Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București

Școala Doctorală de Inginerie Chimică și Biotehnologii

REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

Platforme funcționalizate pentru controlul, modularea și detecția agenților biologic activi

Conducător de doctorat:
Prof. dr. Ing. Cristian Pîrvu

Autor :
Drd. Ing. Alexandra Constantinescu

București, 2025

I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII ÎN DOMENIU

Capitol 1. Introducere. 14

1.1. Contextul științific și aplicativ 14

1.2. Motivația tezei de doctorat 15

1.3. Obiectivele și structura tezei 17

Obiectiv general 17

Capitol 2. Biomateriale și matrici funcționalizate pentru regenerare tisulară și controlul agenților biologic activi 20

2.1. Noțiuni introductive privind biomaterialele 20

2.2. Proprietățile biomaterialelor 22

2.3. Biomateriale nanostructurate 23

2.4. Interacțiunile biomoleculare 24

2.5. Proiectarea biomaterialelor 25

2.6. Utilizarea aliajelor de titan pentru aplicații biomedicale 27

2.7. Compuși bioactivi de interes și interacția lor cu suprafețe și matrici funcționalizate 28

2.7.1. Oxidul de zinc 28

2.7.2. Amoxicilina 30

2.7.3. D-Fructoza 30

Capitol 3. Suprafețe funcționalizate; tehnici de modificare și caracterizare 34

3.1. Tehnici de modificare a suprafeței 34

3.1.1. Funcționalizare prin nanostructurare 34

3.1.2. Funcționalizare prin electrospinning 37

3.1.3. Funcționalizare prin oxidarea anodică 38

3.1.4. Functionalizare prin depuneri la curent constant 40

3.1.5. Funcționalizare prin depuneri la potențial constant 40

3.1.6. Funcționalizare prin polarizare potențiodinamică 41

3.2. Tehnici de caracterizare a suprafeței 42

3.2.1. Caracterizarea prin tehnici non-electrochimice 42

3.2.1.1. Caracterizarea prin analiza unghiului de contact 42

3.2.1.2. Caracterizarea prin Microscopia de Forță Atomică (AFM) 44

3.2.1.3. Caracterizarea prin analiza SEM – morfologie, dimensiunea caracteristicilor, grosimea stratului 46

3.2.1.4. Caracterizarea prin analiza EDS/EDX – compoziția elementară a suprafeței 46

3.2.1.5. Caracterizarea prin analiza FT-IR 46

3.2.1.6. Caracterizarea prin analiza DLS 47

3.2.1.7. Caracterizarea prin Microduritatea Vickers 48

3.2.1.8. Caracterizarea prin analiza XRD 48
3.2.1.9. Caracterizarea prin Spectroscopia UV-Vis 50
3.2.2. Caracterizarea prin tehnici electrochimice 52
3.2.2.1. Caracterizarea prin voltametrie ciclică (CV) 52
3.2.2.2. Caracterizarea prin voltametria în puls diferențial (DPV) 53
3.2.2.3. Caracterizarea prin Spectroscopia de impedanță electrochimică (EIS) 54
3.2.2.4. Caracterizare prin analiza Mott–Schottky (M-S) 59
3.2.2.5. Caracterizarea prin Cronoamperometrie (CA) 60
3.2.2.6. Caracterizarea prin Cronopotențiometrie (CP) 61
3.2.2.7. Caracterizarea prin Analiza Tafel 61

Capitol 4. Testarea suprafețelor și matricilor funcționalizate în aplicații biomedicale 63

4.1. Introducere 63
4.2. Testarea efectului antibacterian 64
4.2.1. Tipuri de bacterii relevante biomedical și complexitatea biofilmului 64
4.3. Testarea analitică prin Rezonanță Plasmonică de Suprafață (SPR) 66
4.3.1. Rezonanța plasmonică electrochimică de suprafață (EC-SPR). Principii și aplicații. 67
4.4. Parametri de performanță (LoD, LoQ și curba de calibrare) 68

II. CERCETĂRI ORIGINALE

Capitol 5. Controlul și modularea activității antibacteriene prin proprietățile suprafeței 70

5.1. Introducere 70
5.2. Materiale și reactivi 71
5.3. Protocolul de acoperire/modificare și caracterizare a suprafeței 72
5.3.1. Protocolul de modificare a suprafeței 72
5.3.1.1. Curățarea 72
5.3.1.2. Oxidarea anodică 72
5.3.1.3. Electrodepunerea 73
5.3.1.4. Calcinarea 73
5.3.2. Tehnici de caracterizare a suprafeței 73
5.3.2.1. Microscopie electronică de baleiaj (SEM) 73
5.3.2.2. Microscopie de Forță Atomică (AFM) 73
5.3.2.3. Analiza unghiului de contact și energiei de suprafață 74
5.3.2.4. Spectroscopia UV-Vis-NIR 74
5.3.2.5. Eliberarea ionilor de zinc 74
5.3.2.6. Microduritatea Vickers 74

5.3.3. Evaluarea efectului antimicrobian 75
5.3.3.1. Inhibarea ratei de creștere (I, %) 75
5.3.3.2. Determinarea raportului bactericid (R, %) 75
5.4. Rezultate și discuții 76
5.4.1. Modificarea suprafeței prin nanostructurare 76
5.4.1.1. Nanostructurare prin oxidarea anodică 76
5.4.2. Nanostructurare prin depunerea electrochimică a oxidului de zinc (ZnO) 77
5.5. Caracterizarea suprafețelor 82
5.5.1. Analiza unghiului de contact și a energia de suprafață 82
5.5.2. Analiza AFM 84
5.5.3. Capacitatea stratului dublu electric (C_{dl}) 86
5.5.4. Spectroscopia de Impedanță Electrochimică (EIS) 88
5.5.5. Analiza Tafel 89
5.5.6. Eliberarea ionilor de zinc 90
5.5.7. Microduritatea Vickers 91
5.5.8. UV-Vis, energia benzii interzise optice și diagrama Tauc 93
5.5.9. Activitatea antibacteriană 95
5.6. Concluzii parțiale 98
Capitol 6. Detecția bacteriei Escherichia coli prin Rezonanța Plasmonică de Suprafață cuplată electrochimic (EC-SPR) 99
6.1. Introducere 99
6.2. Partea experimentală 100
6.2.1. Materiale și reactivi 100
6.2.1.1. Aparatură 100
6.2.1.2. Fitosinteza nanoparticulelor de aur (AuNPs) 100
6.2.1.3. Modificarea electrozilor SPR 101
6.3. Rezultate și discuții 101
6.3.1. Evaluarea electrochimică și SPR a E. coli pe electrodul de aur 101
6.3.2. Evaluarea electrochimică și SPR a E. coli pe electrodul de aur modificat cu AuNPs fitosintetizate 102
6.3.2.1. Caracterizarea spectroscopică FT-IR a AuNPs fitosintetizate 102
6.3.2.2. Modificarea electrodului de aur cu AuNPs fitosintetizate și semnal EC-SPR 103
6.3.3. Sensibilitatea și liniaritatea răspunsului EC-SPR în detecția E. coli pe electrodul de aur modificat 105
6.4. Concluzii parțiale 108
Capitol 7. Detecția amoxicilinei pe electrozi funcționalizați cu nanostructuri de ZnO obținute din fibroină de mătase 109

7.1. Introducere 109
7.2. Materiale și metode 109
7.2.1. Prepararea ZnO 109
7.2.2. Modificarea electrozilor de Glassy Carbon 110
7.2.3. Structuri ZnO și caracterizarea electrozilor modificați 110
7.2.4. Detecția Amoxicilinei 111
7.3. Rezultate și discuții 111
7.3.1. Caracterizarea electrodului modificat 111
7.3.2. Selectarea metodei voltametrice adecvate pentru detecția AMX 114
7.3.3. Îmbunătățirea semnalului electrodului pentru detecția AMX 117
7.3.4. Curba de calibrare 118
7.4. Concluzii parțiale 119
Capitol 8. Electrozi modificați cu Carbon Quantum Dots pentru Detecția D-Fructozei 121
8.1. Introducere 121
8.1.1. Substanțe chimice și reactivi 121
8.1.2. Materiale și metode 121
8.1.3. Sinteza Carbon Quantum Dots 122
8.1.4. Prepararea electrozilor modificați 122
8.1.5. Caracterizarea punctelor cuantice de carbon 124
8.2. Rezultate și discuții 125
8.3. Concluzii parțiale 129
Capitol 9. Concluzii 130
Referințe 133

I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII ÎN DOMENIU

Capitol 1. Introducere.

1.1. Contextul științific și aplicativ

Infecțiile asociate dispozitivelor medicale reprezintă una dintre cele mai importante provocări ale biomaterialelor moderne și ale medicinei clinice, având o incidență care continuă să crească proporțional cu numărul de implanturi utilizate în ortopedie, stomatologie, cardiologie sau urologie [1, 2]. Materialele implantabile, deși proiectate să fie biocompatibile, sunt inerent vulnerabile la colonizarea microbiană, deoarece, spre deosebire de țesuturile vii, ele nu beneficiază de mecanisme imune locale, vascularizație sau capacitatea de a elimina intrușii biologici [1, 2].

Imediat după implantare, biomaterialul intră în contact cu sângele și fluidele tisulare, declanșând o serie de procese interfaciale extrem de rapide. În primele secunde, proteinele serice precum albumina, fibrinogenul, fibronectina și imunoglobulinele se adsorb pe suprafață, conform modelului Vroman, într-o succesiune dictată de mobilitate, concentrație și afinitate [3]. Acest strat de proteine adsorbite redefinește complet identitatea suprafeței, ceea ce înseamnă că bacteriile nu interacționează cu materialul în sine, ci cu un strat biologic nou format [3]. Orientarea, structura și compoziția acestor proteine determină dacă suprafața va deveni favorabilă colonizării bacteriene sau permite celulelor umane să inițieze procesul normal de osteointegrare [4].

Competiția dintre bacterii și celulele gazdă pentru colonizarea suprafeței este un fenomen decisiv, iar rezultatul depinde de proprietățile fizico-chimice ale biomaterialului, de condițiile locale și de concentrația bacteriană inițială [5]. Dacă bacteriile reușesc să se ancoreze primele, procesul de formare a biofilmului este inițiat și devine aproape imposibil de întrerupt. Biofilmul reprezintă un sistem tridimensional organizat, compus din microorganisme încorporate într-o matrice extracelulară polizaharidică, proteică și lipidică, având proprietăți mecanice și chimice capabile să opună rezistență medicamentelor și sistemului imun [4, 5].

Rezistența la antibiotice conferită de biofilm este dramatic crescută, între 10 și 1000 de ori față de bacteriile planktonice, datorită unui set complex de mecanisme: difuzia limitată a antibioticelor, metabolismul redus al bacteriilor din zonele profunde, precum și modularea expresiei genelor de rezistență [6]. Acești factori explică de ce infecțiile cronice ale implanturilor sunt dificil de tratat și de ce soluția finală este adesea îndepărtarea chirurgicală a implantului, ceea ce implică morbiditate crescută, costuri ridicate și risc terapeutic semnificativ [7].

În acest context, devine evidentă necesitatea dezvoltării unor suprafețe funcționalizate, capabile nu doar să reziste colonizării bacteriene, ci și să joace un rol activ în prevenirea infecțiilor [8]. Suprafața implantului, de la compoziție la topografie, trebuie gândită astfel încât să intervină în etapele critice ale aderenței microbiene [4, 9]. Iar odată cu evoluția

nanomaterialelor, a apărut posibilitatea de a integra în structura suprafeței funcții multiple: proprietăți antiaderență, activitate bactericidă mecanică sau chimică, generare de specii reactive de oxigen și chiar platforme de detecție electrochimică a bacteriilor [4, 9].

O direcție este conceptul implanturilor inteligente, capabile să monitorizeze mediul local și să semnaleze instantaneu apariția bacteriilor sau a metaboliților specifici unei infecții [10, 11]. Integrarea senzorilor electrochimici direct pe suprafața biomaterialului deschide posibilitatea detectării timpurii a amoxicilinei, a metaboliților microbieni sau a compușilor precum D-Fructoza, implicată metabolic în unele procese inflamatorii și infecțioase [12]. Această digitalizare a suprafețelor biomaterialelor, combinată cu funcționalizare antibacteriană, reprezintă o evoluție strategică în prevenirea infecțiilor asociate implanturilor [13].

Motivația tezei de doctorat

În ciuda progreselor majore înregistrate în domeniul biomaterialelor și ingineriei biomedicale, rezultatele clinice sunt încă frecvent limitate de interacțiunile de la interfața dintre material și țesutul viu. Două provocări interconectate domină această interfață:

1. prevenirea colonizării microbiene și a formării biofilmului pe implanturi și dispozitive;
2. remodelarea arhitecturii funcționale a țesutului și a semnalizării, în special pentru țesuturile cu regenerare slabă, cum ar fi cartilajul. Infecția articulațiilor protetice rămâne rară, dar devastatoare; odată instalată, infecția asociată biofilmului este dificil de eradicat, deoarece bacteriile încorporate în biofilme devin protejate atât de antibiotice, cât și de apărarea imunitară a gazdei, necesitând adesea intervenții chirurgicale complexe de revizie și tratament prelungit [14, 15]. Această realitate clinică motivează dezvoltarea de interfețe care nu sunt doar inerte, ci rezistă activ atașării bacteriilor, menținând în același timp chimia și structurile suprafeței compatibile cu integrarea gazdei.

Un aspect care reiese din literatură este că performanța antibacteriană este rareori dictată de o singură caracteristică de suprafață. În schimb, atașarea și uciderea bacteriilor sunt modulate de un set de parametri cuplați, inclusiv topografia la scară nanometrică, rugozitatea la scară micro, energia și umectabilitatea suprafeței, comportamentul electrochimic și prezența nanofazelor bioactive care pot induce stresul oxidativ al membranei sau dezechilibrul acesteia [15-18]. În același timp, celulele gazdă răspund la multe dintre aceleași semnale. În consecință, proiectarea unei suprafețe relevante din punct de vedere clinic necesită optimizarea suprafeței în care cerințele antibacteriene și regenerative trebuie echilibrate, mai degrabă decât maximizate independent.

În acest context, studiul privind suprafețele funcționalizate pe aliaje de titan abordează o lacună centrală: modul în care multiple proprietăți ale suprafeței interacționează pentru a modula eficacitatea antibacteriană într-un mod sistematic. Aliajele pe bază de titan sunt utilizate pe scară largă datorită rezistenței lor la coroziune și biocompatibilității, dar rămân susceptibile

la aderența bacteriană, în special în condiții fiziologice în care colonizarea timpurie poate iniția formarea biofilmului. În studiul asupra Ti50Zr, s-au utilizat tehnici electrochimice controlate pentru a proiecta morfologii distincte ale oxidului anodic (oxid compact, nanotuburi și nanocanale) și pentru a introduce în continuare ZnO ca fază bioactivă, creând interfețe compozite concepute pentru a perturba viabilitatea bacteriană. Este important de menționat că rezultatele antibacteriene nu au urmat pur și simplu o tendință cu o singură variabilă, cum ar fi umectabilitatea. În schimb, concluziile generale susțin o viziune multiparametrică: efectele dependente de morfologie (de exemplu, nanocanalele care oferă un mod de interacțiune distinct în comparație cu nanotuburile) se combină cu mecanismele legate de ZnO (de exemplu, dimensiunea și distribuția nanoparticulelor) pentru a produce cel mai puternic răspuns antibacterian. În paralel, nanostructurile ZnO sunt recunoscute pe scară largă pentru activitatea antibacteriană prin generarea de specii reactive de oxigen, interacțiuni locale ale membranei și eliberarea de Zn^{2+}, eficacitatea fiind puternic influențată de dimensiunea particulelor și chimia suprafeței. Aceste cunoștințe oferă o bază științifică solidă pentru dezvoltarea interfețelor multifuncționale ca o cale către biomateriale metalice rezistente la infecții. Cu toate acestea, funcția antiinfecțioasă nu este suficientă pentru sistemele biomedicale de nouă generație.

O a doua motivație majoră a tezei este că prevenirea și tratamentul trebuie să fie asociate cu monitorizarea: biomarkerii infecției, încărcătura patogenă și terapiile relevante ar trebui, în mod ideal, să fie urmărite în timp real. Metodele convenționale de microbiologie sunt adesea lente, în timp ce simptomele clinice pot apărea numai după ce a avut loc o colonizare semnificativă . Acest lucru motivează strategii de detecție capabile să monitorizeze bacteriile patogene și compușii farmaceutici cu o sensibilitate ridicată și o simplitate operațională.

Cercetarea din teza de doctorat contribuie la această necesitate prin două direcții complementare de detecție. În primul rând, am dezvoltat o abordare EC-SPR fără etichetă (label free), bazată pe nanoparticule de aur sintetizate ecologic (AuNPs) folosind extract de broccoli, integrate pe un electrod disc de aur și aplicate la detecția *E. coli*. Testarea prin traductori optici/electrochimici este atractivă deoarece poate înregistra evenimente de legare interfacială fără a necesita etichetare complexă și poate fi adaptată pentru screening-ul rapid al agenților patogeni. În al doilea rând, am dezvoltat o platformă electrochimică pentru detecția amoxicilinei bazată pe nanostructuri de ZnO obținute din fibroină de mătase și încorporate într-un film Nafion pe electrod de carbon vitros. Detecția electrochimică a antibioticelor este motivată atât de factori clinici, cât și de factori de mediu: antibioticele sunt esențiale pentru gestionarea infecțiilor, însă utilizarea lor abuzivă și persistența lor contribuie la selecția rezistenței, în timp ce detecția lor în matrici relevante rămâne o provocare din punct de vedere analitic. Filmele pe bază de Nafion sunt frecvent utilizate în chimia electroanalitică, deoarece selectivitatea lor ionică și comportamentul antifouling (anti blocare a suprafeței) pot îmbunătăți stabilitatea semnalului și reduce interferențele, ceea ce este deosebit de valoros în probele complexe. Împreună, aceste două direcții de detecție (detecția agenților patogeni și monitorizarea antibioticelor) susțin o viziune mai amplă a tezei, în care biomaterialele funcționale sunt asociate cu platforme analitice.

O altă direcție, care completează tabloul de platforme de detecție, privește detecția zaharurilor și relevanța lor biomedicală, folosind D-fructoza ca model. Deși glucoza este cea mai studiată, fructoza este discutată ca marker/indicator în contexte metabolice și nutriționale (inclusiv în probe din urină sau alimentar), iar detecția sa selectivă rămâne dificilă din cauza interferenților și a similitudinii structurale cu alte monozaharide (16,17). În lucrarea dedicată D-fructozei, am utilizat arhitecturi bazate pe polipirol, Nafion și CQDs, evaluând atât spectroscopia de impedanță electrochimică (EIS), cât și voltametria cu undă pătrată (SWV) pentru răspuns analitic, și am evidențiat că simpla adăugare de CQDs nu garantează automat creșterea sensibilității, ceea ce întărește ideea centrală a tezei: performanța este determinată de interacția (compoziție–morfologie–transport) și trebuie optimizată rațional. Literatura susține această direcție, deoarece există exemple de detecție a monozaharidelor prin EIS cu materiale funcționalizate. Astfel, cercetarea mea se poziționează într-un subiect în care selectivitatea și stabilitatea se pot obține fie prin elemente de recunoaștere, fie prin ingineria interfeței și a transportului ionic/electronic.

Prin urmare, motivația cercetării mele doctorale este unificarea acestor direcții într-un cadru coerent de inginerie a interfeței pentru aplicații biomedicale:

- Nanostructurarea și funcționalizarea suprafețelor metalice (Ti50Zr) pentru a controla colonizarea bacteriană și a înțelege mecanismele dependente de topografie/chimie;

- Dezvoltarea de platforme de detecție (electrochimice și optice) care pot cuantifica bacterii sau molecule bioactive cu relevanță clinică și de mediu;

În toate aceste sisteme, performanța nu este determinată de un singur material sau o singură tehnică, ci de corelarea dintre morfologie, compoziție, transport ionic/electronic și condițiile experimentale. Teza urmărește să transforme această corelare într-o metodologie: definirea controlată a interfeței, măsurare cantitativă (EIS/CV/DPV/EC-SPR), validare statistică și interpretare detaliată, astfel încât rezultatele să poată fi transferate spre aplicații de biomateriale și platforme de detecție.

Obiectivele și structura tezei

Obiectiv general

- Dezvoltarea, funcționalizarea și caracterizarea unor suprafețe și matrici biomateriale pentru controlul, modelarea și detecția agenților biologic activi (bacterii și compuși bioactivi cum ar fi amoxicilina, D-fructoza), folosind tehnici avansate de modificare de suprafață, caracterizare fizico-chimică și metode electrochimice.

Obiective specifice

- Dezvoltarea și optimizarea procedurilor de funcționalizare a suprafețelor prin nanostructurare (oxidare anodică), depuneri electrochimice de ZnO și tratamente termice, pe aliaje de titan, în vederea obținerii unor suprafețe controlabile din punct de vedere morfologic, chimic și electrochimic cu efect antibacterian.

- Caracterizarea complexă a suprafețelor și matricilor funcționalizate prin tehnici morfologice, structurale, optice și mecanice (SEM, AFM, unghi de contact, UV-Vis, XRD, microduritate, eliberare de Zn^{2+}), respectiv prin metode electrochimice (CV, DPV, EIS, Mott–Schottky, CA, Tafel) și corelarea acestor rezultate cu modul de realizare a funcționalizării și interacția cu agenții biologic activi.

- Evaluarea și controlul activității antibacteriene a suprafețelor nanostructurate și acoperite cu ZnO, prin teste specifice (inhibarea ratei de creștere, raport bactericid) și prin corelarea răspunsului antibacterian cu proprietățile de suprafață.

- Dezvoltarea de platforme EC-SPR pentru detecția bacteriei *Escherichia coli* pe electrozi de aur nemodificați și modificați cu nanoparticule de aur fitosintetizate.

- Elaborarea și testarea unor platforme electrochimice pentru detecția compușilor bioactivi prin dezvoltarea de electrozi funcționalizați cu nanostructuri de ZnO (pentru detecția amoxicilinei) și cu Carbon Quantum Dots (pentru detecția D-fructozei).

Teza este structurată în două părți principale: Partea I, care constituie partea de literatură (Capitolul 1, Capitolul 2, Capitolul 3 și Capitolul 4) și Partea II, care constituie partea de contribuții originale (Capitolul 5, Capitolul 6, Capitolul 7 și Capitolul 8). Concluziile tezei de doctorat sunt descrise în Capitolul 9.

Capitolul 1 prezintă problema infecțiilor asociate implanturilor și rolul critic al interfeței material–țesut: competiția bacterii/celule gazdă, formarea biofilmului și limitele terapiei antibiotice. Se motivează necesitatea suprafețelor funcționalizate și a „implanturilor inteligente” care combină proprietăți antibacteriene cu funcții de detecție. Sunt definite obiectivul general și obiectivele specifice: nanostructurarea aliajelor Ti50Zr, dezvoltarea de platforme EC-SPR pentru *E. coli*, senzori electrochimici pentru amoxicilină și D-fructoză și corelarea performanțelor cu proprietățile de suprafață.

Capitolul 2 reprezintă partea de sinteză teoretică: se definesc biomaterialele, biocompatibilitatea, implanturile, mineralizarea, osteoconducția și osteoinducția, insistând pe rolul chimiei și topografiei de suprafață. Se descriu proprietățile chimice și fizico-chimice esențiale (hidrofilicitate, energie de suprafață, degradare, răspuns imun), iar apoi se discută biomaterialele nanostructurate, clasificarea nanomaterialelor (0D–3D) și interacțiunile biomoleculare (adsorbția proteinelor, adeziunea celulară, degradarea enzimatică, răspunsul

imun). Sunt prezentate principii de proiectare a biomaterialelor (polimeri inteligenți, funcționalizare de suprafață, bioconjugare) și rolul aliajelor Ti–Zr în aplicații biomedicale, precum și trei clase de compuși bioactivi de interes în teză: ZnO, amoxicilina și D-fructoza.

Capitolul 3 prezintă tehnicile folosite pentru a modifica și analiza suprafețele: nanostructurare (inclusiv prin oxidare anodică), depuneri electrochimice la curent/potențial constant și polarizare potențiodinamică. Pentru caracterizare sunt prezentate metode non-electrochimice (unghi de contact, AFM, SEM/EDS, FT-IR, DLS, microduritate Vickers, XRD, UV-Vis) și tehnicile electrochimice CV, DPV, EIS, Mott–Schottky, CA, și analiza Tafel, care vor fi ulterior folosite pentru a corela structura și chimia suprafeței cu răspunsul antibacterian și analitic.

Capitolul 4 descrie tipurile de bacterii relevante și formarea biofilmului, apoi metodologiile de testare a efectului antibacterian (inhibarea ratei de creștere, raport bactericid). Partea a doua introduce principiile Rezonanței Plasmonice de Suprafață (SPR) și ale EC-SPR, precum și parametrii de performanță analitică LoD și LoQ, împreună cu modul de determinare prin curbe de calibrare și rolul chimiei suprafeței pentru platformele de detecție.

Capitolul 5 prezintă elaborarea aliajelor Ti50Zr cu trei tipuri de oxid anodic (oxid compact, nanotuburi, nanocanale) și depunerea ulterioară de ZnO prin electrodepunere pulsată și calcinare. Suprafețele sunt analizate morfologic (SEM, AFM), prin unghi de contact/energie de suprafață, capacitea stratului dublu electric (C_{dl}), EIS, Tafel, microduritate, band-gap optic și eliberare de Zn^{2+}. Rezultatele arată că răspunsul antibacterian nu depinde de un singur parametru (de ex. doar umectabilitate sau doar Zn^{2+}), ci de o combinație de topografie nanometrică, proprietăți electrochimice și distribuția ZnO. Nanocanalele acoperite cu ZnO oferă cel mai bun compromis între nanostructurare și activitate antibacteriană.

5.5.3. Capacitatea stratului dublu electric (C_{dl})

La interfața biomaterial–electrolit, relația dintre sarcina de suprafață și interfața oxid–soluție influențează capacitanța stratului dublu (C_{dl}), o caracteristică esențială pentru interacțiile de suprafață. Studii anterioare evidențiază rolul stratului dublu electric în aderența bacteriană, deoarece suprafețele celulelor bacteriene sunt, în general, încărcate negativ în condiții fiziologice, ceea ce poate induce respingere la apropierea de suprafețe din aliaje de titan încărcate negativ [202].

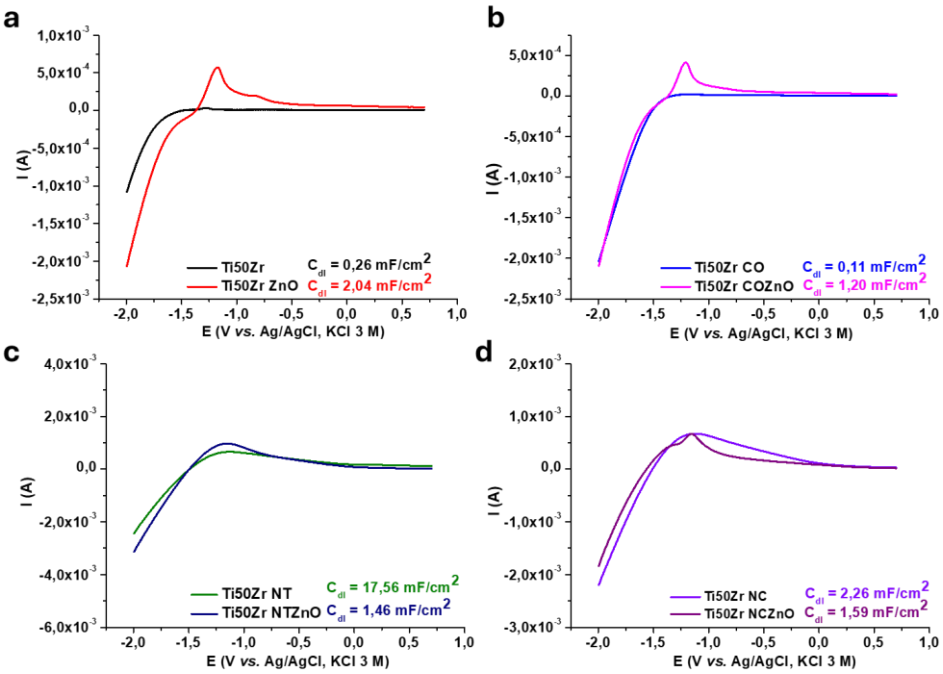


Figura 33. *Ramura anodică a voltamogramelor ciclice utilizate pentru calculul C_{dl}, corespunzătoare probelor: (a) Ti50Zr și acoperit cu ZnO, (b) Ti50Zr CO și acoperit cu ZnO, (c) Ti50Zr NT și acoperit cu ZnO, (d) Ti50Zr NC și acoperit cu ZnO.*

După primul pas de modificare a suprafeței, formarea stratului compact de oxid pe aliajul Ti50Zr a netezit suprafața, reducând aria activă și scăzând C_{dl} (***Figura 33, a și b***). În contrast, nanostructurarea Ti50Zr cu un strat poros de nanotuburi (NT) îmbunătățește umectabilitatea și rugozitatea suprafeței, favorizând transferul de sarcină și formarea stratului dublu. Rugozitatea și porozitatea crescute pentru Ti50Zr NT și Ti50Zr NC contribuie la valori C_{dl} mai ridicate, în special pentru Ti50Zr NT (5,66 mF/cm^{-2}), sugerând o adsorbție și desorbție ionică mai eficientă. Ti50Zr NC, având rugozitate și S_{dr} mai mari, prezintă un C_{dl} mai scăzut (2,26 mF/cm^{-2}), probabil din cauza dimensiunilor mai mici ale nano-canalelelor și a unei stări de suprafață intermediare între modelele Cassie și Wenzel.

În a doua etapă de modificare, depunerea de ZnO pe suprafața Ti50Zr crește valoarea C_{dl}, ***Figura 33, a***. Acest fenomen este observat la acoperirile cu oxizi metalici, așa cum se vede în cazul Ti50Zr CO, unde depunerea electrochimică pulsată de Zn și formarea ulterioară a structurilor de tip ZnO-rod măresc suprafața activă și C_{dl} (de la 0,11 la 1,2 mF/cm^{-2}). Totuși, pentru Ti50Zr NTZnO și Ti50Zr NCZnO, C_{dl} scade după depunerea de ZnO. Această reducere se datorează probabil scăderii rugozității, conform analizei AFM, unde depunerea de ZnO pe pereții și spațiile dintre nanotuburi și nanocanale reduce aria de suprafață activă.

5.5.9. Activitatea antibacteriană

Activitatea antibacteriană a probelor Ti50Zr, modificate cu diferite structuri de suprafață și acoperiri, a fost evaluată utilizând testele de inhibare a ratei de creștere și raport bactericid. Substratul Ti50Zr nemodificat (C*) a prezentat cea mai scăzută rată de inhibiție împotriva E. coli (20%), conform ***Tabel 9***. Modificările de suprafață au îmbunătățit semnificativ proprietățile antibacteriene, nanostructurile Ti50Zr NC (cu forme asemănătoare unor ace) prezentând cea mai ridicată rată de inhibiție, de 60%, ceea ce reprezintă o îmbunătățire de +41% comparativ cu substratul nemodificat. Acoperirile cu ZnO au amplificat în continuare efectul antibacterian. În mod specific, Ti50Zr NCZnO a prezentat cea mai bună performanță antibacteriană, cu o rată de inhibiție de 75%, în timp ce Ti50Zr NTZnO a înregistrat o rată de 71%, ceea ce reprezintă un +47% față de Ti50Zr NT. Rezultatele obținute prin cele două metode utilizate sunt foarte apropiate ca valori.

Tabel 9. *Activitatea antibacteriană. Inhibiția ratei de creștere (%) și raportul bactericid (%).*

Proba	Inhibarea ratei de creștere (%)	Raportul bactericid (%)
Ti50Zr	C*	C*
Ti50Zr ZnO	57	56
Ti50Zr CO	20	21
Ti50Zr COZnO	54	55
Ti50Zr NT	24	25
Ti50Zr NTZnO	71	70
Ti50Zr NC	60	63
Ti50Zr NCZnO	75	77

Modificarea suprafeței Ti50Zr a influențat în mod semnificativ caracteristicile suprafeței, precum hidrofobicitatea, energia de suprafață, rugozitatea și capacitanța (C_{dl}), care influențează adeziunea bacteriană. După cum este sumarizat în ***Tabel 10***, Ti50Zr NT, care a prezentat cea mai mare energie de suprafață și cea mai ridicată hidrofobicitate, nu a arătat o îmbunătățire majoră a eficienței antibacteriene (24% rată de inhibiție, 25% raport bactericid). N

Tabel 10. *Caracteristici comparative ale probelor anodizate (Ti50Zr CO, Ti50Zr NT și Ti50Zr NC) față de substratul nemodificat.*

Caracteristici	Ti50Zr CO *vs.* Substrat nemodificat	Ti50Zr NT *vs.* Substrat nemodificat	Ti50Zr NC *vs.* Substrat nemodificat
Hidrofilicitatea, °	ușor mai hidrofilă (+)	mai hidrofilă (+++)	mai hidrofilă (++)
Energia de suprafață, mJ/m²	la fel (=)	mai ridicată (++)	mai ridicată (+)
Rugozitatea (Rms), µm	mai scăzută (-)	mai ridicată (+)	mai ridicată (++)
C_{dl}, mF/cm²	mai scăzută (-)	mai ridicată (++)	mai ridicată (+)
Morfologia (Nanostructurarea stratului de oxid)	Oxid compact	Nanotuburi	Nanocanale
Eficiența antibacteriană	ușor mai ridicată	ușor mai ridicată	mai ridicată
Rata de inhibiție, I, %	(20%)	(24%)	(60%)
Raportul bactericid, R, %	(21%)	(25%)	(63%)

- *Numărul de (+)/(–) indică ordinea de creștere/scădere a valorilor parametrilor în comparație cu proba de referință. (=) înseamnă valori similare.*

În schimb, Ti50Zr NC, cu o suprafață mai puțin hidrofilă și o energie de suprafață mai redusă (61 mJ m^{-2}), a prezentat cea mai ridicată eficiență antibacteriană, cu o rată de inhibiție de 60% și un raport bactericid de 63%, sugerând că rugozitatea și morfologia suprafeței (nanostructuri ascuțite, cu raport de aspect mare) sunt mai importante decât hidrofilicitatea în promovarea activității antibacteriene. Structura ascuțită a nanocanalelelor Ti50Zr NC pătrunde probabil membranele bacteriene, provocând stres oxidativ și deteriorare mecanică, ceea ce duce la o performanță antibacteriană îmbunătățită.

Depunerea de ZnO a influențat suplimentar activitatea antibacteriană, ZnO formându-se în diferite morfologii în funcție de structura suprafeței de bază. După cum se observă în ***Tabel 11***, Ti50Zr NTZnO, cu nanoparticule de ZnO (~10 nm), a prezentat cea mai mare creștere a eficienței antibacteriene (+47%), în timp ce Ti50Zr NCZnO, cu nanotije de ZnO (~80 nm), a prezentat o creștere mai modestă (+15%). Efectul antibacterian al ZnO se atribuie mai multor mecanisme, inclusiv interacției electrostatice, eliberării ionilor Zn^{2+} și potențialei generări de specii reactive de oxigen (ROS). Astfel, performanța antibacteriană a aliajelor Ti50Zr este influențată de o combinație de proprietăți electronice, morfologie a suprafeței și caracteristici ale nanoparticulelor de ZnO. Deși energia benzii interzise și pozițiile marginilor de bandă, susțin generarea de ROS, impactul lor pare secundar față de factorii morfologici și mecanici. Eficiența antibacteriană crescută este determinată în principal de caracteristici precum rugozitatea mărită, nanostructuri ascuțite care permit penetrarea membranei și activitatea nanoparticulelor mici de ZnO, care maximizează contactul și perturbarea bacteriană.

Tabel 11. *Caracteristici comparative ale probelor acoperite cu ZnO față de cele neacoperite.*

Caracteristici	Ti50Zr ZnO *vs.* Ti50Zr	Ti50Zr COZnO *vs.* Ti50Zr CO	Ti50Zr NTZnO *vs.* Ti50Zr NT	Ti50Zr NCZnO *vs.* Ti50Zr NC
Hidrofilicitatea, °	ușor mai puțin hidrofilă (--)	hidrofobă (---)	ușor mai puțin hidrofilă (-)	hidrofobă (----)
Energia de suprafață, mJ/m²	mai ridicată (++)	mai ridicată (++++)	puțin mai ridicată (+)	mai ridicată (+++)
Rugozitatea (Rms), µm	mai ridicată (++++)	mai ridicată (+++)	mai scăzută (--)	mai scăzută (-)
C_{dl}, mF/cm²	mai ridicată (++)	mai ridicată (+)	mai ridicată (-)	mai scăzută (--)
Morfologia (Nanostructurarea ZnO)	nanotije (~80 nm)	tije (~200 nm)	nanoparticule (~10 nm)	nanotije (~80 nm)
Conținutul de Zn al suprafeței (EDS)	(+++)	(++++)	(++)	(+)
Eliberarea ionilor de Zn^{2+}	(++++)	(+++)	(+)	(++)
Eficiența antibacteriană	**mai ridicată (+38%)**	**mai ridicată (+34%)**	**mai ridicată (+47%)**	**mai ridicată (+15%)**

- *Numărul de (+)/(–) indică ordinea de creștere/scădere a parametrilor în comparație cu proba de referință.*

În ciuda faptului că Ti50Zr NTZnO are cel mai scăzut conținut de ZnO la suprafață și cea mai redusă eliberare de ioni Zn2+ ($1{,}37 \times 10^{-5}$ mol L^{-1}), acesta a prezentat cea mai mare îmbunătățire a eficienței antibacteriene, evidențiind că morfologia suprafeței, în special prezența nanoparticulelor mici de ZnO, poate fi un factor mai important decât cantitatea de ZnO prezentă sau energia suprafeței.

Tabelul 11 arată și că Ti50Zr ZnO și Ti50Zr COZnO au prezentat eficiențe antibacteriene similare (+38% și +34%, respectiv), în timp ce Ti50Zr NCZnO a avut o îmbunătățire mai redusă a performanței antibacteriene. Acest lucru sugerează că o combinație între morfologia suprafeței obținută în primul pas de modificare și depunerea de ZnO din al doilea pas joacă un rol semnificativ în amplificarea activității antibacteriene, structurile nano-ascuțite permițând o inhibare bacteriană mai eficientă.

Din punct de vedere statistic, valorile CFU au variat considerabil între suprafețele testate. Controlul Ti50Zr neacoperit a prezentat cea mai mare aderență bacteriană (CFU mediu = 522), confirmându-i proprietățile antibacteriene limitate.

Dintre probele modificate, Ti50Zr NCZnO a prezentat cel mai eficient comportament antibacterian, cu o reducere semnificativă a CFU (medie = 120 ± 5,7), corespunzând unei rate de inhibiție de aproximativ 75%. Similar, Ti50Zr COZnO a demonstrat efecte antibacteriene puternice (medie = 157 ± 1,5). În schimb, probe precum Ti50Zr NTZnO și Ti50Zr ZnO au arătat reduceri moderate ale CFU, dar nu au diferit semnificativ de control din punct de vedere statistic.

Capitolul 6 dezvoltă o platformă EC-SPR bazată pe un electrod de aur SPR modificat cu nanoparticule de aur fitosintetizate din extract de broccoli. Sunt prezentate sinteza și caracterizarea AuNPs (FT-IR, SEM), modificarea electrodului și măsurători combinate electrochimic/SPR pentru *E. coli* pe electrodul nemodificat și pe cel modificat. Acoperirea cu AuNPs prezintă sensibilitate și liniaritate superioare, cu LoD și LoQ scăzute, obținute fără anticorpi sau aptameri, demonstrând posibilitatea detecției rapide și label-free a încărcăturilor bacteriene mici în contexte alimentare, de mediu sau clinice.

6.3. Rezultate și discuții

6.3.1. Evaluarea electrochimică și SPR a *E. coli* pe electrodul de aur

Studiile anterioare au arătat că membranele bacteriene, inclusiv cele ale *E. coli*, poartă o sarcină negativă netă în condiții fiziologice [19]. Prin urmare, aplicarea unei polarizări pozitive (+0,4 V) îmbunătățește captarea bacteriană prin atracție electrostatică, în timp ce polarizarea negativă (-0,4 V) respinge bacteriile de la suprafață (***Figura 39, a***). În timpul polarizării negative, s-a observat o scădere clară a semnalului SPR, indicând desorbția bacteriană (***Figura 39, b***). În schimb, aplicarea unei polarizări de +0,4 V a produs o creștere semnificativă a intensității semnalului, confirmând acumularea specifică de *E. coli* la interfața electrodului (***Figura 39, b***). Acest comportament este în concordanță cu constatările anterioare conform cărora intensitatea SPR este modulată de proximitatea și densitatea analiților biologici la suprafața aurului [20].

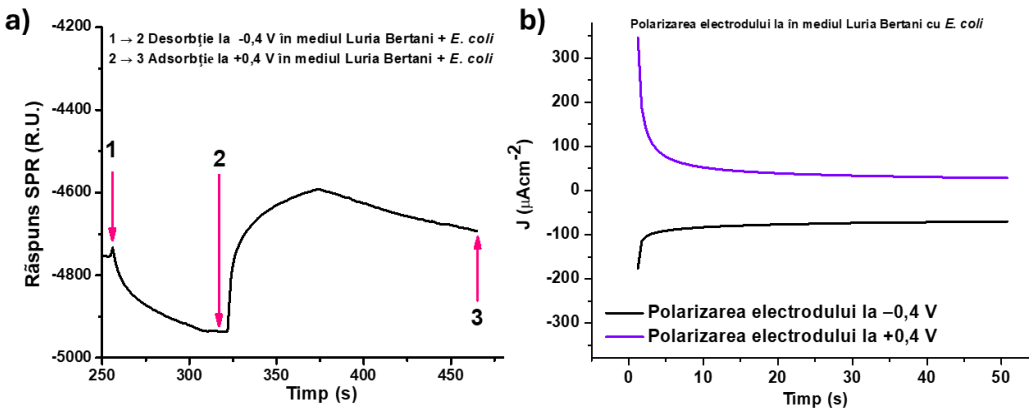


Figura 39. *Semnale de cuplare EC-SPR: a) Curbe cronoamperometrice corespunzătoare desorbției (-0,4 V) și adsorbției (+0,4 V) E. coli și b) semnal SPR corespunzător desorbției (-0,4 V) și adsorbției (+0,4 V) E. coli.*

6.3.3. Sensibilitatea și liniaritatea răspunsului EC-SPR în detecția E. coli pe electrodul de aur modificat

Sensibilitatea suprafeței a fost calculată din panta curbei de calibrare. Valoarea obținută este 0,0043 R.U./(CFU/mL). Coeficientul de corelație foarte ridicat (R^2 = 0,996) arată o liniaritate bună în acest interval de concentrație. Pentru a evalua performanța analitică a platformei de detecție EC-SPR, LoD și LoQ au fost calculate pe baza datelor de calibrare și au fost utilizate formulele prezentate într-un studiu [21]. A fost realizat un model de regresie liniară pentru răspunsul SPR în funcție de concentrația *de E. coli*, rezultând o pantă de 0,0043 R.U./(CFU/mL) și o deviație standard reziduală (σ) de 3,70 R.U.

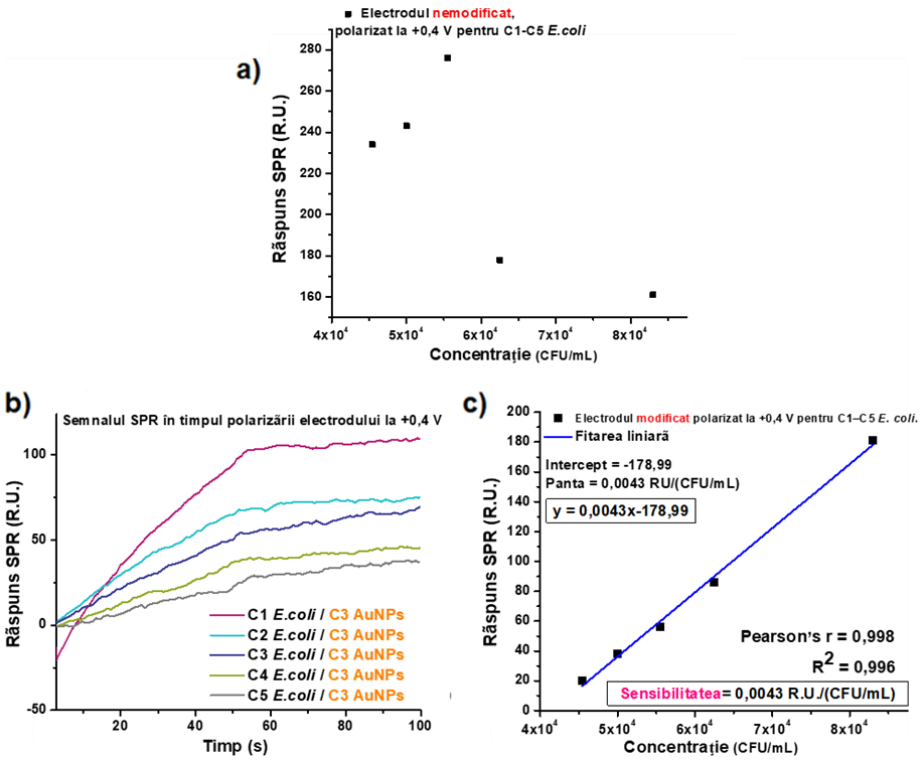


Figura 43. *a) Intensitatea răspunsului SPR pentru fiecare concentrație bacteriană fără nanoparticule, b) semnalul SPR pentru fiecare concentrație bacteriană în prezența probei C3 AuNPs, c) Curba de calibrare pentru semnalul SPR din b).*

Pe baza acestor calcule, s-au obținut o valoare LoD de 0,454 × 10^5 CFU/mL și o valoare LoQ de 0,830 × 10^5 CFU/mL. Aceste valori sunt dovezi clare ale adecvării sistemului pentru detecția concentrațiilor și volumelor scăzute de *E. coli* în probele apoase. O astfel de răspuns liniar este esențial pentru aplicațiile din lumea reală, unde cuantificarea precisă a contaminării bacteriene este foarte importantă. Sensibilitatea și corelația obținute sunt comparabile sau superioare valorilor raportate în alte sisteme de detecție EC-SPR pentru detecția *E. coli*. Se poate remarca faptul că aceste performanțe au fost obținute fără utilizarea elementelor de recunoaștere biologică, cum ar fi anticorpii sau aptamerii. Această realizare simplifică testarea și îmbunătățește durata de viață și robustețea platformei de detecție obținute.

Capitolul 7 dezvoltă o platformă de detecție pentru amoxicilină **pe bază de ZnO pornind de la fibroină** de mătase *Bombyx mori* și $Zn(NO_3)_2$, obținându-se structuri fibrare, nanometrice, cu faze cristaline de wurtzite, confirmate prin SEM, FT-IR și XRD. Aceste nanostructuri sunt încorporate într-un film Nafion depus pe electrod de carbon vitros, iar diferiți parametri (concentrație ZnO, timp de uscare) sunt optimizați. Se compară CV și DPV pentru detecția amoxicilinei, DPV dovedindu-se superior; se construiește curba de calibrare și se obține o valoare LoD de 0,02 µM, comparabilă sau mai bună decât în literatura de specialitate, demonstrând potențialul senzorului pentru monitorizarea antibioticelor.

7.3.4. Curba de calibrare

Pentru a obține curba de calibrare, au fost preparate soluții de AMX în PBS cu concentrații între 5 și 110 µM. O creștere a înălțimii vârfului corespunzătoare creșterii

concentrației de amoxicilină este observată în ***Figura 52, b***. Reacția de oxidare a AMX (***Figura 52, a***) pe electrodul GC/Nafion/ZnO 9 duce la o curbă de calibrare cu o bună liniaritate, R^2 = 0,998, așa cum se observă în inserția din ***Figura 52, b***.

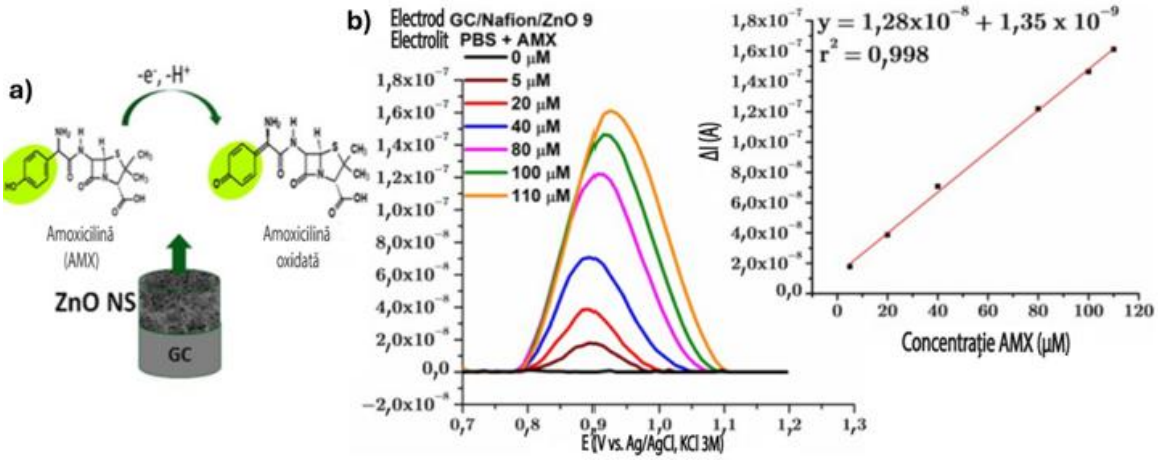


Figura 52. *a) Reacția redox a Amoxicilinei, b) Curbele DPV în soluție de PBS cu Amoxicilină, 6 concentrații diferite și curba de calibrare utilizând electrodul GC/Nafion/ZnO 9.*

LoD și LoQ au fost calculate, respectiv limita de detecție și limita de cuantificare, conform metodei de regresie liniară. LoD a fost 0,02 µM, iar LoQ a fost 0,05 µM.

Capitolul 8 urmărește realizarea unei platforme de detecție **non-enzimatică** pentru D-fructoză, folosind electrozi de GCE modificați cu polipirol (PPy), Nafion și Carbon Quantum Dots (CQDs) obținute electrochimic din grafit sau tije de carbon. Sunt descrise compoziția, condițiile electrochimice și diferitele arhitecturi de electrod. Rezultatele arată că simpla introducere de CQDs nu garantează creșterea sensibilității. Performanța optimă apare doar când sunt ajustate simultan morfologia, compoziția și transportul ionic/electronic, iar pentru arhitectura optimă se obține un răspuns liniar în intervale relevante biomedical pentru concentrațiile de D-fructoză.

8.1.5. Caracterizarea punctelor cuantice de carbon

Între cele două metode de sinteză a CQD-urilor s-a observat o diferență remarcabilă la nivelul fluorescenței. Aceasta a fost evidențiată după expunerea lor la o lampă UV cu lungimea de undă de 365 nm. Nanoparticulele sintetizate în soluția de KOH și etanol au prezentat fluorescență la suprafața soluției, în comparație cu restul soluției unde punctele cuantice erau aglomerate (***Figura 58, a***). Particulele au prezentat cea mai bună fluorescență în întreaga soluție, având o culoare albastru deschis, după ce au fost sintetizate în soluția apoasă de acid citric și NaOH (***Figura 58, b***). Conform literaturii [22, 23], dimensiunile CQD-urilor sintetizate prin prima metodă se situează în intervalul 3–5 nm, datorită culorii verde-portocalii. Pentru CQD-urile sintetizate prin a doua metodă, dimensiunile sunt în intervalul 2–2,5 nm.

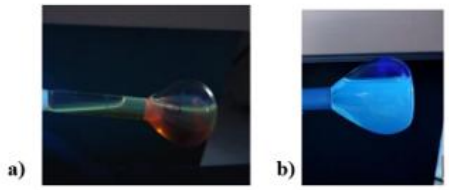


Figura 58. *CQDs sintetizate în: a) soluție de KOH și etanol și b) soluție de acid citric și NaOH.*

8.2. Rezultate și discuții

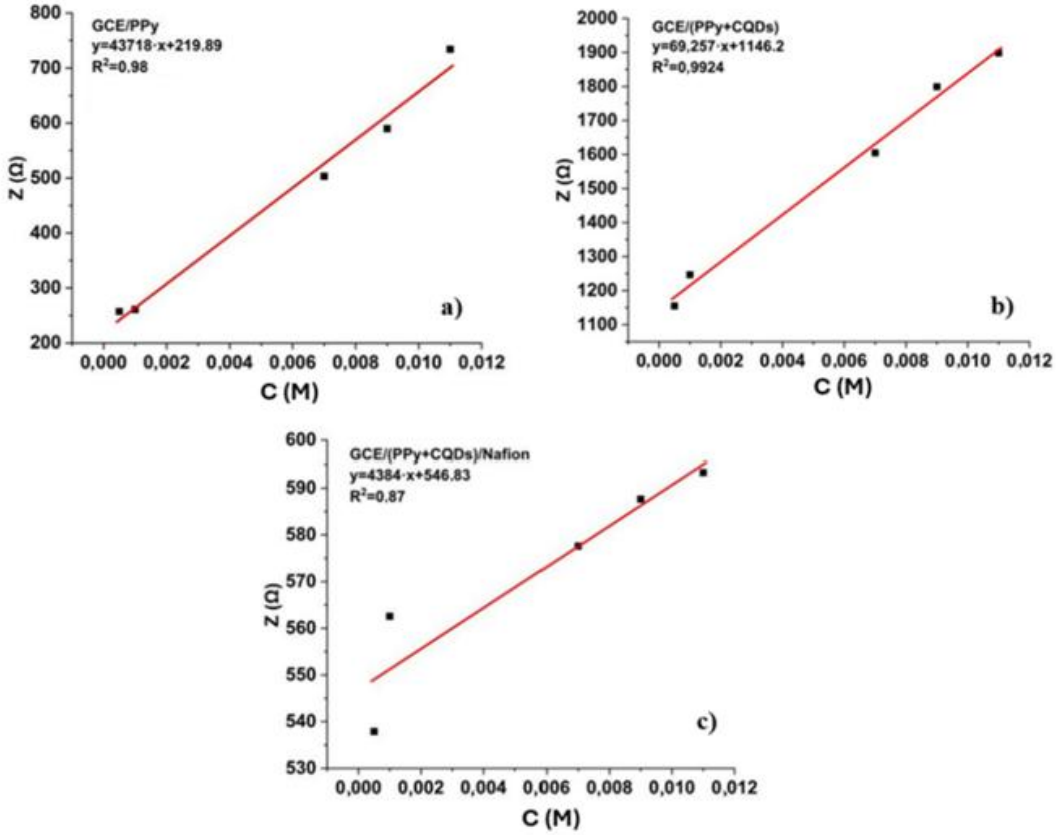


Figura 63. *Curbele de calibrare corespunzătoare probelor: a) GCE/PPy, b) GCE/PPy/(PPy + 3 mL CQDs), c) GCE/PPy/(PPy + 3 mL CQDs)/Nafion.*

Pentru electrodul de carbon vitros modificat cu polipirol și CQDs, GC/(PPy + CQDs), inserarea CQD-urilor în soluția de Py în timpul polimerizării și modificării suprafeței electrodului a îmbunătățit liniaritatea răspunsul electrodului probabil datorita unei adsorbții slabă–moderată și reversibilă a D-fructozei la suprafață care a condus la o mai buna fixare pe suprafață și la îmbunătățirea semnalului electrodului. Pentru curba de calibrare obținută coeficientul de determinare R^2 este 0,9924.

Capitolul 9 descrie principalele concluzii formulate.

Teza integrează într-un cadru unitar procesele de modificare, caracterizare și aplicare a suprafețelor funcționalizate pentru controlul, modularea și detecția agenților biologic activi. Abordarea a urmărit atât optimizarea interfeței material–sistem biologic, cât și dezvoltarea unor platforme analitice capabile să ofere răspunsuri rapide și sensibile în contexte biomedicale relevante.

Concluzii privind controlul și modularea activității antibacteriene împotriva E. coli. a suprafețelor aliajelor de titan

Controlul activității antibacteriene împotriva *E. coli*. a fost realizat prin modularea proprietăților suprafeței unui aliaj de titan (Ti50Zr). S-a dovedit că răspunsul antibacterian al unui implant metalic nu este dictat de un singur factor, ci de un set de proprietăți ale suprafeței cum ar fi: umectabilitata și energia de suprafață, sarcina de suprafață, rugozitatea la scară nanometrică și morfologia, care împreună guvernează atașarea bacteriană, stresul membranar și eventuala moarte celulară. Studiul oferă o analiză cuprinzătoare a performanței antibacteriene împotriva bacteriei *E. coli* a aliajelor Ti50Zr modificate prin oxidare anodică cu formarea straturilor de oxizi - oxid compact (CO), nanotuburi (NT) și nanocanale (NC) - și electrodepunere pulsată (acoperire cu ZnO), evidențiind interacțiile multifactoriale care guvernează aderența și inhibiția bacteriană. Structura Ti50Zr NC a prezentat cea mai ridicată eficiență antibacteriană, cu o rată de inhibiție de 60%, atribuită morfologiei sale nanostructurate. Acoperirea cu ZnO a amplificat în continuare activitatea antibacteriană, Ti50Zr NCZnO prezentând cea mai mare rată de inhibiție (75%), sugerând un efect sinergic între nanostructurarea suprafeței și inactivarea bacteriană mediată de ZnO.

Mecanismul antibacterian este determinat în principal de o combinație între interacția de suprafață (datorată nanostructurării suprafeței), stresul oxidativ mediat de ZnO și interacțiile electrostatice, nu de un singur factor dominant. Rezultatele acestui studiu subliniază importanța modelării suprafeței prin nanostructurare și integrare de ZnO pentru controlul proprietăților antibacteriene. Constatările evidențiază interacțiunea complexă dintre morfologia suprafeței, proprietățile fizico-chimice și interacțiile bacteriene mediate de ZnO, oferind perspective valoroase pentru dezvoltarea următoarei generații de biomateriale antibacteriene pentru aplicații medicale.

Concluzii privind platforma EC-SPR pentru detecția E. coli

Acest studiu presupune modificarea unui electrod de aur cu nanoparticule de aur (AuNPs) produse printr-un proces fitochimic ecologic utilizând extract de frunze de broccoli (Brassica oleracea) pentru a construi o platformă de detecție pentru *E. coli* bazată rezonanța plasmonică de suprafață cuplată electrochimic (EC-SPR). Integrarea nanoparticulelor de aur fitosintetizate în stratul activ al senzorului EC-SPR a crescut semnificativ sensibilitatea optic-electrochimică față de E. coli, demonstrând un răspuns liniar și reproductibil fără necesitatea

anticorpilor sau aptamerilor. Sistemul EC-SPR a permis detecția rapidă, label-free a bacteriilor, cu LoD și LoQ reduse, permițând monitorizarea contaminării biologice în timp real. Această metodă oferă o alternativă durabilă și ecologică la procedurile imunologice clasice, consolidând conceptul de senzori bio-funcționali integrați în materiale biomedicale.

Concluzii privind platforma electrochimică pentru detecția amoxicilinei

Un nou sistem de detecție electrochimică bazat pe nanostructuri de ZnO crescute într-o matrice naturală de fibroină de mătase a fost obținut prin modificarea electrodului de carbon vitros cu aceste nanostructuri. Structurile nanometrice de ZnO obținute din fibroină de mătase au prezentat proprietăți optice și cristaline specifice fazei wurtzite, favorabile transferului de sarcină. Nanostructurile de ZnO, cu porozitate ridicată și formă fibrilară, au fost depuse pe suprafața electrodului din carbon vitros prin încorporare într-o matrice polimerică Nafion. Încorporarea lor într-un film Nafion pe electrodul GC a îmbunătățit selectivitatea și stabilitatea sistemului de detcție.

Voltametria în puls diferențial a fost optimizată pentru detecția amoxicilinei, atingând o limită de detecție de 0,02 μM, mai bună sau comparabilă cu valorile raportate în literatură. Platforma propusă oferă potențial pentru monitorizarea antibioticelor în fluide biologice și în probe de mediu, fiind compatibilă cu integrarea în sisteme portabile.

Concluzii privind detecția D-fructozei cu electrozi modificați cu CQDs

Studiul presupune realizarea unui sistem de detecție non-enzimatic pentru detecția D-fructozei utilizând electrozi pe bază de carbon, modificați cu polipirol și Nafion, la care au fost adăugați CQDs. Electrodul de GCE nemodificat și electrozii cu suprafața modificată au fost testați impedimetric în diferite concentrații de D-fructoză. Electrodul de carbon vitros nemodificat nu a prezentat o corelare a raspunsului impedimetric cu variația concentrațiilor de D-fructoza, ceea ce nu a condus la obținerea unei curbe de calibrare specifice. Pentru electrodul de carbon vitros modificat cu polipirol, GCE/PPy, s-a obținut o curbă de calibrare cu un coeficient de determinare R^2 de 0,986 datorită unui răspuns mult îmbunătățit comparativ cu electrodul GCE nemodificat. PPy oxidat (PPy^+) prezintă un schelet cu sarcină pozitivă distribuită uniform care realizează o interacție mai bună cu D-fructoza prin legături de hidrogen.

Pentru electrodul de carbon vitros modificat cu polipirol și CQDs, GCE/(PPy + CQDs), inserarea CQD-urilor în soluția de Py în timpul polimerizării și modificării suprafeței electrodului a îmbunătățit liniaritatea răspunsul electrodului probabil datorita unei adsorbții slabă–moderată și reversibilă a D-fructozei la suprafață care a condus la o mai buna fixare pe suprafață și la îmbunătățirea semnalului electrodului evidențiată printr-un coeficientul de determinare R^2 este 0,9924, conform curbei de calibrare. Adăugarea de Nafion în structura filmului nu a condus la o îmbunătățire suplimentară a semnalului. Sunt necesare în continuare investigații suplimentare pentru optimizarea detecției D-fructozei, prin ajustarea parametrilor de lucru și a raporturilor molare ale soluțiilor utilizate la modificarea suprafeței electrodului.

Referințe

[1] O. Galasso, A. Crinisio, A. Bartoli, B. Moretti, Advances and Challenges in Orthopedic Implant-Associated Infections, Healthcare, MDPI, 2024, p. 1819.

[2] A. Mishra, A. Aggarwal, F. Khan, Medical device-associated infections caused by biofilm-forming microbial pathogens and controlling strategies, Antibiotics 13(7) (2024) 623.

[3] O. Grari, S. Ezrari, I. El Yandouzi, E. Benaissa, Y.B. Lahlou, M. Lahmer, A. Saddari, M. Elouennass, A. Maleb, A comprehensive review on biofilm-associated infections: Mechanisms, diagnostic challenges, and innovative therapeutic strategies, The Microbe 8 (2025) 100436.

[4] Z. Hu, X. Yin, G. Fan, X. Liao, Global Trends in Orthopedic Biofilm Research: A Bibliometric Analysis of 1994-2022, Journal of Multidisciplinary Healthcare (2024) 3057-3069.

[5] S. Sharma, J. Mohler, S.D. Mahajan, S.A. Schwartz, L. Bruggemann, R. Aalinkeel, Microbial biofilm: a review on formation, infection, antibiotic resistance, control measures, and innovative treatment, Microorganisms 11(6) (2023) 1614.

[6] A. Zhao, J. Sun, Y. Liu, Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies, Frontiers in cellular and infection microbiology 13 (2023) 1137947.

[7] F. Sivori, I. Cavallo, M. Truglio, L. Pelagalli, V. Mariani, G. Fabrizio, E. Abril, I. Santino, P.A. Fradiani, M. Solmone, Biofilm-mediated antibiotic tolerance in Staphylococcus aureus from spinal cord stimulation device-related infections, Microbiology Spectrum 12(12) (2024) e01683-24.

[8] L. Kadirvelu, S.S. Sivaramalingam, D. Jothivel, D.D. Chithiraiselvan, D.K. Govindarajan, K. Kandaswamy, A review on antimicrobial strategies in mitigating biofilm-associated infections on medical implants, Current Research in Microbial Sciences 6 (2024) 100231.

[9] M.A. Azad, R. Patel, Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: Microbiologic diagnosis of implant-associated infections, Clinical Microbiology Reviews 37(2) (2024) e00104-23.

[10] S. Liang, M. Hu, B. Li, D. Xia, C. Liang, F. Peng, D. Wang, Smart implant with bacteria monitoring and killing ability for orthopedic applications, ACS Applied Materials & Interfaces 15(25) (2023) 29889-29901.

[11] A.C. Scalia, Z. Najmi, Targeting Bacterial Biofilms on Medical Implants: Current and Emerging Approaches, Antibiotics 14(8) (2025) 802.

[12] M. Alam, A.M. Asiri, M.M. Rahman, M. Islam, Fabrication of sensitive D-fructose sensor based on facile ternary mixed ZnO/CdO/SnO2 nanocomposites by electrochemical approach, Surfaces and Interfaces 19 (2020) 100540.

[13] S. Madhu, S. Ramasamy, J. Choi, Recent developments in electrochemical sensors for the detection of antibiotic-resistant bacteria, Pharmaceuticals 15(12) (2022) 1488.

[14] D.J. Davidson, D. Spratt, A.D. Liddle, Implant materials and prosthetic joint infection: the battle with the biofilm, EFORT open reviews 4(11) (2019) 633-639.

[15] E.C. Rodríguez-Merchán, D.J. Davidson, A.D. Liddle, Recent strategies to combat infections from biofilm-forming bacteria on orthopaedic implants, International journal of molecular sciences 22(19) (2021) 10243.

[16] A. Constantinescu, C. Ungureanu, C. Dumitriu, C. Pirvu, Complex interplay of surface properties in modulating antibacterial activity of Ti50Zr alloys, RSC advances 15(20) (2025) 15738-15747.

[17] J. Jenkins, J. Mantell, C. Neal, A. Gholinia, P. Verkade, A.H. Nobbs, B. Su, Antibacterial effects of nanopillar surfaces are mediated by cell impedance, penetration and induction of oxidative stress, Nature communications 11(1) (2020) 1626.

[18] A. Pirouz, I. Papakonstantinou, M. Michalska, Antimicrobial mechanisms of nanopatterned surfaces—a developing story, Frontiers in Chemistry 12 (2024) 1354755.

[19] B. Zudyte, Z. Luksiene, Visible light-activated ZnO nanoparticles for microbial control of wheat crop, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 219 (2021) 112206.

[20] J. Homola, Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species, Chemical reviews 108(2) (2008) 462-493.

[21] S.A. Leau, C. Lete, C. Matei, S. Lupu, Electrochemical sensing platform based on metal nanoparticles for epinephrine and serotonin, Biosensors 13(8) (2023) 781.

[22] S. Sultana, M.S. Alam, Confinement effects and tunability of quantum dots within strong confinement regime, 2015 IEEE International WIE Conference on Electrical and Computer Engineering (WIECON-ECE), IEEE, 2015, pp. 31-34.

[23] A. Abbas, Fluorescent Nanomaterials from Biomass: Synthesis and Applications, Newcastle University, 2021.

Mulțumiri

În primul rând, doresc să îmi exprim recunoștința față de domnul **Prof. Cristian Pîrvu**, care pentru mine reprezintă un model după care mă voi ghida întotdeauna. Îi mulțumesc că mi-a fost și îmi este alături indiferent de situație și că mă susține necondiționat în tot ceea ce îmi propun. De asemenea, îi mulțumesc pentru sprijinul constant acordat pentru realizarea acestei teze și că m-a încurajat permanent cu optimism.

Mulțumirile mele se îndreaptă și către colegii din Departamentul de Chimie Generală, alături de care am avut privilegiul de a lucra. Doresc să adresez mulțumiri speciale doamnei Conf. dr. Camelia Ungureanu, pentru sprijinul acordat. Îi mulțumesc doamnei Prof. dr. Nicoleta Badea pentru amabilitatea și deschiderea de care a dat dovadă de fiecare dată, precum și doamnelor Conf. dr. Grațiela Tihan și Conf. dr. Roxana Zgârian, pentru bunătatea și ajutorul oferit în momentele în care am avut nevoie.

Le mulțumesc, totodată, domnului Prof. Cătălin Zaharia și doamnei Conf. Bianca Gălățeanu pentru disponibilitate și promptitudine, de fiecare dată când am prezentat rapoartele tezei de doctorat.

Aș dori, totodată, să le mulțumesc prietenilor mei, care au fost alături de mine cu încurajări, răbdare și sprijin moral necondiționat. Aș dori să le mulțumesc în mod special prietenilor mei, Cristina Secu, Mihai Dumitru, Sorina Alexandra Leau și Ana-Maria Pușcașu.

Nu în ultimul rând, sunt recunoscătoare familiei mele, pentru susținerea pe care mi-au oferit-o întotdeauna. Sprijinul lor a reprezentat fundamentul pe care s-a construit întreaga mea evoluție profesională și personală.

Alexandra Constantinescu