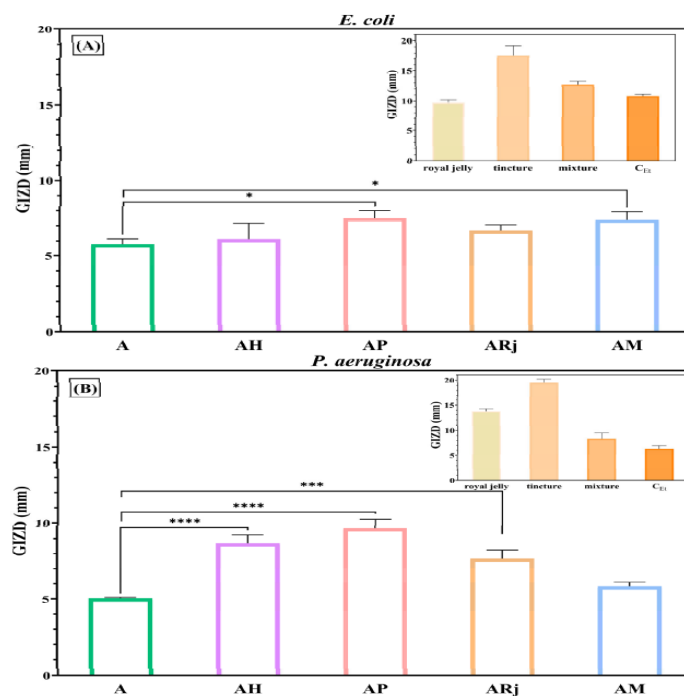
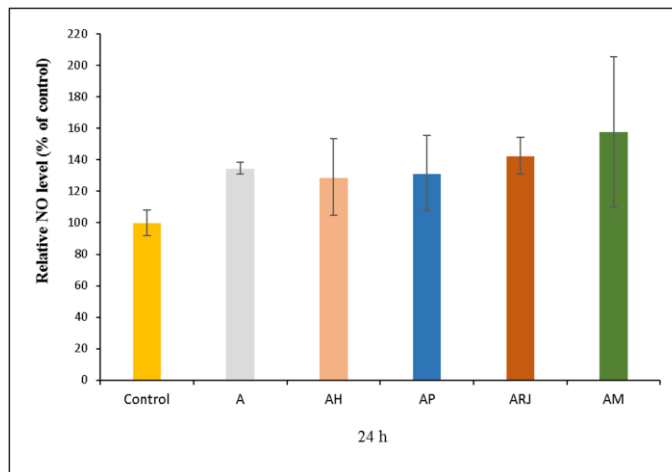
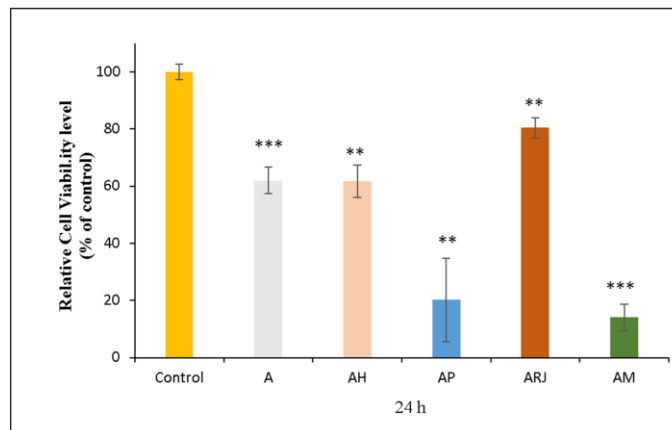


Fig. 9 Profiluri antibacteriene ale probelor împotriva bacteriilor Gram-negative

In ceea ce privește testele de citotoxicitate rezultatele pot fi observate in figura 10. Testul MTT evaluează viabilitatea celulară prin măsurarea activității metabolice. Valorile ridicate indică supraviețuire și proliferare, iar cele scăzute sugerează citotoxicitate. În cazul probelor noastre, controlul menține ~100% viabilitate. Filmul cu miere (AH) menține o viabilitate moderată de ~65%, propolisul (AP) scade viabilitatea semnificativ, până la ~20%, indicând citotoxicitate ridicată, în timp ce lăptișorul de matcă (ARj) prezintă cea mai mare viabilitate, ~80%, fiind cel mai biocompatibil. Formula combinată AM arată viabilitate redusă, ~10%, evidențiind necesitatea optimizării concentrațiilor pentru a echilibra eficacitatea antimicrobiană și siguranța celulară.



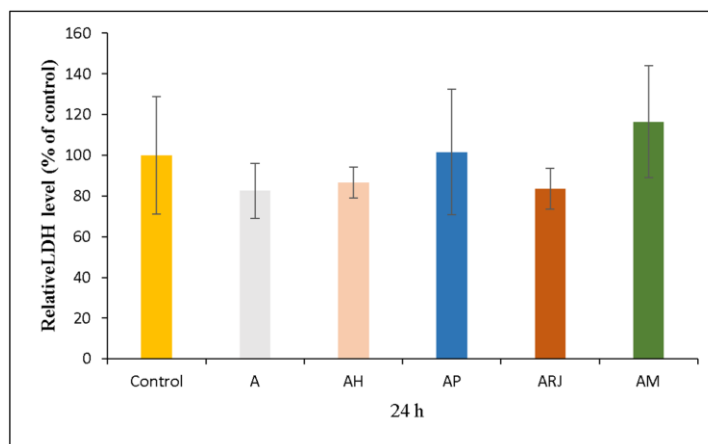


Fig. 10 Testele de citotoxicitate – MTT, LDH, NO

Testul NO ne oferă informații despre potențialul imunomodulator al biomaterialelor. Probele AH, AP și ARj au stimulat producția moderată de oxid nitric, între 130 și 140%, susținând activarea imună fără risc de inflamație excesivă. Acest lucru sugerează că formulările bioactive pot sprijini vindecarea și controlul infecțiilor.

Testul LDH evaluează integritatea membranei celulare. Nivelurile scăzute de LDH pentru AH și ARj confirmă biocompatibilitatea, în timp ce AM prezintă valori mai mari, indicând citotoxicitate crescută.

În concluzie, aceste teste evidențiază faptul că mierea și lăptișorul de matcă încorporate în filmele de alginat–chitosan sunt candidați promițători pentru aplicații regenerative, în timp ce propolisul necesită ajustări pentru a menține un profil sigur de biocompatibilitate.

Rezultatele obținute cu biomaterialele pe bază de produse apicole ne-au inspirat să dezvoltăm o variantă antimicrobiană, prin adăugarea de nanoparticule de argint și prin utilizarea unei matrice alginat–chitozan.

3. Filme compozite antimicrobiene pe bază de alginat–chitosan cu miere, propolis, lăptișor de matcă și nanoparticule de argint obținute prin sinteză verde

Astfel, următoarea direcție de cercetare a vizat crearea de filme compozite multifuncționale, cu rol atât regenerativ, cât și protector împotriva infecțiilor.”

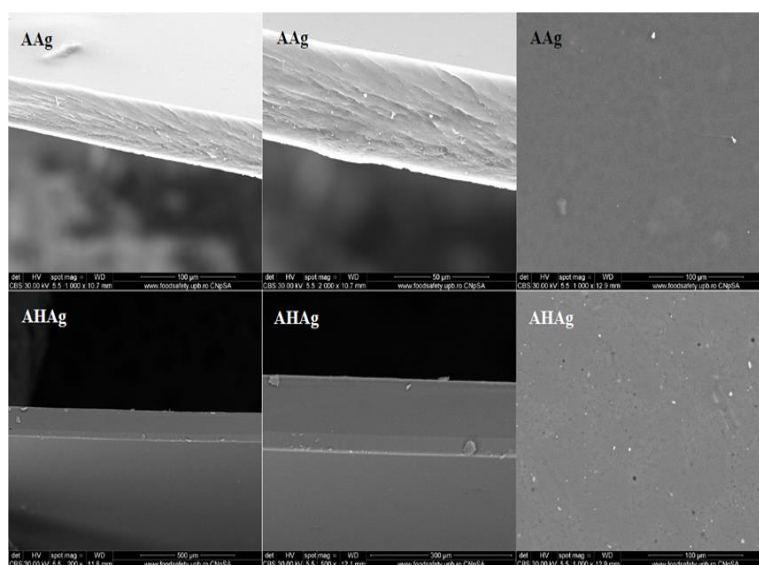
Având în vedere lipsa studiilor privind efectele lor sinergice, scopul a fost de a oferi noi perspective pentru amplificarea potențialului terapeutic al formulărilor pe bază de produse apicole. Acest lucru

este realizat prin încorporarea AgNP și examinarea impactului lor asupra eficacității globale a acestor compuși naturali.

Am preparat filme bistrat din alginat și chitosan, încorporând diferiți compuși bioactivi naturali și, în unele cazuri, nanoparticule de argint obținute prin sinteză verde.

Pentru îmbunătățirea proprietăților biologice, nanoparticulele de argint (AgNP) au fost obținute prin sinteză verde, folosind tinctura de propolis ca agent reducător și stabilizant. AgNO₃ a fost dizolvat în apă distilată, pH ajustat la 9,6, apoi s-a adăugat propolisul; formarea AgNP a fost monitorizată prin schimbarea culorii soluției.

Analiza SEM a compozitelor alginat-chitozan evidențiază diferențe morfologice semnificative între formulări (Fig. 11). Proba AHAg prezintă puncte luminoase dispersate, indicând prezența nanoparticulelor, cu distribuție uniformă pe film. APAg are o textură neregulată, nanoparticulele interacționând cu compușii bioactivi, ceea ce crește complexitatea structurală.



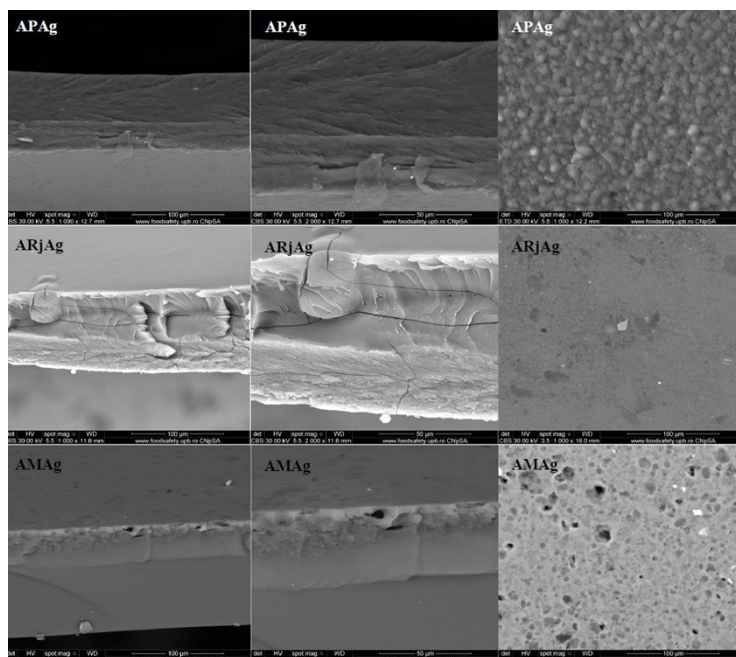


Fig. 11 Micrografii SEM pentru probele A, AHA, APA, ARjA și AMA.

Filmul ARjAg are aspect stratificat, fibros, cu dispersie bună a nanoparticulelor, contribuind la porozitate și variații texturale. AMag prezintă o suprafață poroasă și structură complexă, evidențiind sinergia dintre compuși. Matricea simplă cu AgNP, AAg, arată structură uniformă, cu nanoparticule bine distribuite, păstrând integritatea rețelei polimerice.

Astfel, includerea produselor apicole și a AgNP modifică morfologia filmelor, influențând rugozitatea, porozitatea și caracteristicile structurale, ceea ce poate afecta proprietățile biologice și funcționale ale biomaterialelor.

Spectrul FTIR al probei cu miere arată semnale caracteristice grupărilor funcționale din chitozan, alginat și produse apicole. Vârful de la 3277 cm^{-1} corespunde întinderii N–H și O–H, benzile C–H între $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ indică carbohidrați și aminoacizi, iar benzile amidice la 1624 și 1552 cm^{-1} evidențiază proteinele. De asemenea, benzile la 1024 și 885 cm^{-1} confirmă prezența polizaharidelor și structura chitozanului. Aceste date FTIR sunt esențiale pentru caracterizarea compozițională și structurală a filmului (fig. 12).

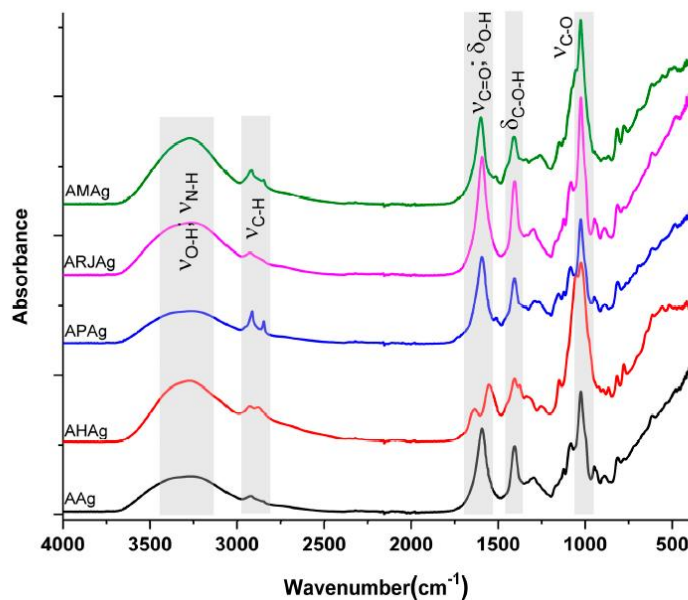


Fig. 12 Spectre FTIR pentru probele AAg; AHAg; APAg; ARjAg si AMAg

Spectrele UV-Vis (fig. 13) arată clar interacțiunile dintre nanoparticulele de argint și compușii bioactivi. În probele cu propolis și lăptișor, AgNP cauzează shift-uri și creșteri de absorbție, indicând interacțiuni specifice. În miere și amestecul multicomponent, se observă benzi mai largi și intensitate crescută, demonstrând sinergia dintre AgNP și produsele apicole și modul în care acestea influențează structura și proprietățile filmului compozit.

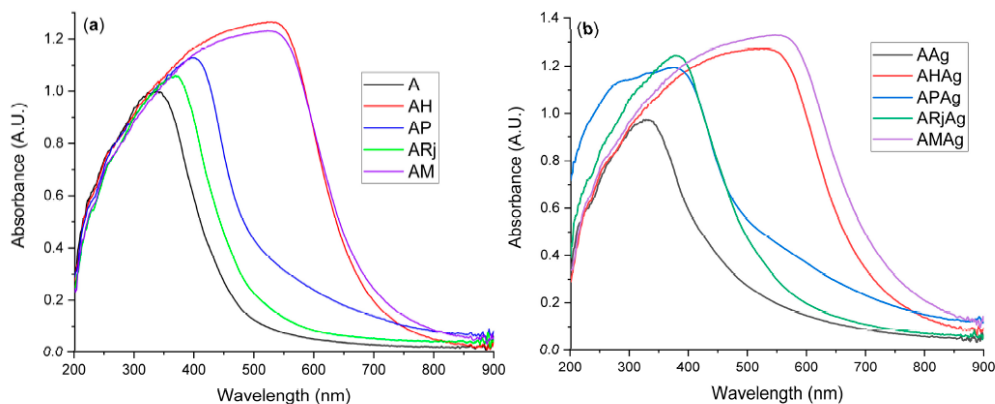


Fig. 13 Spectrele UV-Vis pentru probele fără AgNP (a) și cu AgNP(b).

Analiza termogravimetrică arată că AMAg pierde solventul rezidual până la ~115 °C, iar dioxidul de carbon din reacțiile de oxidare apare mai târziu comparativ cu AM (fig. 14).

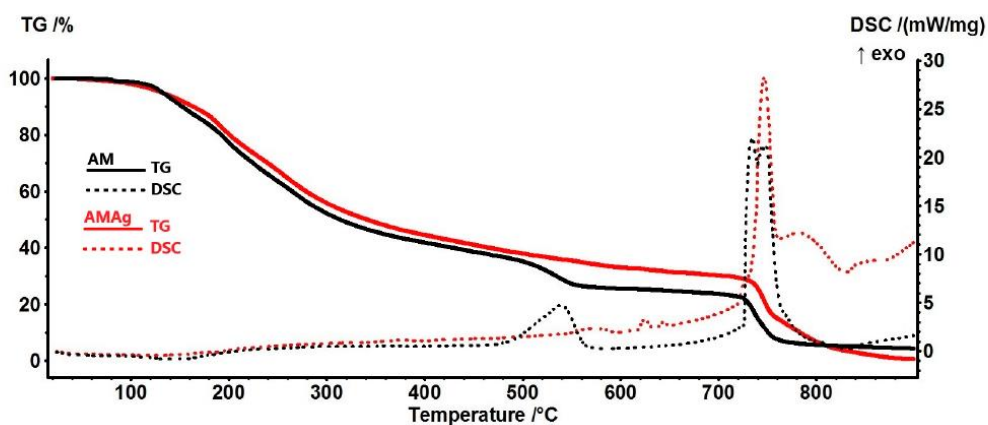


Fig. 14 Analiza termică pentru probele AM (curbe negre) și AMAg (curbe roșii): curbele TG sunt reprezentate ca linii continue, iar curbele DSC sunt reprezentate ca linii punctate.

Intervalul principal de degradare între 115 și 460 °C include deshidratarea polizaharidelor, degradarea proteinelor și fragmentarea scheletului polimeric, împreună cu oxidarea fragmentelor mai mici. Aceasta evidențiază stabilitatea termică și comportamentul complex de degradare al probei.

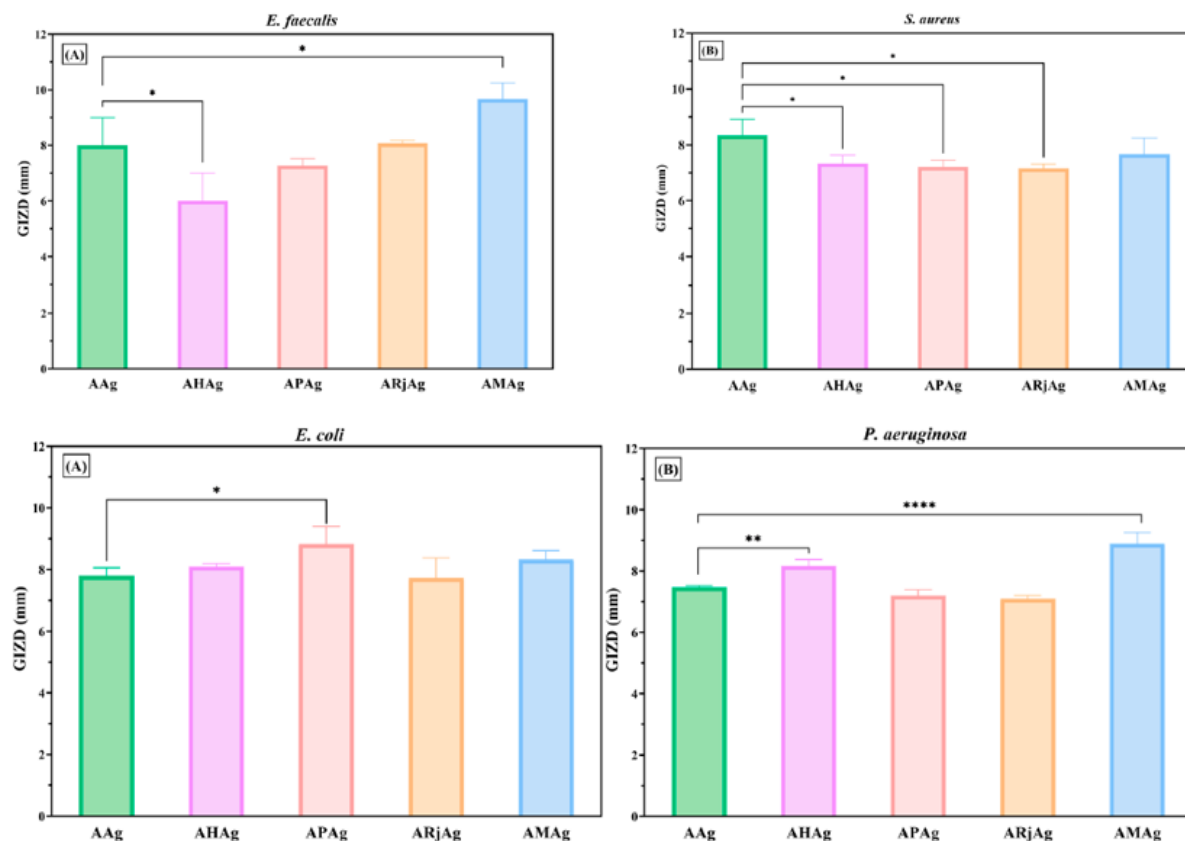


Fig. 15 Profiluri antibacteriene ale probelor împotriva bacteriilor Gram-pozitive și Gram-negative

Am evaluat activitatea antimicrobiană a filmelor alginat–chitozan prin zonele de inhibiție. Observăm că combinația tuturor celor trei produse apicole cu AgNP, AMAg, prezintă cea mai ridicată eficacitate, sugerând un efect sinergic (fig. 15).

Filmul cu AgNP simplu, AAg, are activitate bună împotriva *S. aureus*, ceea ce confirmă rolul argintului. Propolisul combinat cu AgNP este cel mai eficient împotriva *E. coli*, iar mierea sporește efectul împotriva *P. aeruginosa*.

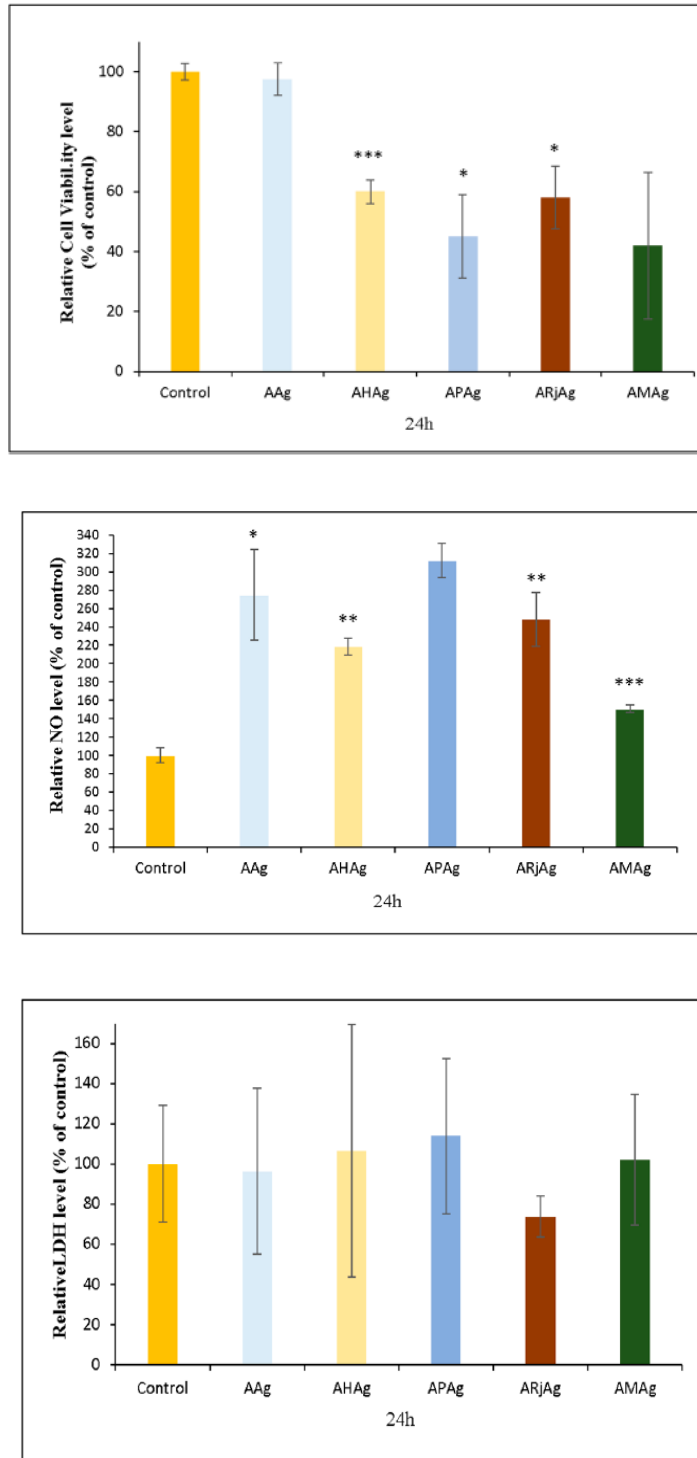


Fig. 16 Teste de citotoxicitate – MTT, LDH și NO ale fibroblastelor gingivale umane (linia celulară HFIB-G) măsurate prin testul LDH după 24 de ore de incubare cu mediu incubat anterior timp de 24 de ore cu probele pe bază de produse apicole: AAg, AHAg, APAg, ARjAg și AMAg.

Interacțiunile dintre compușii bioactivi și AgNP, indicate și de UV-Vis, pot influența eliberarea și intensitatea efectului. Rezultatele subliniază potențialul formulărilor combinatorii pentru pansamente antibacteriene, dar studiile viitoare vor analiza activitatea cantitativ și efectele sinergice sau antagonice.

Formularea AMAg a prezentat cea mai mare inhibiție împotriva *E. faecalis*, în timp ce AAg (doar AgNP) a fost cea mai eficientă împotriva *S. aureus*. Aceste rezultate (fig. 16) sugerează că îmbinarea produselor apicole cu AgNP amplifică efectele antimicrobiene mai pronunțat contra anumitor tulpini Gram-pozitive, în special *E. faecalis*. APAg și AMAg au fost eficiente și împotriva Gram-negativelor (*E. coli*, *P. aeruginosa*).

Am evaluat biocompatibilitatea filmelor prin testele MTT, NO și LDH (fig. 17). Testul MTT arată că AgNP singuri (AAg) mențin viabilitatea aproape de 100%, dar adăugarea produselor apicole reduce ușor activitatea metabolică, AMAg având cea mai scăzută viabilitate (~50%). Testul NO indică efecte imunomodulatoare, APAg având cea mai mare producție de oxid nitric, în timp ce AMAg prezintă un nivel moderat, sugerând stimulare echilibrată. Testul LDH confirmă că toate probele păstrează integritatea membranei celulare, indicând citotoxicitate redusă. În ansamblu, filmele sunt sigure pentru celule, dar este importantă optimizarea concentrațiilor produselor apicole pentru a echilibra efectul antimicrobian și compatibilitatea celulară.

Evaluarea citotoxicității (MTT, LDH, NO) a arătat că filmele chitosan–alginat cu AgNP (AAg) sunt biocompatibile, în timp ce încorporarea produselor apicole—mai ales în combinație (AMAg)—poate crește stresul celular și reduce viabilitatea fibroblastelor. Este așadar esențială optimizarea compoziției și concentrațiilor aditivilor naturali pentru a obține un echilibru între eficacitatea antimicrobiană și citocompatibilitate—critică pentru dezvoltarea sigură și eficientă a biomaterialelor avansate pentru vindecarea rănilor.

III. Concluzii generale

Vindecarea rănilor rămâne o provocare clinică majoră, iar strategiile tradiționale nu oferă întotdeauna bioactivitatea necesară. Această cercetare a dezvoltat biomateriale naturale multifuncționale — bureți colagenici cu propolis și filme din chitosan–alginat îmbogățite cu miere, propolis, lăptișor de matcă și nanoparticule de argint sintetizate verde.

Materialele obținute au demonstrat stabilitate structurală, activitate antimicrobiană eficientă și biocompatibilitate bună. Combinațiile sinergice între polimeri naturali, produse apicole și AgNP au condus la performanțe promițătoare în regenerarea pielii și prevenirea infecțiilor.

Limitările includ variabilitatea materiilor prime, citotoxicitatea moderată la concentrații mari de AgNP sau propolis și lipsa testelor in vivo, indicând necesitatea optimizării formulei și evaluării pe termen lung.

În rezumat, această teză oferă perspective esențiale privind proiectarea și formarea biomaterialelor naturale, bioactive, pentru ingineria țesutului dermal și vindecarea rănilor. Prin valorificarea proprietăților unice ale produselor apicole alături de biopolimeri și nanoparticule de argint sintetizate ecologic, cercetarea stabilește o bază solidă pentru crearea de pansamente eficiente și multifuncționale care susțin regenerarea țesutului și combat infecția. Deși provocările și limitările rămân, rezultatele încurajatoare motivează continuarea cercetării și rafinarea materialelor pentru a permite tranziția către aplicații clinice. În final, colaborarea interdisciplinară continuă în acest domeniu are un potențial semnificativ de a îmbunătăți rezultatele pacienților și de a ridica standardele îngrijirii rănilor.

Prin investigații continue și colaborare interdisciplinară, biomaterialele dezvoltate aici pot contribui semnificativ la avansarea soluțiilor terapeutice eficiente, bazate pe produse naturale, în medicina modernă.

Perspective de viitor

Pe viitor, cercetările pot fi extinse în mai multe direcții. În primul rând, studii in vivo și evaluări clinice vor fi esențiale pentru a testa eficacitatea și biocompatibilitatea materialelor în modele reale. În al doilea rând, se poate lucra la optimizarea compoziției și a eliberării controlate a compușilor bioactivi, pentru a crește performanța terapeutică.

În plus, includerea altor agenți bioactivi, precum extracte vegetale, polen sau peptide antimicrobiene, poate extinde funcționalitatea materialelor. Ingineria avansată a materialelor, prin tehnici ca electrospinning-ul sau imprimarea 3D, ar putea îmbunătăți structura, porozitatea și proprietățile mecanice. Nu în ultimul rând, evaluarea pe termen lung a eficienței antimicrobiene și a rezistenței la biofilme va fi crucială pentru aplicații clinice durabile.

În concluzie, această cercetare deschide multiple direcții pentru dezvoltări viitoare, iar biomaterialele realizate aici pot contribui semnificativ la soluții naturale și eficiente în medicina modernă.

Lista de publicații

Articole ISI

- Corina Dana Dumitru, Ionela Andreea Neacsu, Alexandru Mihai Grumezescu, Ecaterina Andronescu. *Bee-Derived Products: Chemical Composition and Applications in Skin Tissue Engineering*. **Pharmaceutics** 2022; Q1; IF=5.5.
- Corina Dana Dumitru, Ionela Andreea Neacsu, Alexandru Mihai Grumezescu, Ecaterina Andronescu, *Collagen Based Systems with Propolis Tincture for Dermal Tissue Engineering*. *U.P.B Sci. Bull., Series B, Vol.87, Iss.3, Year 2025*, IF=0.38.
- Corina Dana Dumitru; Ionela Andreea Neacsu; Ovidiu Cristian Oprea; Ludmila Motelica; Bianca Voicu Balasea; Cornelia-Ioana Ilie; Florica Marinescu; Alexandra Ripszky; Silviu-Mirel Pituru; Ecaterina Andronescu. *Biomaterials Based on Bee Products and Their Effectiveness in Soft Tissue Regeneration*. **Materials** 2025, 18, 2689; Q2; IF=3.2.
- Corina Dana Dumitru; Ionela Andreea Neacsu; Ovidiu Cristian Oprea; Ludmila Motelica; Bianca Voicu Balasea; Cornelia-Ioana Ilie; Florica Marinescu; Alexandra Ripszky; Silviu-Mirel Pituru; Ecaterina Andronescu. *Antimicrobial Composite Films Based on Alginate–Chitosan with Honey, Propolis, Royal Jelly and Green-Synthesized Silver Nanoparticles*. **International Journal of Molecular Science** 2025; Q1; IF=4.9.

Participari la conferințe

- Corina Dana DUMITRU, Ecaterina ANDRONESCU, Ionela Andreea NEACSU, Alexandru Mihai GRUMEZESCU, Denisa FICAI. *BIOMATERIALS BASED ON BEE PRODUCTS FOR DERMAL TISSUE REGENERATION*. Application of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering –NanoBioMat 2021, INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE → 25-26 June 2021 – Virtual conference
- Corina Dana DUMITRU, Ecaterina ANDRONESCU, Ionela Andreea NEACSU, Alexandru Mihai GRUMEZESCU, Denisa FICAI. *THE BIOLOGICAL EFFECT OF BIOMATERIALS BASED ON BEE PRODUCTS IN WOUND HEALING PROCESS*.

Application of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering –NanoBioMat 2021, INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE → 25-27 NOVEMBER 2021 – Virtual conference

- Corina Dana DUMITRU, Ecaterina ANDRONESCU, Ionela Andreea NEACSU, Alexandru Mihai GRUMEZESCU, Denisa FICAI. *BEE DERIVED PRODUCTS AND THEIR APPLICATIONS IN SKIN TISSUE ENGINEERING*. Application of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering –NanoBioMat 2022, INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE → 22-24 June 2022 – Virtual conference
- Corina Dana DUMITRU, Ecaterina ANDRONESCU, Ionela Andreea NEACSU, Alexandru Mihai GRUMEZESCU, Denisa FICAI. *THE POTENTIAL OF BEE PRODUCTS IN DERMAL TISSUE ENGINEERING*. Application of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering –NanoBioMat 2022, INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE → 24-26 November 2022 – Virtual conference
- Corina Dana DUMITRU, Ecaterina ANDRONESCU, Ionela Andreea NEACSU, Alexandru Mihai GRUMEZESCU, Denisa FICAI. *APPLICATIONS AND PROPERTIES OF HONEY, PROPOLIS AND ROYAL JELLY IN SKIN TISSUE ENGINEERING*. Application of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering –NanoBioMat 2022, INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE → 28-30 June 2023 – Virtual conference

Premii

- ✓ **Best Poster Award** for *BIOMATERIALS BASED ON BEE PRODUCTS FOR DERMAL TISSUE REGENERATION* granted by International scientific conference, APPLICATIONS OF CHEMISTRY IN NANOSCIENCES AND BIOMATERIALS ENGINEERING –NanoBioMat 25-26 June, 2021 Virtual Conference
- ✓ **Best Poster Award** for *THE BIOLOGICAL EFFECT OF BIOMATERIALS BASED ON BEE PRODUCTS IN WOUND HEALING PROCESS* granted by International scientific conference, APPLICATIONS OF CHEMISTRY IN NANOSCIENCES

Bibliografie selectiva

- [1] M. Oleksy, K. Dynarowicz, and D. Aebisher, "Advances in Biodegradable Polymers and Biomaterials for Medical Applications-A Review," *Molecules*, vol. 28, Aug 24 2023.
- [2] A. Oryan, E. Alemzadeh, and A. Moshiri, "Burn wound healing: present concepts, treatment strategies and future directions," *J Wound Care*, vol. 26, pp. 5-19, Jan 2 2017.
- [3] A. Markiewicz-Gospodarek, M. Koziół, M. Tobiasz, J. Baj, E. Radzikowska-Büchner, and A. Przekora, "Burn Wound Healing: Clinical Complications, Medical Care, Treatment, and Dressing Types: The Current State of Knowledge for Clinical Practice," *Int J Environ Res Public Health*, vol. 19, Jan 25 2022.
- [4] X. Yang, C. Zhang, D. Deng, Y. Gu, H. Wang, and Q. Zhong, "Multiple Stimuli-Responsive MXene-Based Hydrogel as Intelligent Drug Delivery Carriers for Deep Chronic Wound Healing," *Small*, vol. 18, p. e2104368, Feb 2022.
- [5] E. B. Souto, A. F. Ribeiro, M. I. Ferreira, M. C. Teixeira, A. A. M. Shimojo, J. L. Soriano, et al., "New Nanotechnologies for the Treatment and Repair of Skin Burns Infections," *Int J Mol Sci*, vol. 21, Jan 8 2020.
- [6] H. Wang, "A Review of the Effects of Collagen Treatment in Clinical Studies," *Polymers (Basel)*, vol. 13, Nov 9 2021.
- [7] S. Chattopadhyay and R. T. Raines, "Review collagen-based biomaterials for wound healing," *Biopolymers*, vol. 101, pp. 821-33, Aug 2014.
- [8] A. Owczarzy, R. Kurasiński, K. Kulig, W. Rogóż, A. Szkudlarek, and M. Maciążek-Jurczyk, "Collagen - structure, properties and application," 03/15 2021.
- [9] Y. Qin and P. Li, "Antimicrobial Chitosan Conjugates: Current Synthetic Strategies and Potential Applications," *Int J Mol Sci*, vol. 21, Jan 13 2020.

- [10] S. Peers, A. Montembault, and C. Ladavière, "Chitosan hydrogels for sustained drug delivery," *Journal of Controlled Release*, vol. 326, pp. 150-163, 2020/10/10/ 2020.
- [11] D. Tafere, "Chemical composition and uses of Honey: A Review," *Journal of Food Science and Nutrition Research*, vol. 04, 01/01 2021.
- [12] P. Nezhadmokhtari, S. Javanbakht, N. Asadi, M. Ghorbani, M. Milani, Y. Hanifehpour, et al., "Recent advances in honey-based hydrogels for wound healing applications: Towards natural therapeutics," *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, vol. 66, p. 102789, 08/01 2021.
- [13] Y. Tang, L. Chen, and X. Ran, "Efficacy and Safety of Honey Dressings in the Management of Chronic Wounds: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis," *Nutrients*, vol. 16, Jul 28 2024.
- [14] A. Dekebo, C. Geba, D. Bisrat, J. B. Jeong, and C. Jung, "Wound Healing, Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Activities, and Chemical Composition of Korean Propolis from Different Sources," *Int J Mol Sci*, vol. 25, Oct 22 2024.
- [15] M. El-Sakhawy, A. Salama, and H. S. Tohamy, "Applications of propolis-based materials in wound healing," *Arch Dermatol Res*, vol. 316, p. 61, Dec 27 2023.
- [16] M. Bucekova, M. Sojka, I. Valachova, S. Martinotti, E. Ranzato, Z. Szep, et al., "Bee-derived antibacterial peptide, defensin-1, promotes wound re-epithelialisation in vitro and in vivo," *Sci Rep*, vol. 7, p. 7340, Aug 4 2017.