

Raport științific

privind implementarea proiectului

“Valorificarea Materialului Chitinos din Deseuri Reciclabile prin Utilizarea acestuia în câteva Aplicații Biologice Potențiale (ReWaChi)”

Contract de finanțare 70/2021, Cod proiect PN-III-P4-ID-PCE-2020-2243

Perioada: 3 ianuarie 2022 – 31 decembrie 2022

Stabilirea formulărilor optime de chitosan pentru a obține cel mai bun răspuns al sistemelor biologice

Rezumat

Studiul efectuat în acest an a condus la următoarele concluzii:

- Se remarcă faptul că din punctul de vedere al concentrației de NaOH și al duratei, condițiile de obținere a valorilor maxime atât pentru gradul de acetilare, cât și pentru masa molară sunt foarte apropiate. Raportul lichid solid, care de altfel influențează puțin aceste două caracteristici ale chitosanului, pare să fie favorabil la valori mai mici (15/1) creșterii gradului de deacetilare, în timp ce masa molară maximă poate fi obținută la un raport 18/1. În funcție de importanța relativă a celor două criterii (grad de deacetilare și masă molară) se pot selecta din frontul Pareto puncte de optim corespunzătoare, pentru care se pot identifica condițiile de operare.
- Chitosanul manifestă efecte similare în sistemele *in vivo*, la nivel fiziologic, în special prin blocarea activității membranare. Efectele sunt influențate de proprietățile particulelor din soluții precum și de raportul chitină: chitosan: oligochitosan, care influențează pasajul prin membrane.
- Toxicitatea sau citotoxicitatea în majoritatea soluțiilor testate este redusă sau moderată la *Artemia*. Testarea pe organisme mai complexe *G. balcanicus*, denotă un alt aspect și anume, viteza de pătrundere a polimerului la nivel branhial depinde de raportul chitină: chitosan și generează modificarea homostaziei ionice și scăderea viabilității, în timp scurt. Prezența oligochitosanului favorizează supraviețuirea larvelor, pătrunderea oligochitosanului fiind favorizată prin ingestie.
- Evaluarea cu MTT a impactului moleculelor de chitosan luate în studiu asupra viabilității celulare a relevat inducerea unui efect citotoxic, diferențiat ca amplitudine în funcție de compus, de doza tratamentului *in vitro* – fiind demonstrată existența relației doză-efect – și de tipul de cultură celulară. Este de remarcat faptul că la culturile de celule tumorale HeLa gradul de afectare a viabilității celulare este mai pronunțat decât cel al celulelor sănătoase MCF-12A. Corelat cu rezultatele obținute prin testul MTT, afectarea morfologiei și, implicit, a viabilității celulare, a fost mai intensă în cazul celulelor tumorale HeLa, după tratamentul de 48 de ore.
- Chitosanul trece prin tubul digestiv ajungând să fie evidențiat microscopic în celule epiteliale, cuticulă, celule ale tubului digestiv, precum și în alte tipuri de celule cum sunt miocitele, după 48 de ore de la expunerea organismelor la concentrații de minim 35 μg/mL Cs, metoda de marcarea cu FITC fiind eficientă pentru identificarea chitosanului în celule.
- Ansamblul rezultatelor referitor la evaluarea nivelurilor de expresie ale proteinelor asemănătoare chitinazei, în special a YKL 40 în liniile celulare normale și tumorale converg către concluzia că formulele pe bază de chitosan au indus o reactivitate celulară dependentă de doză, demonstrându-se existența relației doză-efect. De asemenea, răspunsul citofiziologic a fost influențat atât de durata tratamentului, cât și de tipul de cultură celulară, fiind mai intens după 48 de tratament și pe linia celulară tumorală.
- Proprietățile NP de chitosan, cum ar fi dimensiunea, polidispersitatea și potențialul zeta depind atât de masa moleculară și de gradul de deacetilare al chitosanului, cât și de surfactantul folosit.
- Activitatea antioxidantă a probelor de chitosan s-a realizat prin monitorizarea capacității de captare a două tipuri de radicali: ROS (radicali de viață scurtă) prin metoda chemiluminescenței și radicali cationici de viață lungă ABTS^{•+} prin metoda TEAC. Probele de chitosan au prezentat o activitate de captare a radicalilor ROS cuprinsă între 55,1-98,4 % și o capacitate de inhibiție a radicalilor ABTS^{•+} cuprinsă între 14,33 și 90,9 %, această capacitate fiind influențată de gradul DDA și masa moleculară a chitosanului.

Sumar al progresului etapa 1 + 2

Livrabile realizate: 2 articole publicate; 1 articol în evaluare

Diseminare rezultate: 2 articole publicate, 1 articol în evaluare și 7 prezentări la manifestări științifice

Indicatori de rezultat: 1 + 2 = 3 articole științifice – realizat