



UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI
FACULTATEA DE FIZICĂ
ȘCOALA DOCTORALĂ DE FIZICĂ



Rezumatul Tezei de Doctorat

Aplicații inovative ale carbonatului de calciu biogenic dezvoltate pe baza tehnologiei Raman și metodelor complementare, în conformitate cu conceptele bioeconomiei

Géza LÁZÁR

Coordonator

Prof.dr. Simona Pînzaru

Cluj-Napoca

2025

Abstract

Ca răspuns la necesitatea globală de tranziție către o bioeconomie circulară, această teză explorează valorificarea deșeurilor biogenice prin aplicații relevante în farmacologie, biomedicină și ingineria mediului. Prin utilizarea sustenabilă și eficientă a resurselor biogenice – în principal carbonatul de calciu biogenic derivat din deșeuri – cercetarea propune alternative durabile, scalabile și eficiente din punct de vedere economic, față de metodele convenționale de sinteză a biomaterialelor. Spectroscopia Raman, care oferă caracterizări rapide, neinvazive și cu sensibilitate ridicată a matricilor biogenice complexe, a fost metoda analitică principală utilizată pe parcursul studiului. Tehnici complementare, precum difractometria de raze X (XRD), microscopia electronică de scanare (SEM) și spectroscopia în Infraroșu (IR), au fost de asemenea utilizate pentru analiza și validarea rezultatelor.

Structurată în trei capitole, teza furnizează rezultate despre compoziția și morfologia biomaterialelor pe bază de carbonat de calciu, evidențiind capacitatea tehnologiei Raman de a analiza și caracteriza structuri biogenice complexe. Al doilea capitol dezvoltă, pe această bază, formulări farmaceutice inovative din precursori biogenici, pentru livrarea țintită a medicamentelor. Capitolul al treilea prezintă conversia calcitului magnezian, derivat din carbonat biogenic de la crustacee în minerale de fosfat de calciu, valoroase în biomedicină, ingineria mediului și agricultură, procesul fiind controlat prin spectroscopie Raman.

Rezultatele obținute evidențiază impactul dual al acestei cercetări: în primul rând, dezvoltarea de biomateriale cu aplicații în diverse domenii (biomedicină, farmacologie, ingineria mediului) și în al doilea rând contribuția la sustenabilitatea și protecția mediului prin reducerea deșeurilor și promovarea bioeconomiei circulare. Această lucrare nu doar că demonstrează eficiența Spectroscopiei Raman în valorificarea resurselor biogenice, ci oferă și o bază solidă pentru viitoare inovații în știința biomaterialelor și biotehnologie.

Rezultatele au generat 7 publicații (3 Q1; 3 Q2; 1 N/A) incluse în teză, acumulând un total AIS = 4.713.

Cuprins

Cuprins	3
Introducere	5
Structura tezei	10
1. Compoziția și morfologia carbonatului de calciu biogenic ca o biomatrice complexă investigată prin tehnologia Raman și tehnici complementare	12
1.1 Investigarea inelelor de creștere în aragonitul biogenic din otoliții peștilor folosind micro-spectroscopie confocală și imagistică Raman	12
1.1.2 Rezultate	13
1.2 Efectele acidificării oceanelor asupra morfologiei și structurii cochiliei de la gastropode <i>Hexaplex trunculus</i> analizate prin Spectroscopie Raman, Difracție de raze X (XRD) și Microscopie Electronică de Scanare (SEM)	19
1.2.1 Context	19
1.2.2 Rezultate	20
1.3 Evaluarea rapidă a pudrelor biogenice din deșeuri de crustacee utilizând FTIR, complementat de difracție de raze X, SEM și RMN	24
1.3.1. Context și scopul studiului	24
1.3.2 Rezultate	26
2. Formulări farmaceutice și noi sisteme de livrare țintită pentru medicamente dezvoltate din carbonat de calciu biogenic, asistate de tehnologia Raman	28

2.1. Dezvoltarea promedicamentelor flavonoidice: creșterea biodisponibilității și stabilității pentru formulările farmaceutice	28
2.1.1 Context.....	28
2.2.2 Bioconjugatele de rutin ca promedicamente nutraceutice; utilizarea spectroscopiei Raman pentru confirmarea esterificării cu acid oleic și linoleic	29
2.2.3 Bioconjugatele de silibinin ca promedicamente nutraceutice; utilizarea spectroscopiei Raman pentru confirmarea esterificării cu acid oleic și linoleic	32
2.3 Sistem de livrare tintita a medicamentelor pe baza de carbonat de calciu biogenic.....	35
2.3.1 Context	35
2.3.2 Rezultate	36
3. Valorificarea biodeșeurilor: Conversia carbonatului de calciu din carapace de crab în minerale de fosfat de calciu, proces controlat prin Spectroscopie Raman	38
3.1 Context și obiectiv	38
3.2 Rezultate	40
Concluzii, impact și perspective	42
Lista Publicațiilor	44
Publicații pe tema tezei	44
Alte Publicații	45
Contribuții la conferințe.....	46
Bibliografie	48

Introducere

Tendința globală actuală pentru o economie durabilă și eficientă din punct de vedere al resurselor a avut un avânt semnificativ, determinat de necesitatea de a opri degradarea mediului și de a optimiza utilizarea resurselor. În centrul acestei tranziții se află conceptul de bioeconomie, care promovează utilizarea resurselor biogenice regenerabile pentru dezvoltarea de produse, energie și servicii sustenabile. Un aspect esențial al acestui cadru este valorificarea materialelor biogenice, în special a deșeurilor biogenice, pentru a asigura sustenabilitatea și a reduce impactul asupra mediului. Dintre numeroasele tehnici analitice utilizate în studiul și transformarea materialelor biogenice, spectroscopia Raman s-a evidențiat ca un instrument extrem de eficient, fapt reflectat de tendința crescătoare a numărului de articole științifice publicate în ultimii 15 ani (meta-analiză Figura 1.1).

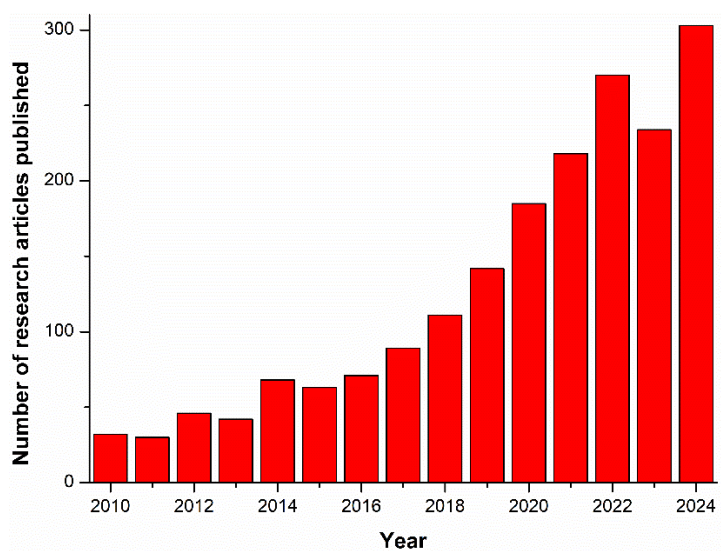


Figura 1.1 Numarul de articole publicate in ultimii 15 ani conform bazei de date ScienceDirect.com (Accesat pe 3 Aprilie 2025), utilizand cuvintele cheie: 'Spectroscopie Raman' si 'materiale biogenice'.

Această tehnică spectroscopică non-distructivă și extrem de sensibilă permite analiza rapidă, in-situ a probelor, oferind informații despre compoziția, interacțiunile chimice și potențialele aplicații ale materialelor biogenice. Versatilitatea sa acoperă o multitudine de discipline, inclusiv știința materialelor, industria farmaceutică, tehnologia alimentelor sau monitorizarea mediului, facilitând astfel dezvoltarea unor soluții inovative și sustenabile. Unul dintre avantajele cheie ale tehnologiei Raman este abilitatea de a genera amprente moleculare extrem de specifice, abordând simultan atât compusii organici cât și cei anorganici, fără a necesita o preparare complexă a probelor, făcând-o astfel un instrument indispensabil atât pentru cercetarea științifică cât și pentru aplicațiile industriale.

În domeniul valorificării materialelor biogenice, spectroscopia Raman joacă un rol esențial în identificarea componentelor structurale, monitorizarea modificărilor chimice și evaluarea calității produselor biogenice. Deși Sir C.V. Raman a caracterizat pentru prima dată un material biogenic (perlele din scoici) și și-a publicat descoperirile în „Proc. of Indian Academy of Science” în 1935, menționând că „Investigația actuală indică faptul că subiectul a fost până acum doar foarte imperfect explorat și oferă mult spațiu pentru cercetări suplimentare” [1], iar asta în perioada în care laserele nu fuseseră încă descoperite, tehnologia actuală, cu viteză de detecție, sensibilitate, rezoluție, sau flexibilitate superioară, împreună cu disponibilitatea mai multor linii laser, prezintă o capacitate fără precedent de a caracteriza materialele și de a monitoriza procesele.

Dezvoltarea spectrometrelor Raman portabile a extins și mai mult aplicațiile acestei tehnici, permițând analize în timp real, pe teren, ceea ce este deosebit de avantajos pentru monitorizarea proceselor. Dispozitivele Raman portabile permit măsurători rapide și non-invazive ale materiilor prime, produselor

intermediare și produselor finale, eliminând necesitatea unei infrastructuri de laborator complexe. În plus, tehnica SERS a crescut semnificativ sensibilitatea de detecție, permițând identificarea analiților de concentrație mică nedetectabili altfel prin tehnicile Raman convenționale. În contextul valorificării materialelor biogenice, SERS se dovedește a fi deosebit de util pentru detectarea componentelor biochimice minore, optimizarea bioprocесelor și asigurarea calității și funcționalității produselor pe bază biologică.

Una dintre clasele de materiale biogenice cu relevanță științifică și industrială considerabilă o reprezintă compușii pe bază de carbonat de calciu (CaCO_3). Aceste materiale, care se regăsesc în organisme marine (cum ar fi cochiliile moluștelor, recifele de corali și exoscheletele crustaceelor) și surse terestre (precum cojile de ouă), prezintă proprietăți fizico-chimice unice, care le fac valoroase pentru aplicații în biomedicină, știința materialelor și ingineria mediului. Totuși, o parte considerabilă din materialele biogenice pe bază de carbonat de calciu există sub formă de deșeuri, provenite în special din exploatarea industrială în pescuit și acuacultura, industria alimentară, lanțuri alimentare de tip *seafood* sau mentenanța turistică a regiunilor litorale. Debarasarea necorespunzătoare a acestor materiale considerate deșeuri contribuie la poluarea mediului și la utilizarea inefficientă a resurselor, accentuând necesitatea unor strategii inovative de valorificare.

Carbonatul de calciu biogenic este deosebit de atractiv pentru aplicațiile biomedicale datorită biocompatibilității sale și a ușurinței cu care poate fi modificat la scară nanometrică. Eforturile de cercetare sunt concentrate pe explorarea potențialului său în sistemele de livrare țintită a medicamentelor, în special în terapia cancerului, unde dizolvarea sa în medii acide poate fi exploatată pentru eliberarea țintită a agenților terapeutici. De asemenea, se

investighează utilizarea sa în regenerarea osoasă, deoarece poate stimula mineralizarea și susține creșterea noilor țesuturi osoase. Carbonatul de calciu biogenic, derivat din surse naturale, cum ar fi organisme marine, plantele și anumite microorganisme, oferă avantaje distincte față de materialele sintetice, inclusiv toxicitate mai scăzută, metode de sinteză simple și costuri reduse datorită abundenței sale în fluxurile de deșeuri. Totuși, rămân mai multe provocări înainte de implementarea sa pe scară largă în industrie, inclusiv stabilitatea în condiții fiziologice, optimizarea eficienței de încărcare a medicamentelor și scalabilitatea proceselor de fabricație.

Spectroscopia Raman este esențială în caracterizarea și procesarea materialelor pe bază de carbonat de calciu, oferind informații detaliate despre compoziția chimică și proprietățile structurale ale acestora. De asemenea, ajută la monitorizarea și îmbunătățirea metodelor de procesare pentru a transforma deșeurile în noi produse inovative, pe bază de cunoaștere științifică.

Scopul și obiectivele tezei

Având în vedere importanța globală a valorificării resurselor biogenice, lucrarea prezentată în această teză reprezintă un efort concertat pentru a aborda această problemă critică, cu scopul de a dezvolta aplicații din materiale care altfel ar fi irosite. Cercetarea realizată explorează modalități inovative de a reutiliza deșeurile biologice în produse utile, acoperind mai multe domenii științifice și industriale, inclusiv farmacologia, biomedicina și ingineria mediului.

Avantajele cheie ale aplicațiilor dezvoltate constau în simplitatea, accesibilitatea și eficiența costurilor. Spre deosebire de metodele convenționale care pot necesita procese complexe și materii prime costisitoare, abordările utilizate în această cercetare pun accent pe utilizarea deșeurilor biogenice cu costuri reduse, abundente și regenerabile. Deoarece materialele de bază utilizate în studiile

acestea provin în principal din fluxuri de deșeuri, implementarea lor industrială pe scară largă ar prezenta provocări logistice și economice minime. Mai mult, metodologiile de tratare și procesare utilizate sunt concepute pentru a fi simple, reproductibile și ușor scalabile. Procedurile experimentale se bazează pe un consum minim de energie, asigurând astfel sustenabilitatea și fezabilitatea în aplicațiile industriale. Materialele pot fi dezvoltate folosind instrumente simple, cum ar fi mori mecanice sau cu bile, iar reactivii chimici necesari —hidroxidul de sodiu, acidul clorhidric sau acidul fosforic— sunt ieftini și accesibili. Acest accent pe simplitate și eficiență în utilizarea resurselor subliniază potențialul acestor metode de a fi adoptate pe scară largă atât în medii de cercetare, cât și în medii industriale cu resurse limitate, condiționat însă de cunoașterea structurii și proprietăților acestora.

Aceasta teza este de impact pe doua planuri. În primul rând, aceasta furnizează produse noi și valoroase cu aplicații diverse, cum ar fi formulări de medicamente, materiale pentru implanturi osoase și biostimulanți sau fertilizanți pentru îmbunătățirea solului. În al doilea rând, contribuie la sustenabilitatea economică și ecologică, prin reducerea acumulării de deșeuri și promovarea unei bioeconomii circulare. Prin reutilizarea deșeurilor biologice sub forma de nanomateriale funcționale, această lucrare nu doar că se aliniază la obiectivele globale de sustenabilitate, dar și prezintă alternative viabile la produsele tradiționale care consuma excesiv resurse.

Intre metodele analitice implementate pentru realizarea obiectivelor, spectroscopia Raman, cu tehnicile aferente a fost utilizata in toate etapele activităților de caracterizare a materialelor biogenice, ale proceselor de conversie precum și în analiza produselor finale. Spectroscopia Raman, cu avantajele sale actuale precum viteza de achiziție, sensibilitatea, rezoluția spațială și spectrală sau flexibilitatea, caracterul nedistructiv și posibilitățile oferite de instrumentele portabile îi conferă robustețe ca metodă principală pentru caracterizarea

materialelor de origine biogenică, cuprinzând atât componente minerale cât și organice și facilitarea transformării lor în produse valoroase. Deși tehnici complementare — precum Difracția de raze X (XRD), Microscopia Electronică de Scanare (SEM) în conjuncție cu spectroscopia cu dispersie de energie (EDS), cunoscută mai frecvent sub denumirea de microanaliza cu raze X cu sondă de electroni (EDX), sau combinate (SEM-EDX) și Spectroscopia în Infraroșu (IR) — au fost, de asemenea, utilizate pentru a valida concluziile, Spectroscopia Raman s-a dovedit a fi metoda cea mai eficientă pentru monitorizarea proprietăților materialelor și optimizarea proceselor de dezvoltare a produselor.

Pe parcursul acestei cercetări, au fost explorate o varietate de biomateriale, fiecare având o relevanță semnificativă în multiple domenii. Deși rezultatele și aplicațiile dezvoltate au un potențial considerabil, există în continuare spațiu pentru rafinarea și optimizarea ulterioară. Totuși, această lucrare reprezintă o bază pentru cercetările viitoare destinate să îmbunătățească valorificarea resurselor biogenice. Demonstrând eficiența Spectroscopiei Raman în acest context, acest studiu ar putea inspira investigații suplimentare asupra dezvoltării sustenabile a materialelor pe bază biologică, impulsionând astfel inovația în utilizarea deșeurilor, știința materialelor și biotehnologie.

Structura tezei

Această teză este structurată în trei capitole principale, fiecare având un focus și un obiectiv distinct.

Primul capitol, intitulat „Compoziția și morfologia carbonatului biogenic ca o biomatrice complexă investigate prin tehnologia Raman și tehnici complementare” explorează trei biomateriale diferite pe bază de carbonat de calciu. Studiul are două scopuri principale: (1) să îmbunătățească înțelegerea

noastră asupra proprietăților acestor materiale și (2) să demonstreze capabilitățile Spectroscopiei Raman, alături de tehnicile complementare, în analiza structurilor de carbonat de calciu biogenic.

Al doilea capitol, „Formulări farmaceutice și agenți transportatori pentru medicamente, dezvoltate din carbonat de calciu biogenic asistat de tehnologia Raman”, se concentrează pe utilizarea precursorilor biogenici pentru a dezvolta formulări farmaceutice inovatoare. Pe parcursul acestui capitol, Spectroscopia Raman și alte tehnici analitice servesc ca instrumente cheie pentru monitorizarea și optimizarea formulărilor de medicamente.

Al treilea capitol, „Valorificarea biodeșeurilor: Conversia carbonatului de calciu din carapace de crab în minerale de fosfat de calciu controlate de Spectroscopia Raman”, investighează transformarea carbonatului de calciu biogenic din deșeurile în minerale de fosfat de calciu valoroase. Spectroscopia Raman joacă un rol central în controlul și optimizarea acestui proces de conversie.

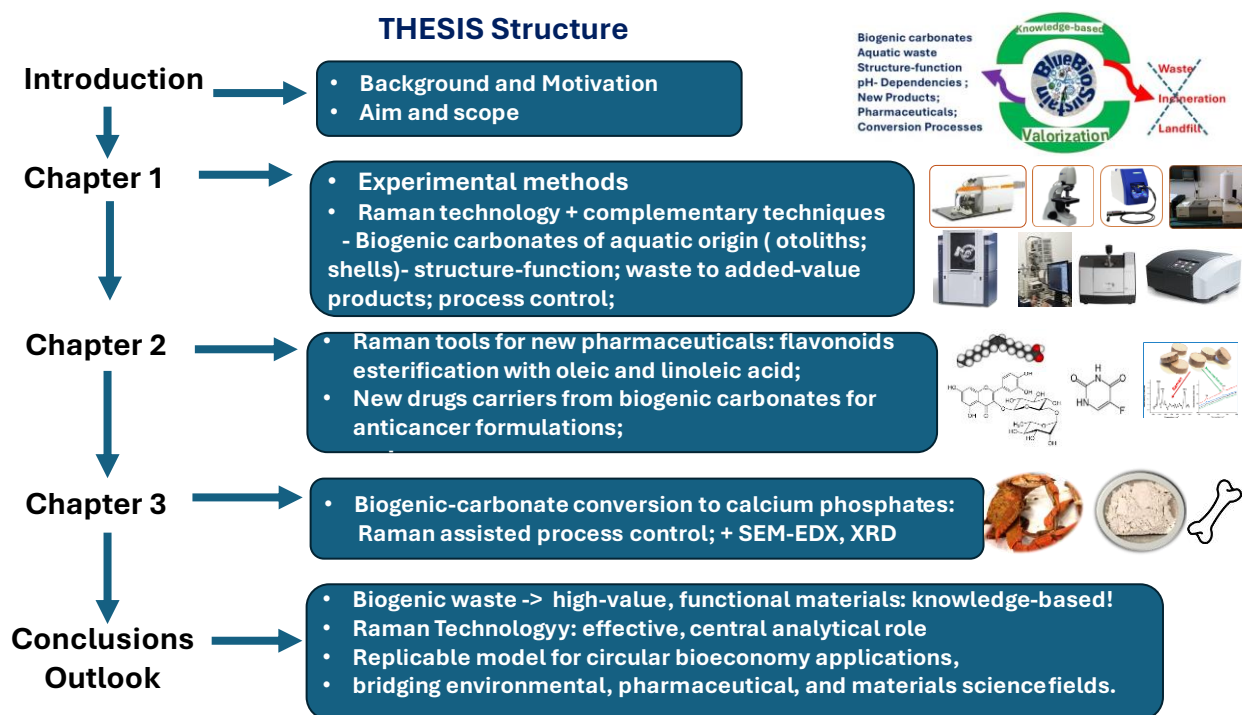


Figura 1.2 Prezentare schematică a structurii tezei

1. Compoziția și morfologia carbonatului de calciu biogenic ca o biomatrice complexă investigată prin tehnologia Raman și tehnici complementare

1.1 Investigarea inelelor de creștere în aragonitul biogenic din otoliții peștilor folosind micro-spectroscopie confocală și imagistică Raman

1.1.1 Context și scop

Otoliții, sunt structuri dure de carbonat de calciu biogenic situate în urechea internă a vertebratelor. Aceștia joacă un rol esențial în fiziologie, permițând echilibrul, orientarea și detectarea sunetului [62-64]. Datorită compoziției, formei și tiparelor lor de creștere unice, otoliții sunt instrumente esențiale în diverse domenii științifice, inclusiv în ihtiologie, managementul pescăriilor și științele mediului [65-67].

Otoliții sunt compuși în principal din carbonat de calciu în care polimorfismul variază de la specie la specie. În pești, preponderent aragonitul este raportat și creșterea incrementală pe parcursul vieții peștelui are loc în straturi discrete, care păstrează informații despre istoricul de viață al peștelui și condițiile de mediu [68,69]. Aceste structuri prezintă tipare periodice, inclusiv incrementări zilnice, bilunare și lunare, ceea ce le face valoroase pentru determinarea vârstei [51] dar și a condițiilor de mediu. Morfologia otoliților variază între specii, ceea ce îi face utili în identificarea taxonomică [70]. O categorie aparte îl reprezintă paleo-otoliții, care pot furniza informații despre erele geologice în care au aparut.

Otoliții au funcții senzoriale esențiale în pești, contribuind la detectarea sunetului și orientarea spațială. Structura și funcția lor este strâns legată de sensibilitatea la frecvențe sonore și capacitatea de auz a peștilor [71]. Interacțiunea dintre otoliți și celulele senzoriale ciliate din urechea internă permite perceperea mișcării și vibrațiilor, contribuind la abilitatea peștilor de a naviga eficient în medii acvatice.

Compoziția chimică a otoliților, inclusiv rapoartele izotopilor stabili și concentrațiile de oligoelemente, oferă informații valoroase despre fiziologia peștelui și istoricul său de mediu. Masurarea izotopilor de carbon din otoliți poate fi folosită pentru a deduce poziția peștelui în lanțul trofic și pentru a evalua modificările în rata sa metabolică de-a lungul timpului [72]. Proprietățile chimice ale otoliților sunt utilizate pentru a studia tiparele de migrație, utilizarea habitatului și expunerea la schimbările de mediu [72]. Totuși, ipotezele care stau la baza reconstrucțiilor de mediu din chimia otoliților necesită o evaluare critică pentru a asigura interpretări corecte [64].

Analiza otoliților a devenit o tehnică fundamentală în managementul pescăriilor. Prin integrarea datelor vizuale, chimice și bioenergetice, trăsăturile istoricului de viață al peștilor pot fi corelate cu condițiile fiziologice [73]. Chimia otoliților este recunoscută ca un instrument puternic pentru evaluarea istoricului de mediu al peștilor, oferind perspective asupra schimbărilor de habitat și dinamicii populațiilor [73].

1.1.2 Rezultate

Studiul interdisciplinar desfășurat a avut drept scop investigarea variațiilor cristalinității structurii și compoziției de-a lungul axei de creștere a otoliților speciei *Sparus aurata* care au crescut în condiții de mediu diferite. Evaluarea modului în care amprente spectroscopice și chimice se corelează cu istoricul de viață și comportamentul migratoriu a fost investigat comparativ, pentru patru grupe de otoliți. Spectroscopia Raman a fost utilizată pentru a analiza profilului benzilor spectrale caracteristice aragonitului, iar măsurătorile lățimii la jumătate din înălțimea maximă (*full width at half maximum* -FWHM) au fost utilizate pentru evoluția variației cristalinității de-a lungul timpului de viață.

S-a observat o creștere a valorilor FWHM în apropierea centrului de creștere (nucleului) otolitului, urmată de o scădere care a prezentat două minime distincte

aliniate cu structurile inelelor de creștere. Aceste tipare au confirmat discontinuitățile cristaline asociate cu inelele anuale și păreau să reflecte ciclurile individuale de activitate. Deși modificările FWHM nu au fost puternic corelate cu variabilele de mediu, diferențele în panta variației FWHM au permis separarea clară între exemplarele provenite din acvacultură/zone de coastă și cele din habitate marine deschise sau estuarine.

Rezultatele obținute prin spectroscopie Raman au fost validate suplimentar prin Microscopia Electronică de Scanare cu Spectroscopie de Dispersie Energetică a Razelor X (SEM-EDX) și Spectrometrie de Masă cu Ablare Laser cuplată cu Plasma cuplată inductiv (LA-ICP-MS). Analiza SEM a susținut observațiile spectroscopice, relevând direcțiile de creștere și discontinuitățile morfologice în timp ce datele LA-ICP-MS – în special rapoartele Ba/Ca – au permis diferențierea indivizilor din medii de acvacultură și tranziție datorită variabilității în compoziția elementală. În contrast, o variabilitate mai mare a fost observată la indivizii din sisteme marine oligotrofe, reflectând probabil disponibilitatea fluctuantă a prăzii.

Aceste descoperiri subliniază rolul valoros al spectroscopiei Raman ca metodă complementară pentru determinarea originii și a istoricului migratoriu al peștilor, alături de tehnicile analitice tradiționale.

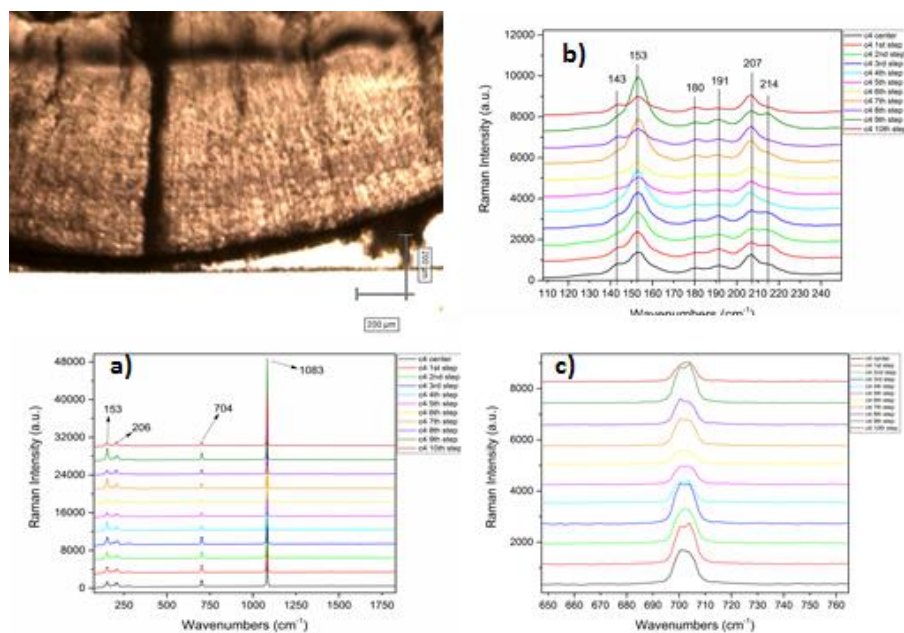


Figura 1.1.1 a) Spectre Raman tipice colectate de la nucleul spre marginea unui otolit (C4) folosind un pas lateral constant și un obiectiv de 20X; b), c) detalii ale intervalelor spectrale care conțin modurile vibrationale ale rețelei cristaline ($100\text{--}250\text{ cm}^{-1}$) și modul de deformare în jurul valorii de 700 cm^{-1} ale aragonitului, arătând modificări ușoare de la un pas la altul. Figura reproducă din ref. 6 [G. Lazar, F. Nekvapil, S. Matić-Skoko, et al., "Comparative screening the life-time composition and crystallinity variation in gilthead seabream otoliths *Sparus aurata* from different marine environments," *Sci. Rep.*, 12, 9584, 2022, doi: 10.1038/s41598-022-13667-3.].]

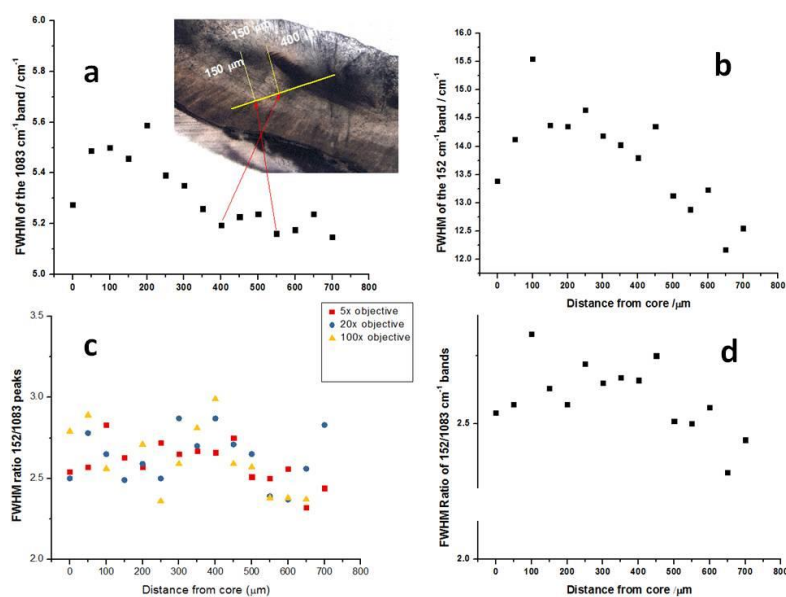


Figura 1.1.2 Variația FWHM a: (a) benzii principale de carbonat (1083 cm^{-1}), (b) modului de rețea la 152 cm^{-1} , (c) Comparația raportului FWHM ($152/1083\text{ cm}^{-1}$) cu obiective colectoare diferite (5x, 20x și 100x), (d) raportului dintre benzile 1083 și 152 cm^{-1} de-a lungul liniei de creștere. Figura reproducă din ref. 6 [G. Lazar, F. Nekvapil, S. Matić-Skoko, et al., "Comparative screening the life-time composition and crystallinity variation in gilthead seabream otoliths *Sparus aurata* from different marine environments," Sci. Rep., 12, 9584, 2022, doi: 10.1038/s41598-022-13667-3.].

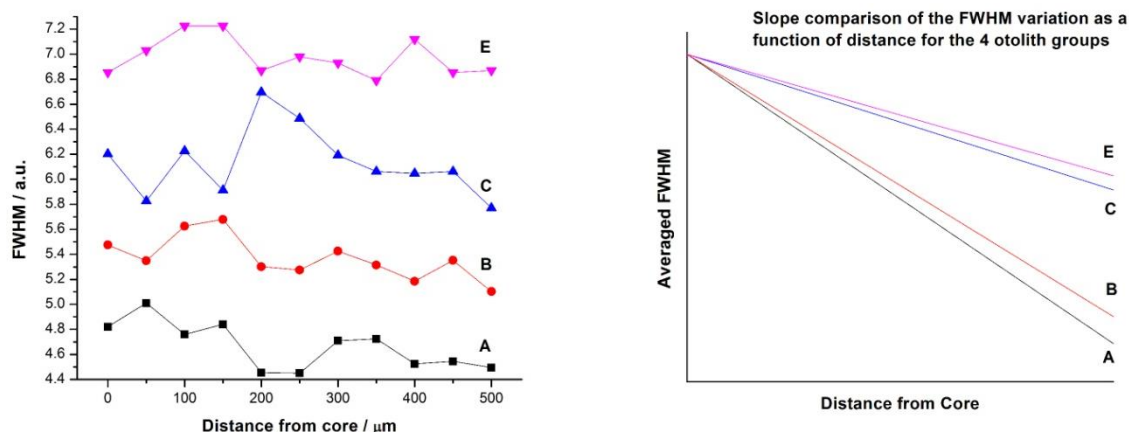


Figura 1.1.3 (a) Evoluția comparativă a FWHM pentru modul principal de întindere al carbonatului la 1083 cm^{-1} pentru cele patru grupuri principale de otoliți, în funcție de distanța față de nucleu. (b) Compararea pantelor variației FWHM ale celor 4 grupuri

distincte. Figura reproducă din ref. 6 [G. Lazar, F. Nekvapil, S. Matić-Skoko, et al., "Comparative screening the life-time composition and crystallinity variation in gilthead seabream otoliths *Sparus aurata* from different marine environments," Sci. Rep.,12, 9584, 2022, doi: 10.1038/s41598-022-13667-3.].]

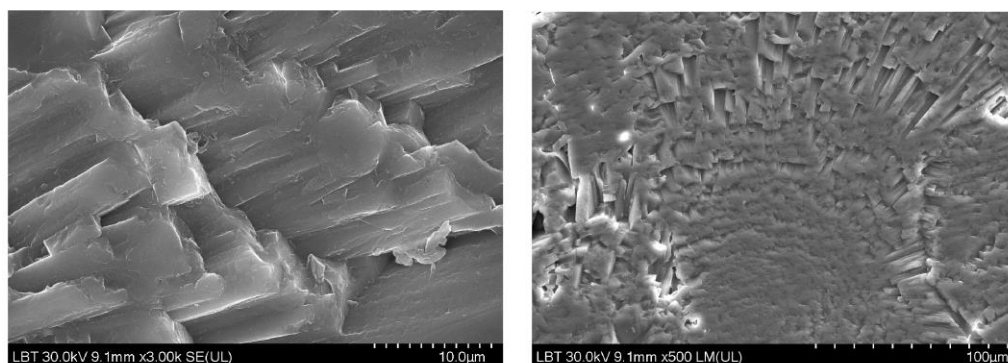


Figura 1.1.4. Imagini obținute prin Microscopia Electronică de Scanare ale unei suprafețe de otolit selectată aleatoriu, cu rezoluții diferite, relevând structura cristalină de tip ac de aragonit (stânga) și creșterea cristalină radială (dreapta). Figura reproducă din ref. 6 [G. Lazar, F. Nekvapil, S. Matić-Skoko, et al., "Comparative screening the life-time composition and crystallinity variation in gilthead seabream otoliths *Sparus aurata* from different marine environments," Sci. Rep.,12, 9584, 2022, doi: 10.1038/s41598-022-13667-3.].]

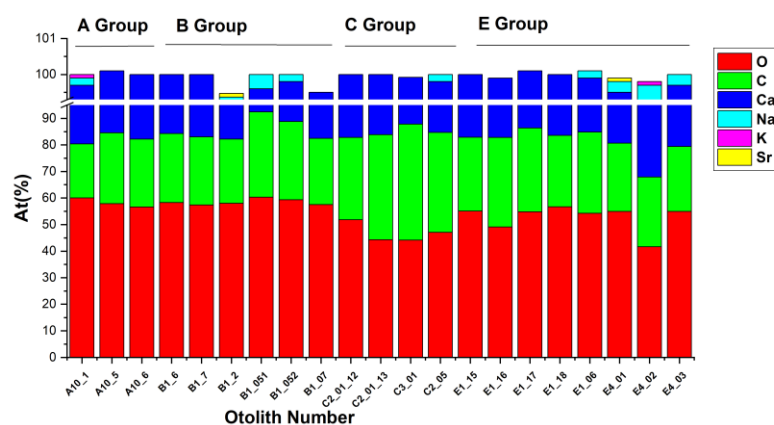


Figura 1.1.5. Date EDX comparative pentru cele patru grupuri de otoliți, A, B, C și E, arătând procentul în greutate atomică (At %) pentru O, C, Ca, Na, K și Sr. Figura

reprodusa din ref. 6 [G. Lazar, F. Nekvapil, S. Matić-Skoko, et al., "Comparative screening the life-time composition and crystallinity variation in gilthead seabream otoliths Sparus aurata from different marine environments," Sci. Rep.,12, 9584, 2022, doi: 10.1038/s41598-022-13667-3.].]

1.2 Efectele acidificării oceanelor asupra morfologiei și structurii cochiliei de la gastropode *Hexaplex trunculus* analizate prin Spectroscopie Raman, Difracție de raze X (XRD) și Microscopie Electronică de Scanare (SEM)

1.2.1 Context

Acidifierea oceanelor reprezintă o amenințare tot mai mare pentru ecosistemele marine, având implicații asupra biodiversității și proceselor biogeochimice [74-76]. Este cauzată în principal de absorbția dioxidului de carbon atmosferic (CO_2) de către oceane, care formează acid carbonic în apă. Acest acid se disociază în bicarbonat și ioni de hidrogen, scăzând pH-ul apei de mare și crescând aciditatea. Activitățile umane, în special arderea combustibililor fosili și defrișările, au crescut semnificativ nivelul de CO_2 atmosferic la valori fără precedent în istoria recentă. Estimările sugerează că concentrațiile ar putea depăși 1000 ppm până în 2100, ceea ce ar duce la o scădere a pH-ului cu 0,3–0,4 unități [77].

Organismele marine, care se bazează pe carbonatul de calciu (CaCO_3) pentru formarea cochiliilor sau structurilor scheletice, sunt deosebit de vulnerabile. Răspunsurile acestor organisme variază în funcție de factori precum prezența structurilor pe bază de CaCO_3 , polimorfismul lor (aragonit, calcit, vaterit, amorf (ACC)) și stadiul de dezvoltare [78]. Molustele, de exemplu, formează cochilii compuse din CaCO_3 amorf și cristalin în care biomineralizarea este un proces complex, în care componenta organică are un rol crucial. În mod tipic, aceste cochilii includ un strat interior sedefos (aragonit), un strat tranzitoriu median și un strat exterior prismatic de aragonit sau calcit [79,80]. Formarea cochiliei este controlată de matricea organică sintetizată în spațiul extrapalial, care dirijează nucleerea și creșterea cristalelor [81-83]. Acest proces complex conferă cochiliilor

de moluște proprietăți mecanice remarcabile, adesea superioare compozitelor sintetice [83].

O specie de interes este *Hexaplex trunculus* (Linnaeus, 1758), cunoscut și ca „melcul purpuriu”, un gastropod cu importanță ecologică și istorică. Cochilia sa aragonitică conține compuși organici și pigmenți care îi conferă o colorație distinctivă. Istoric, a fost apreciat pentru producerea colorantului purpuriu, (Purpurul Tyrian, violet regal, violet imperial sau colorant imperial), extras din glanda hipobranhială sub mantaua moluștei, însă morfologia, compoziția și variabilitatea din cochilia *H. trunculus* nu au fost studiate extensiv în contextul acidifierii oceanelor.

Acest studiu explorează modul în care scaderea simulată a pH-ului – reflectând scenarii viitoare de pH oceanic – afectează morfologia și integritatea cochiliei lui *H. trunculus*. Folosind Spectroscopie Raman, SEM-EDX și XRD, sunt evaluate modificările în compoziția minerală, structura cristalină și microarhitectura cochiliei. Aceste tehnici oferă sensibilitate și rezoluție ridicate, furnizând informații esențiale privind vulnerabilitatea acestei specii în fața schimbării pH-ului oceanic.

1.2.2 Rezultate

Efectele unor condiții de pH relevante în contextul acidifierii oceanelor asupra cochiliilor de *H. trunculus* au fost studiate prin Spectroscopie Raman, SEM-EDX și XRD. Au fost analizate exemplare provenind din medii cu pH variind între 8.1 și 7.4, pentru a simula acidifierea prognozată a oceanelor. Cochiliile melcilor sunt compuse în principal dintr-o matrice de CaCO_3 și pigmenți organici.

În ceea ce privește polimorfismul carbonatului de calciu, cochilia lui *H. trunculus* este compusă în principal din aragonit. Totuși, atât spectrele Raman, cât și datele XRD au relevat prezența unor urme de calcit la valorile de pH 8.0–7.8. Pentru a

studia efectul pH-ului asupra morfologiei, au fost comparate proprietățile din spectrale Raman și XRD ale indivizilor în funcție de pH-ul mediului.

Folosind aceste proprietăți, a fost comparată cristalinitatea relativă a carbonatului de calciu biogenic la diferite valori ale pH-ului. Cristalinitatea s-a menținut relativ constantă pe suprafața interioară a cochiliilor, cu variații mai mari detectate la exterior, ceea ce sugerează o sensibilitate mai ridicată la pH la exteriorul cochiliei – fapt așteptat. În plus, datele XRD indică faptul că prezența sau absența calcitului în structura cristalină nu influențează direct cristalinitatea carbonatului de calciu. Datele SEM-EDX au fost corelate cu spectrele Raman pentru a determina cu precizie influența pH-ului asupra morfologiei cochiliei.

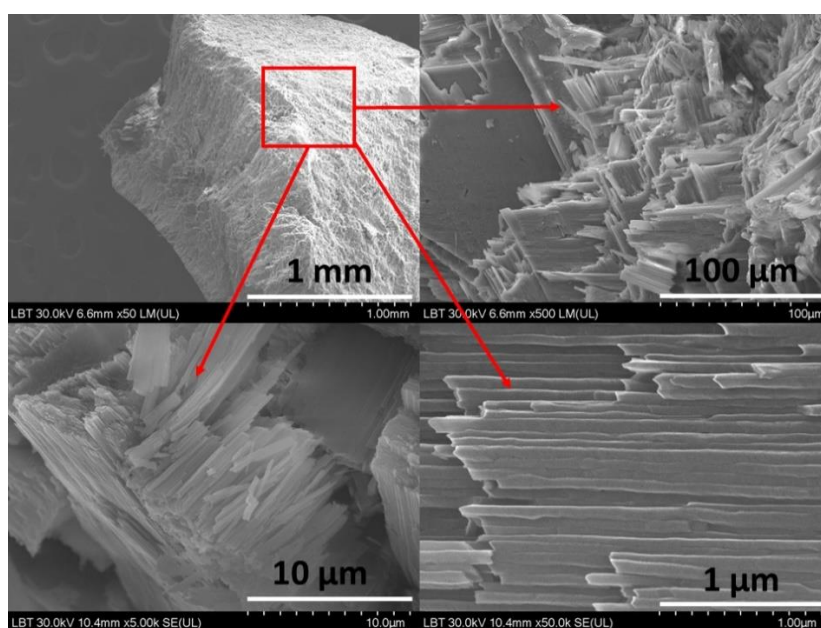


Figura 1.2.1. Imagini SEM ale suprafeței cochiliei exemplarelor de *H. trunculus*

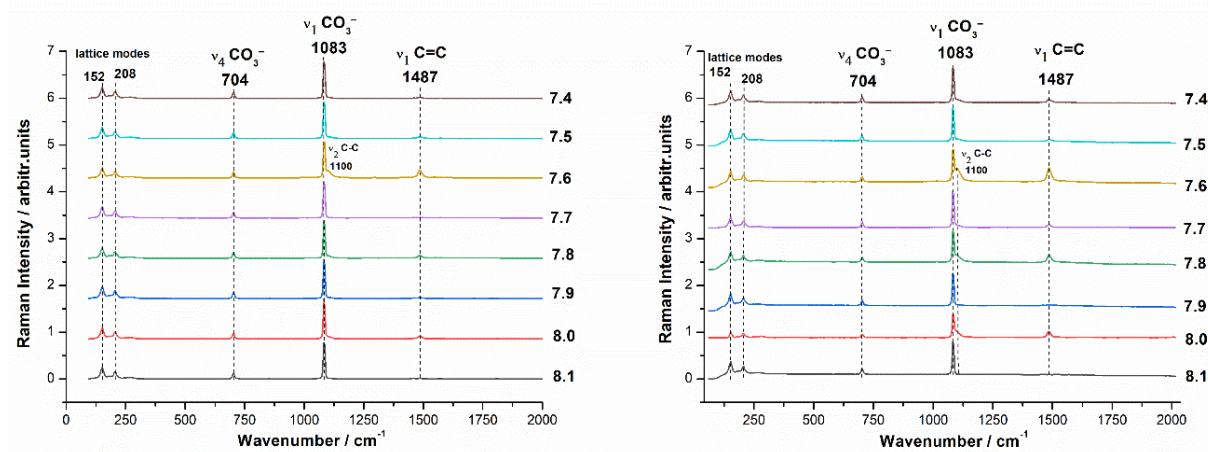


Figura 1.2.2 Spectre Raman ale cochiliilor de *H. trunculus*, atât pe interior (stânga), cât și pe exterior (dreapta), pentru fiecare valoare de pH, cu benzile principale marcate

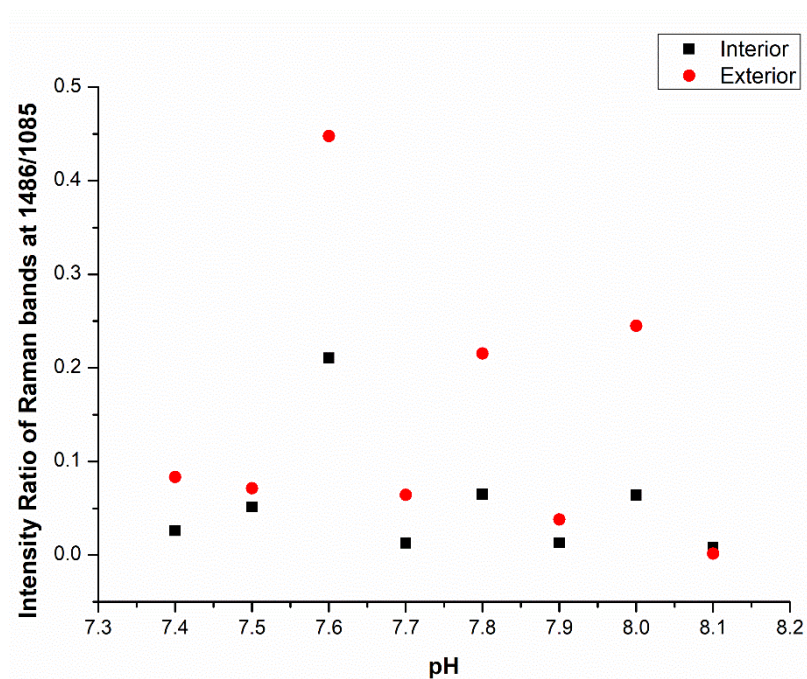


Figura 1.2.3. Raportul de intensitate al benzilor Raman la 1486 și 1085 cm^{-1}

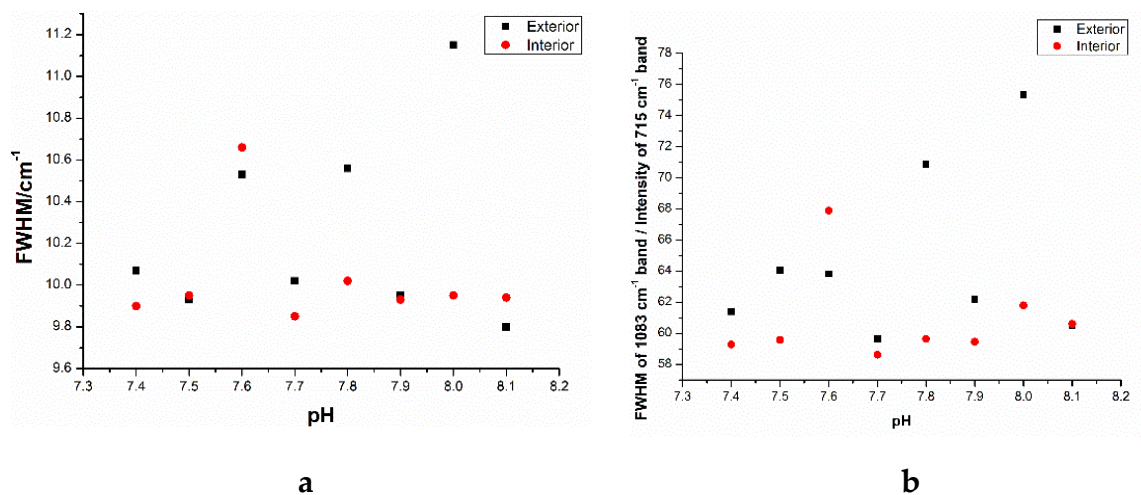


Figura 1.2.4 a) Lățimea la jumătate din înălțimea maximă (FWHM) a benzii principale de carbonat la exterior și interior pentru diferite valori de pH
b) Raportul FWHM al benzii principale de carbonat și intensitatea benzii la 715 cm⁻¹ pentru fiecare valoare de pH

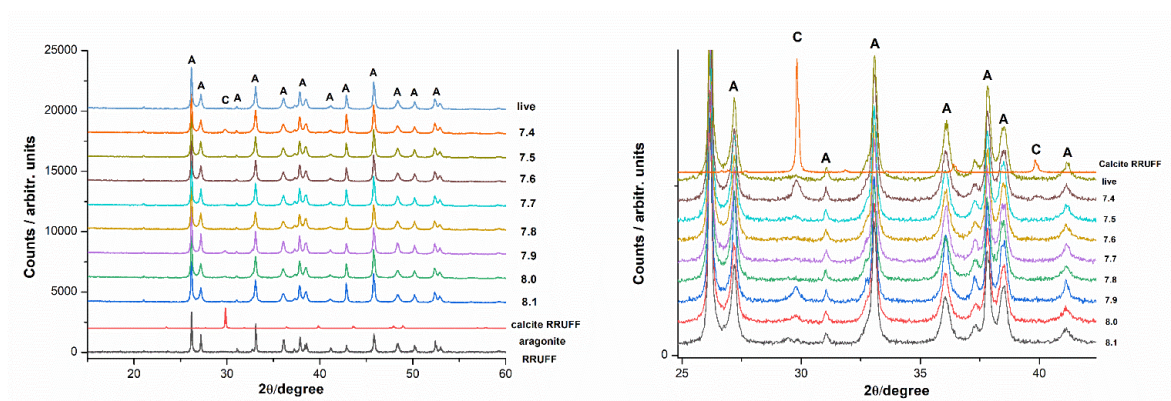


Figura 1.2.5 Difractograme XRD suprapuse ale cochiliilor de *H. trunculus* pentru fiecare valoare de pH indicată, cu detalii asupra celor două benzi principale ale aragonitului folosite în determinările ulterioare. Abreviații: A- Aragonit, C- Calcit.

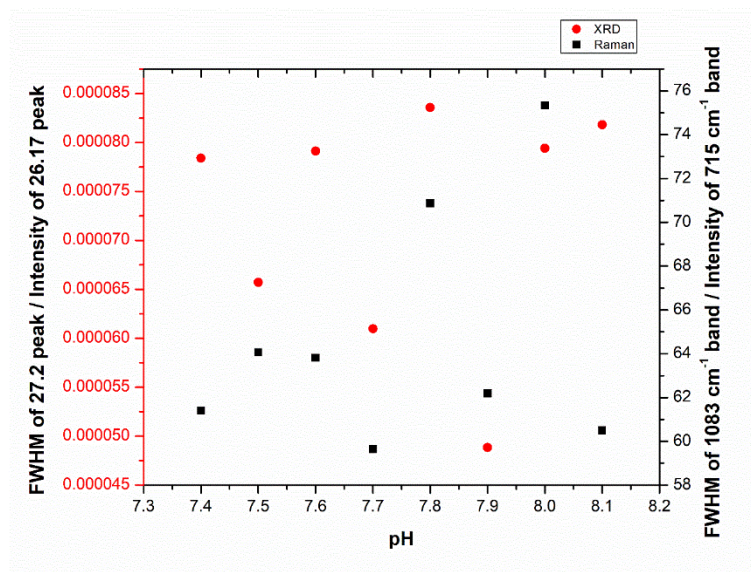


Figura 1.2.6. Grafic combinat care arată – raportul FWHM al benzii XRD la 27.20 și intensitatea la 26.170 (plot roșu); și respectiv raportul FWHM al benzii principale Raman a carbonatului la 1083 cm^{-1} și intensitatea relativă a benzii la 704 cm^{-1} (plot negru), în funcție de pH-ul mediului

1.3 Evaluarea rapidă a pudrelor biogenice din deșeuri de crustacee utilizand FTIR, complementat de difracțiade raze X, SEM și RMN

1.3.1. Context și scopul studiului

Cochiliile crustaceelor, adesea aruncate ca deșeuri industriale, câștigă tot mai multă atenție datorită potențialului lor în aplicații sustenabile, datorită structurii unice și a componentelor bioactive. Bogate în carbonat de calciu, chitină, care poate fi ușor convertită în chitosan, și pigmenți valoroși, aceste cochilii au o caracteristică morfologică unică: sunt poroase într-o nano-arhitectură ordonată 3D, motiv pentru care își găsesc numeroase aplicații curente: pot fi demineralizate și transformate în materiale de înaltă valoare utilizate în producția de plastice biodegradabile; pot fi convertite în materiale adsorbante necesare în purificarea

apelor uzate sau adaptate în industria alimentară [7,57, 84-86]. Chitosanul, în special, servește drept adsorbant natural eficient pentru îndepărtarea poluanților precum metalele grele și fosfații din apele reziduale [87-90].

În agricultură, cochiliile de crab acționează ca îngrășăminte naturale pentru sol, oferind o alternativă ecologică la îngrășămintele chimice [90]. Industria alimentară utilizează, de asemenea, compuși bioactivi derivați din cochilii, precum chitooligozaharidele, pentru proprietățile lor antimicrobiene și antiinflamatoare [91].

Din punct de vedere structural, cochiliile unor specii precum *Callinectes sapidus* și *Carcinus aestuarii* conțin calcit biogenic cu o nanostructură de tip Bouligand, care contribuie la rezistența și funcționalitatea acestora [1,2,7]. Aceste nanostructuri interacționează și conțin și pigmenți, oferind caracteristici de culoare specifice, deschizând astfel oportunități în știința materialelor și nanotehnologie.

Având în vedere aceste proprietăți, carbonatul de calciu biogenic provenit din cochiliile crustaceelor reprezintă o bază promițătoare pentru dezvoltarea de materiale farmaceutice și biomedicale. Acest studiu explorează modul în care procesele de măcinare și deproteinizare influențează compoziția pudrelor biogenice din cochilii și capacitatea tehnicii de a oferi informații relevante în contextul măcinării industriale a deșeurilor biogenice înainte și după deproteinizare.

1.3.2 Rezultate



Figura 1.3.1. Reprezentare schematică a abordării experimentale pentru urmărirea procesării deșeurilor biogenice, de la materialul brut la compoziția pudrei, folosind FTIR, complementat de SEM–EDX, RMN și XRD. Figura reprodusa din ref. 8, [Ogreșta et al, ACS Omega 2021, 6, 42, 27773–27780, <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03279>].

Studiul introduce o metodă bazată pe spectroscopie în infraroșu (FTIR) pentru a diferenția între diferite pudre biogenice derivate din cochilii brute și din resturi alimentare procesate. Fiabilitatea metodei a fost verificată prin analize complementare, inclusiv difracția de raze X (XRD), rezonanța magnetică nucleară (RMN) și microscopie electronică de scanare cu spectroscopie de raze X cu dispersie de energie (SEM–EDX).

Cercetarea s-a concentrat pe examinarea modului în care două tratamente comune – deproteinizarea alcalină și măcinarea mecanică – afectează proprietățile fizice și chimice ale pudrelor biogenice provenite de la deșeuri de cochilii de crab. Rezultatele au arătat că efectele deproteinizării cu hidroxid de sodiu poate fi identificate prin monitorizarea raportului de intensitate a absorbției IR între benzile $\nu(\text{CH}_{2,3})$ și $\nu_{\text{asim}}(\text{CO}_3^{2-})$. Deși măcinarea a avut un impact mai redus asupra acestui raport, a influențat semnificativ distribuția dimensiunii particulelor și morfologia suprafeței.

De asemenea, s-au observat variații în conținutul organic versus anorganic între cochiliile de culori diferite. Interesant este faptul că în mostrele păstrate mai mult de șase luni a fost detectat monohidrocalcit, o formă hidratată a carbonatului de calciu, care nu era prezentă în cochiliile proaspăt procesate. Procesul de deproteinizare a modificat și caracteristicile mecanice ale cochiliilor, făcându-le mai casante rezultând într-un randament mai mare de particule fine după măcinare.

2. Formulări farmaceutice și noi sisteme de livrare țintită pentru medicamente dezvoltate din carbonat de calciu biogenic, asistate de tehnologia Raman

2.1. Dezvoltarea promedicamentelor flavonoidice: creșterea biodisponibilității și stabilității pentru formulările farmaceutice

2.1.1 Context

Flavonoidele reprezintă un grup numeros de polifenoli de origine vegetală, prezenți în fructe, legume, plante medicinale și băuturi, cunoscute pentru proprietățile lor antioxidante, antiinflamatorii și anticancerigene [101–103]. În ciuda potențialului terapeutic ridicat, multe flavonoide prezintă o biodisponibilitate scăzută, cauzată de solubilitatea redusă, absorbția limitată și metabolismul rapid [104–106].

Pentru a depăși aceste limitări, strategiile bazate pe promedicamente — în special derivatizarea lipofilă utilizând acizi grași — au fost explorate pentru a îmbunătăți stabilitatea și absorbția [107,108].

Rutinul (RUT), un flavonol cu activitate biologică puternică, este limitat în utilizările sistemice din cauza naturii sale hidrofile [109]. Conjugarea cu acizi grași nesaturați (UFA), precum acidul oleic (OA) și acidul linoleic (LA), nu doar îmbunătățește farmacocinetica rutinului, ci protejează și UFA-urile de oxidare [110–112].

În mod similar, silibininul (SIL), principalul compus bioactiv din *Silybum marianum*, are efecte hepatoprotectoare recunoscute, dar suferă de o biodisponibilitate redusă [112–116]. Promedicamentele lipidice ale silibininei au demonstrat o absorbție și eficiență îmbunătățită [116].

Acest studiu investighează sinteza, caracterizarea și siguranța conjugatelor de rutin și silibinin cu OA și LA — RUT-O, RUT-L, SIL-O și SIL-L — ca potențiale nutraceutice. Prin îmbunătățirea proprietăților fizico-chimice, aceste bioconjugate pot oferi tratamente mai eficiente pentru afecțiuni hepatice, cardiovasculare și dermatologice. Tehnica FT-Raman este utilizată pentru a confirma sinteza bioconjugatelor, respectiv rutin-oleat, rutin-linoleat și silibinin-oleat, silibinin-linoleat.

2.2.2 Bioconjugatele de rutin ca promedicamente nutraceutice; utilizarea spectroscopiei Raman pentru confirmarea esterificării cu acid oleic și linoleic

Spectrele FT-Raman pentru RUT, OA și RUT-O sunt prezentate în Figura 2.2.1, iar spectrul RUT-L este ilustrat în Figura 2.2.2. Așa cum era de așteptat, bioconjugatele (RUT-O și RUT-L) prezintă benzi caracteristice atât ale flavonoidului părinte (RUT), cât și ale acizilor grași (OA sau LA), cu ușoare deplasări care indică formarea esterilor. Aceste rezultate sunt în concordanță cu datele din literatură [114,115].

În regiunea ($1.000\text{--}1.800\text{ cm}^{-1}$), șase benzi proeminente în RUT-O corespund vibrațiilor din RUT și OA, cu mici deplasări de poziție. Sub 800 cm^{-1} , RUT-O prezintă vibrații ale inelelor scheletice provenind din RUT, fără contribuții semnificative din partea OA. În regiunea de frecvență înaltă ($\sim 3.000\text{ cm}^{-1}$), se observă benzi de întindere O–H suprapuse din RUT și OA, cu modificări de intensitate și poziție care confirmă esterificarea. Modele spectrale similare au fost observate și pentru RUT-L, datorită asemănării structurale dintre OA și LA (Figura 2.2.2).

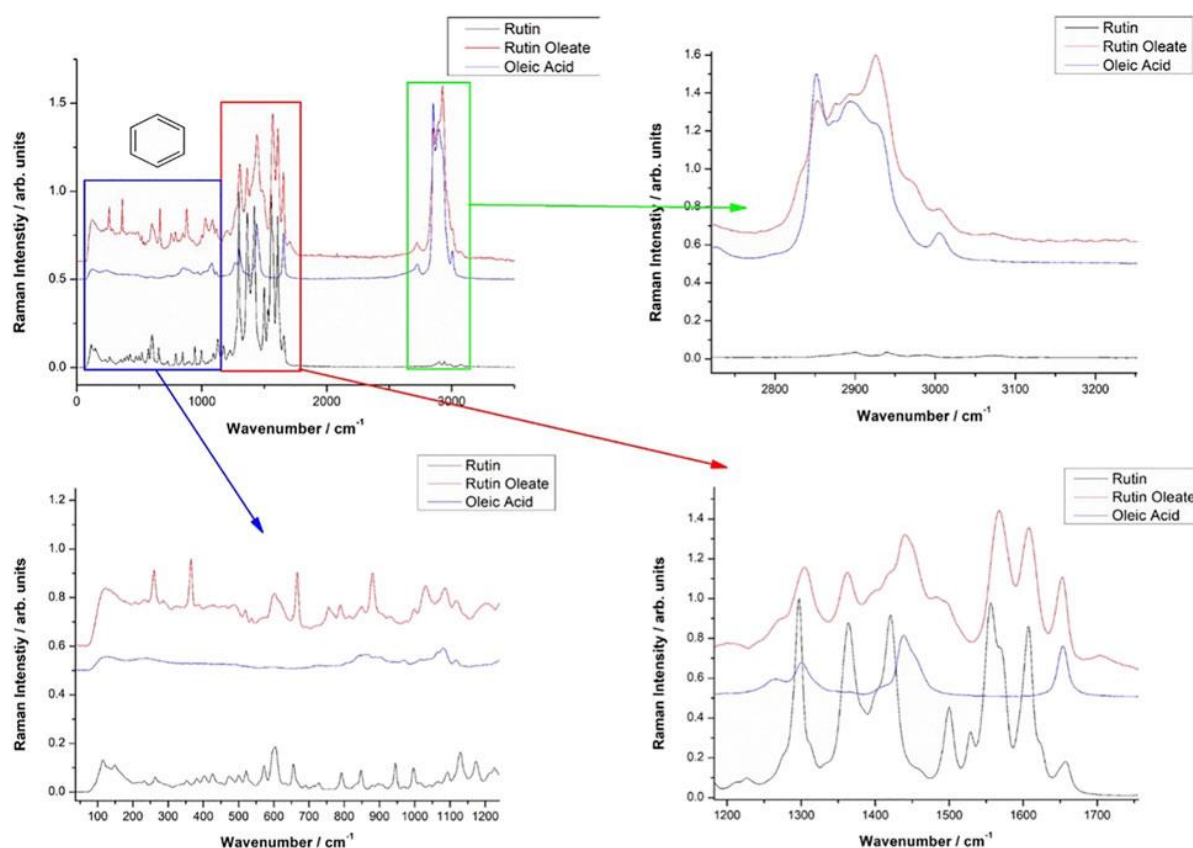
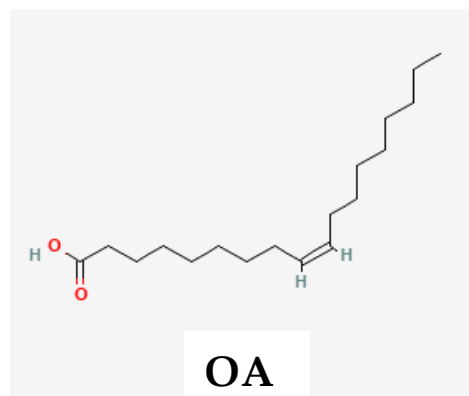
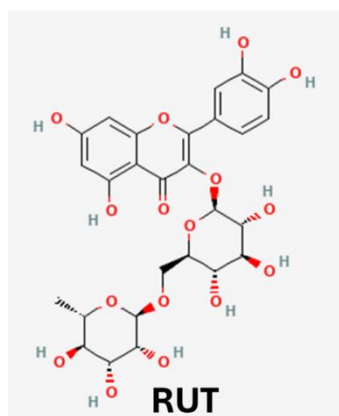


Figura 2.2.1. Spectre Raman comparative ale Rutinului (RUT), Acidului oleic (OA) și rutin-oleatului (RUT-O) (jos), alături de structura moleculară 2D a RUT (sus stânga) și OA (sus dreapta). Adaptat din ref. 9 [Dehelean, C. A., Coricovac, D., Pinzaru, I., Marcovici, I., Macasoi, I. G., Semenescu, A., Lazar, G., Cinta Pinzaru, S., Radulov, I., Alexa, E., & Cretu, O. (2022). Rutin bioconjugates as potential nutraceutical prodrugs: An in vitro and in ovo toxicological screening. *Frontiers in pharmacology*, 13, 1000608. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1000608>

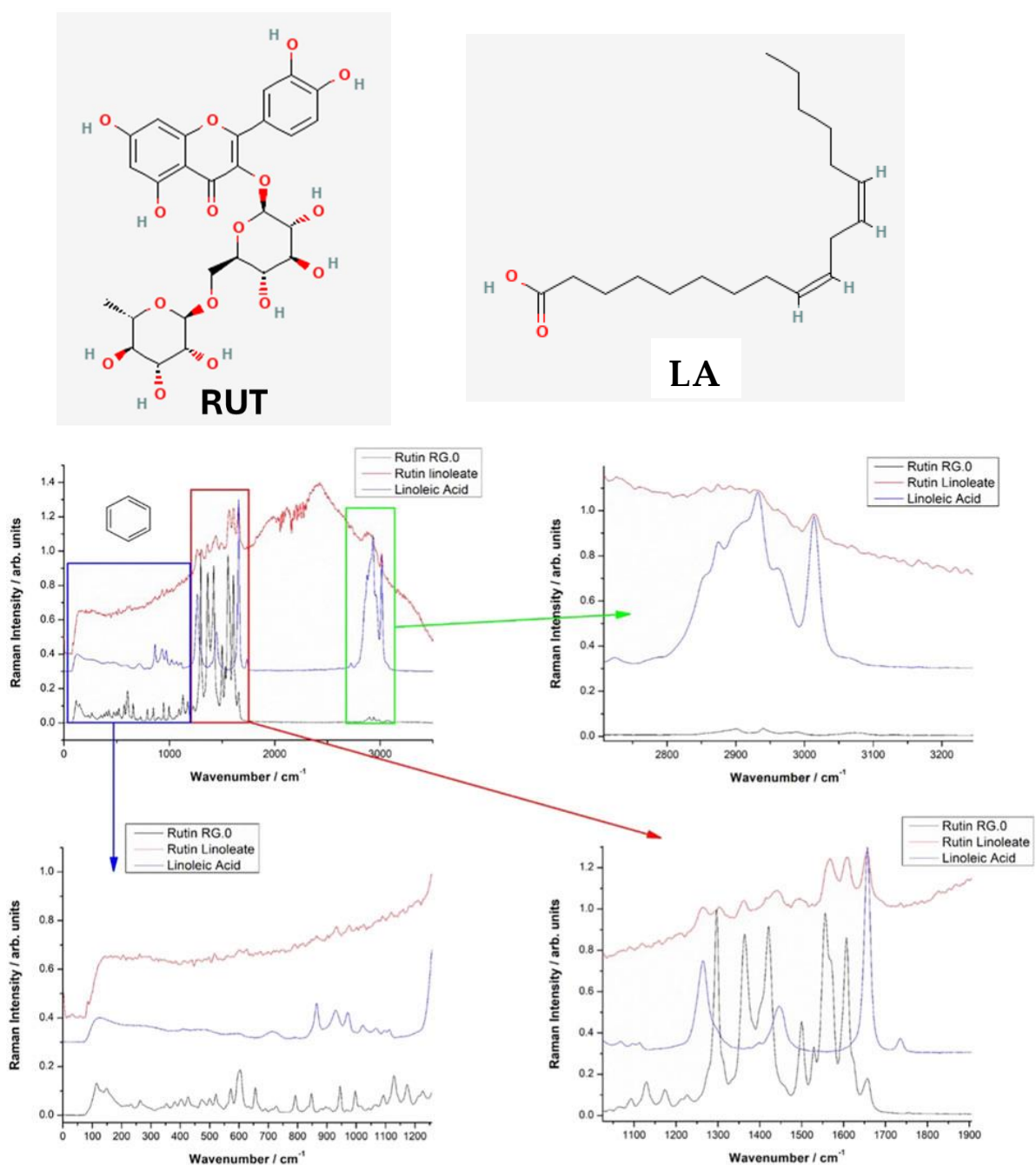


Figure 2.2.2 Spectre Raman comparative ale Rutinului (RUT), Acidului linoleic (LA) și rutin-linoleatului (RUT-L) (jos), alături de structura moleculară 2D a RUT (sus stânga) și LA (sus dreapta). Adaptat din ref. 9 [Dehelean, C. A., Coricovac, D., Pinzaru, I., Marcovici, I., Macasoi, I. G., Semenescu, A., Lazar, G., Cinta Pinzaru, S., Radulov, I., Alexa, E., & Cretu, O. (2022). Rutin bioconjugates as potential nutraceutical prodrugs:

An in vitro and in ovo toxicological screening. Frontiers in pharmacology, 13, 1000608.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1000608>

2.2.3 Bioconjugatele de silibinin ca promedicamente nutraceutice; utilizarea spectroscopiei Raman pentru confirmarea esterificării cu acid oleic și linoleic

Spectrele FT-Raman pentru compușii de bază (SIL, OA, LA) și derivații lor (SIL-O, SIL-L) sunt prezentate în Figurile 2.2.3 și 2.2.4. Principalele benzi Raman pentru OA sunt observate în regiunea 1200–1700 cm^{-1} , incluzând banda la 1265 cm^{-1} (deformare $=\text{C}-\text{H}$), 1300 cm^{-1} (deformare $\text{C}-\text{H}$), 1440 cm^{-1} (forfecare $\text{C}-\text{H}$) și 1655 cm^{-1} (întindere $\text{C}=\text{C}$). În cazul LA, se observă mici deplasări, cu banda de forfecare la 1450 cm^{-1} și întinderea $\text{C}=\text{C}$ la 1657 cm^{-1} , împreună cu o nouă bandă la 1735 cm^{-1} pentru întinderea $\text{C}=\text{O}$.

În regiunea 2800–3200 cm^{-1} , ambii acizi prezintă benzi de întindere $\text{C}-\text{H}$, cu diferențe de intensitate și poziție. Benzile principale ale OA sunt la 2727, 2848, 2893 și 3003 cm^{-1} , în timp ce LA are benzi la 2848, 2875, 2893, 2931, 2961 și 3014 cm^{-1} .

Spectrele derivaților oleat/linoleat sunt dominate de benzile compușilor de bază, cu mici deplasări care indică modificări ale modurilor de vibrație. Pentru SIL-O, în intervalul 0–2000 cm^{-1} , apar trei benzi (890, 1551, 1711 cm^{-1}) care nu sunt prezente în SIL sau OA, banda de 1711 cm^{-1} corespunzând întinderii esterului $\text{C}=\text{O}$. Banda de întindere $\text{C}=\text{C}$ se deplasează de la 1655 cm^{-1} în OA la 1648 cm^{-1} în SIL-O. Benzile $\text{C}-\text{H}$ din regiunea 2800–3200 cm^{-1} prezintă mici deplasări și modificări de intensitate, iar unele benzi intense ale compușilor de bază (3005 cm^{-1} în OA și 3059 cm^{-1} în SIL) lipsesc în SIL-O.

În schimb, SIL-L păstrează benzi în intervalul 1000–2000 cm^{-1} care corespund celor din SIL sau LA, cu ușoare deplasări. Banda de întindere C=C apare la 1652 cm^{-1} în SIL-L (față de 1657 cm^{-1} în LA), iar întinderea C=O de la 1735 cm^{-1} în LA apare ca un umăr slab la 1732 cm^{-1} în SIL-L.

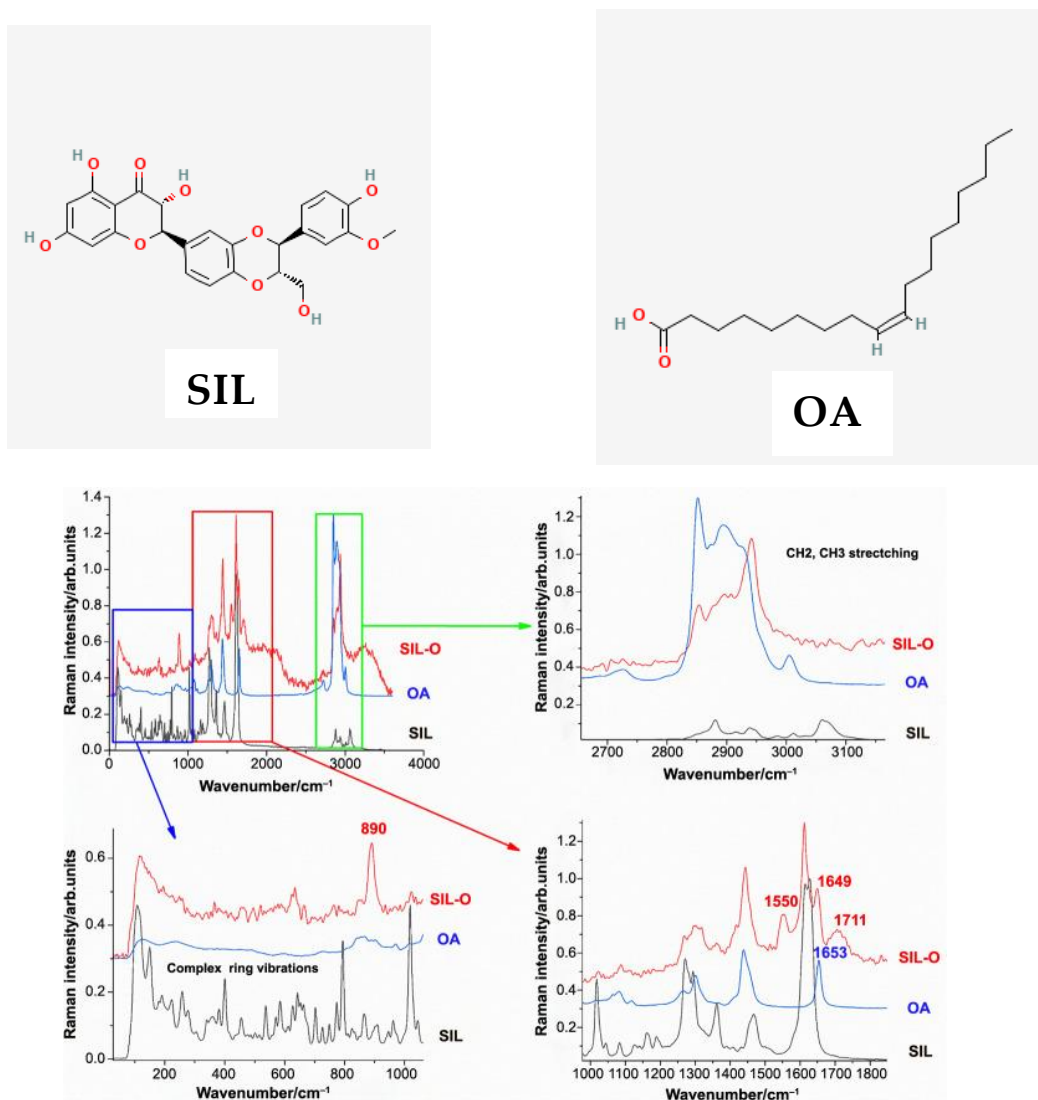


Figura 2.2.3 Spectre FT-Raman comparative ale silibininei, acidului oleic și silibinin-oleatului. Excitație: 1064 nm. SIL: Silibinin; OA: Acid oleic; SIL-O: Silibinin-oleat (jos), alături de structura moleculară 2D a SIL (sus stânga) și OA (sus dreapta). Adaptat din ref. 10 [Dehelean C, Alexa E, Marcovici I, Iftode A, Lazar G, Simion A, Chis V, Pirnau A, Cinta Pinzaru S, Boeriu E. Synthesis, characterization, and in vitro-in ovo

toxicological screening of silibinin fatty acids conjugates as prodrugs with potential biomedical applications. *Biomol Biomed.* 2024 Oct 17;24(6):1735-1750. doi: 10.17305/bb.2024.10600.]

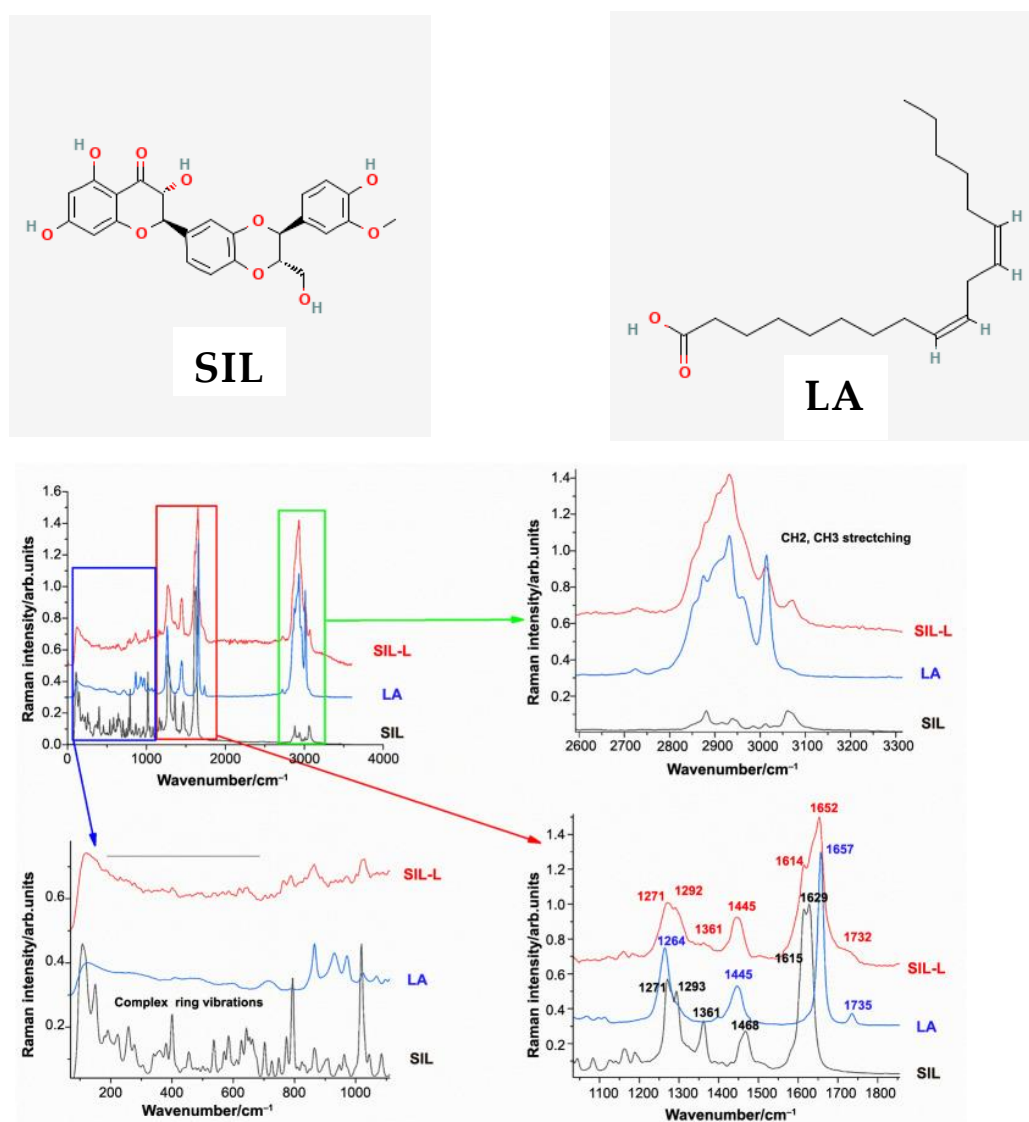


Figura 2.2.4 Spectre FT-Raman comparative ale silibininei, acidului linoleic și silibinin-linoleatului. Excitație: 1064 nm. SIL: Silibinină; LA: Acid linoleic; SIL-L: Silibinin-linoleat (jos), alături de structura moleculară 2D a SIL (sus stânga) și LA (sus dreapta). Adaptat din ref. 10 [Dehelean C, Alexa E, Marcovici I, Iftode A, Lazar G, Simion A, Chis V, Pirnau A, Cinta Pinzaru S, Boeriu E. Synthesis, characterization, and in vitro-in ovo

toxicological screening of silibinin fatty acids conjugates as prodrugs with potential biomedical applications. Biomol Biomed. 2024 Oct 17;24(6):1735-1750. doi: 10.17305/bb.2024.10600.]

2.3 Sistem de livrare tintita a medicamentelor pe baza de carbonat de calciu biogenic

2.3.1 Context

Fluorouracilul (5-FU) este un agent chimioterapic utilizat pe scară largă în tratamentul diferitelor tipuri de cancer, însă eficiența sa clinică este limitată de factori precum biodisponibilitatea scăzută, timpul de înjumătățire plasmatic scurt și rezistența la medicament [117,118]. Pentru a depăși aceste obstacole, cercetările s-au concentrat pe sisteme de livrare a medicamentului care să îmbunătățească stabilitatea, biodisponibilitatea și direcționarea specifică a acestuia. Diversi nanotransportatori — inclusiv nanoparticule pe bază de lipide, polimeri sau materiale anorganice — au demonstrat potențialul de optimizare al terapiei cu 5-FU. De exemplu, nanoparticulele bazate pe chitosan îmbunătățesc stabilitatea medicamentului și absorbția celulară, iar formulările cu acid polilactic-co-glicolic (PLGA) permit eliberarea susținută, abordând astfel metabolismul rapid și fluctuațiile de biodisponibilitate [133–142].

Nanoparticulele anorganice, cum ar fi cele modificate cu chitosan sau siliciu funcționalizate cu grupări amine, contribuie de asemenea la livrarea eficientă a 5-FU, reducând efectele secundare și îmbunătățind rezultatele terapeutice [140–142].

În ciuda eficienței sale, 5-FU provoacă toxicitate semnificativă în afara zonei dorite, incluzând complicații cardiovasculare și leziuni gastrointestinale [143–145]. Pentru a reduce aceste efecte adverse, au fost explorate nanoparticule de carbonat de calciu biogenic obținute din cochilii de scoici ca sisteme de livrare

directionată, demonstrând potențial în creșterea specificității și reducerea toxicității în tratamentele oncologice, inclusiv cele cu 5-FU [146–148]. Această studiu se concentrează pe dezvoltarea unei formulări inovatoare de 5-FU, folosind calcit biogenic obținut din deșeuri de carapace de crab albastru agent transportator. Structura poroasă tridimensională a materialului permite încărcarea eficientă cu medicament, iar formularea este concepută sub formă de comprimat. Pentru caracterizarea proprietăților structurale și morfologice ale compozitului s-a folosit Spectroscopia Raman, difracția cu raze X (XRD) și microscopie electronică de scanare (SEM), în timp ce tehnica SERS este utilizată pentru a monitoriza eliberarea medicamentului în diferite medii.

2.3.2 Rezultate

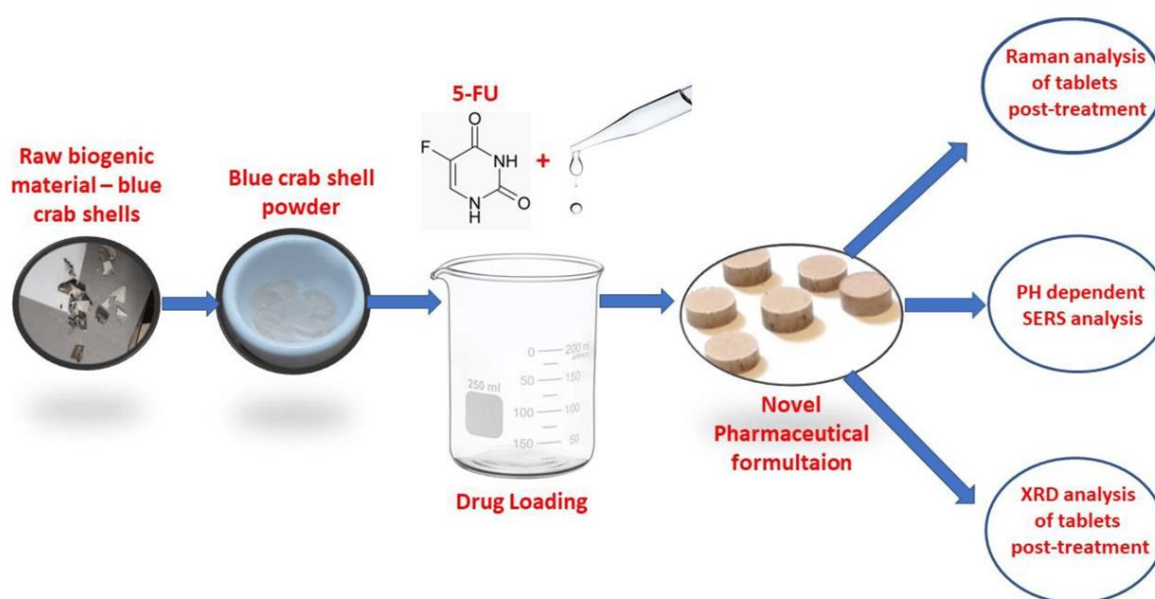


Figura 2.3.1 Prezentare schematică a sistemului de transport medicamentos pe bază de calcit biogenic pentru încărcarea cu 5-FU și efectul pH-ului asupra comprimatului și eliberării lente a ingredientului activ. Reprodus din ref.2 [Novel Drug Carrier: 5-Fluorouracil Formulation in Nanoporous Biogenic Mg-calcite from Blue Crab Shells – Proof of Concept, Geza Lazar, Fran Nekuapil, Razvan Hirian, Branko Glamuzina, Tudor

Tamas, Lucian Barbu-Tudoran, and Simona Cinta Pinzaru, ACS Omega 2021 6 (42), 27781-27790] DOI: 10.1021/acsomega.1c03285].

Studiul confirmă eficiența carbonatului de calciu biogenic derivat din carapacele de crab albastru ca agent transportator pentru medicamente în medii cu pH relevant. Rezultatele noastre validează viabilitatea materialului, arătând că formularea farmaceutică inovatoare își păstrează proprietățile chiar și în condiții acide, similare celor din tractul digestiv. Eliberarea lentă a medicamentului în mediu acid contribuie la reducerea efectelor citotoxice, chiar dacă doar aproximativ 40% din 5-FU este eliberat în aceste condiții. Dimensiunea comprimatului și doza pot fi ajustate în funcție de nevoile specifice. Deși suprafața comprimatului se poate degrada ușor în contact cu mediul acid, procesul de eliberare rămâne în mare parte neafectat.

Utilizarea carapacelor de crab albastru ca agent transportator oferă multiple avantaje față de alte formulări, incluzând biocompatibilitatea, efecte secundare minime și beneficii antioxidante datorate conținutului de carotenoizi. Procesul de încărcare a medicamentului este simplu, necesitând preparare minimă și echipamente necostisitoare, ceea ce îl face scalabil pentru producție industrială. În plus, folosirea carapacelor de crab se aliniază cu principiile economiei circulare și bioeconomiei albastre, fiind un material rezidual disponibil și abundent.

3. Valorificarea biodeșeurilor: Conversia carbonatului de calciu din carapace de crab în minerale de fosfat de calciu, proces controlat prin Spectroscopie Raman

3.1 Context și obiectiv

În ultimii ani, tehnologiile durabile bazate pe biomateriale au atras o atenție științifică semnificativă. Posibilitatea de a converti deșeurile biogenice în produse cu valoare adăugată a stimulat numeroase inovații recente [85,153,154], în contextul bioeconomiei albastre. Printre aceste produse, fosfații de calciu joacă un rol esențial în diverse aplicații industriale și biomedicale; de exemplu, în tratarea apei [155–157], în industria alimentară [158,159], în agricultură ca fertilizanți [160–162], și în biomedicină — în ortopedie și stomatologie — ca materiale pentru grefe osoase și implanturi datorită biocompatibilității și similitudinii structurale cu tesutul osos natural [163–167].

Deși hidroxilapatitul (HA), β -tricalciul fosfat (β -TCP) și brushitul sunt cele mai utilizate materiale pentru implanturi osoase, studii recente au demonstrat viabilitatea altor fosfați de calciu precum monetit sau whitlockit [168–174]. Cu toate acestea, doar o mică parte din literatura științifică publicată abordează aplicarea acestor compuși ca materiale pentru implanturi osoase, și chiar mai puține lucrări explorează utilizarea surselor de carbonat de calciu biogenic drept precursori [175–178].

În această lucrare, propunem utilizarea unui biomaterial abundent, dar slab valorificat — carapacele de crab post-consum — ca precursor pentru conversia în fosfați de calciu. Carbonatul biogenic derivat din exploatarea crustaceelor este un material promițător datorită nanoarhitecturii sale remarcabile, similare cu modelul Bouligand stratificat 3D, care furnizează în mod natural nano-canale și nanopori în compozitul mineral-organic [2,3,7,8,85]. În plus, partea organică conține în mod natural astaxantin — un carotenoid cu

proprietăți antioxidante puternice — conferind avantaje atractive față de carbonatul de calciu geogenic.

Aceste materiale, deși extrem de abundente, sunt puțin exploatate industrial, deși structura și morfologia lor sunt esențiale pentru dezvoltarea de noi agenți transportatori pentru medicamente [2,3], biostimulanți [57,90], adsorbanți eficienți pentru poluanți [179], formulări farmaceutice cu eliberare lentă [2] și altele.

Pentru a aborda aceasta problema, acest capitol se concentrează pe conversia carbonatului de calciu biogenic derivat din carapacea de crab în compuși de fosfat de calciu cu valoare ridicată. Datorită biocompatibilității excelente, bioactivității ridicate și toxicității scăzute, fosfatul de calciu este considerat un excelent candidat pentru aplicații în ingineria țesutului osos. Spre deosebire de variantele sintetice, mineralul obținut prin conversie din calcit biogenic păstrează însă și antioxidanți, natural distribuiți în materialul biogenic, ceea ce conferă avantaje în bioingineria tisulară. Obiectivele sunt: (1) dezvoltarea și optimizarea unei proceduri sustenabile pentru conversia calcitului biogenic în diverse forme de fosfat de calciu; (2) demonstrarea utilizării spectroscopiei Raman ca instrument analitic eficient pentru monitorizarea conversiei.

Spectroscopia Raman este deosebit de utilă în caracterizarea fazelor de fosfat de calciu datorită sensibilității sale la diferențe subtile în vibrațiile moleculare asociate grupărilor fosfat. Brushitul ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) prezintă o bandă puternică la $985\text{--}990\text{ cm}^{-1}$ și una mai slabă la 875 cm^{-1} . Monetitul (CaHPO_4) are o bandă principală între $950\text{--}980\text{ cm}^{-1}$ și una slabă în jur de 900 cm^{-1} . Hidroxilapatitul ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) este caracterizat printr-o bandă intensă la 960 cm^{-1} , și altele mai slabe în intervalele $430\text{--}450\text{ cm}^{-1}$, $580\text{--}610\text{ cm}^{-1}$ și $1000\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$. Whitlockitul ($\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6(\text{PO}_3\text{OH})$) prezintă o bandă în jur de 968 cm^{-1} , adesea însoțită de umeri sau benzi suplimentare.

Prin variarea sistematică a parametrilor de reacție — cum ar fi stoichiometria acidului, dimensiunea particulelor și tratamentul termic — se explorează condițiile optime pentru conversie. În paralel, măsurătorile in situ Raman permit monitorizarea evoluției benzilor vibrationale specifice materialelor inițiale și fazelor fosfatice formate.

3.2 Rezultate

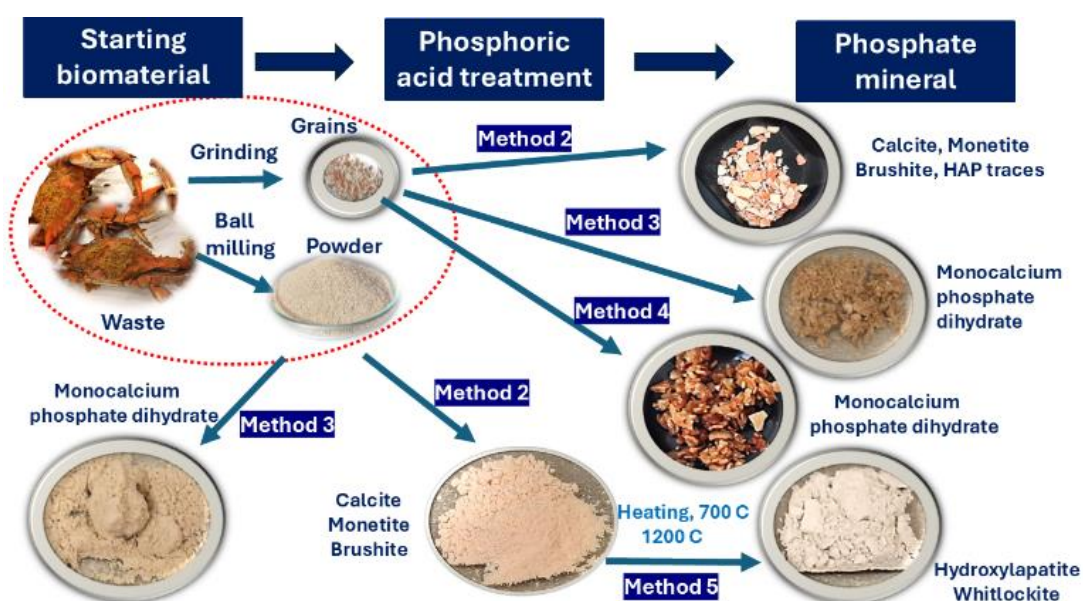


Figura 3.1 Reprezentare schematică a experimentelor efectuate pe carapacele de crustacee și a produsilor de reacție obținuți. [Lazar et al, 2025, submitted manuscript].

În acest studiu demonstrăm eficiența spectroscopiei Raman în controlul conversiei calcitului biogenic derivat din carapace de crab în minerale de fosfat de calciu, utilizând tratamente cu acid fosforic. Au fost evaluați sistematic

parametri precum: stoichiometria acidului, distribuția granulară și tratamentul termic la 700°C și 1200°C.

Spectroscopia Raman, validată prin difracție de raze X (XRD) și microscopie electronică cu dispersie de energie (SEM-EDX), a evidențiat formarea unor faze mixte: monetit, brushit, whitlockit sau hidroxiapatit. Micșorarea dimensiunii particulelor a crescut eficiența conversiei prin creșterea suprafeței reactive, iar utilizarea unui exces de acid fosforic a favorizat conversia în fosfat monocalcic și degradarea matricei organice.

Tratamentul termic a influențat compoziția finală: la 700°C s-a obținut o fază bogată în whitlockit, iar la 1200°C s-a accentuat formarea hidroxiapatitului. Compușii sintetizați — hidroxiapatitul, fosfatul monocalcic, whitlockitul și brushitul — au utilitate practică semnificativă în aplicații biomedicale (implanturi osoase sau dentare), dar și numeroase aplicații în agricultură și procese industriale.

Am demonstrat că prin controlul parametrilor de reacție se poate adapta compoziția produsului final în funcție de nevoile specifice: o abordare ecologică produce brushit, monetit sau fosfat monocalcic, în timp ce un proces mai intens energetic (la 1200°C) duce la hidroxiapatit de puritate ridicată.

Această cercetare propune o metodă sustenabilă pentru obținerea de fosfați de calciu din biomateriale reziduale, contribuind atât la bioeconomie, cât și la inovația științifică.

Concluzii, impact și perspective

Această teză subliniază potențialul valorificării biodeșeurilor folosind spectroscopia Raman, conectând știința mediului, ingineria biomedicală și dezvoltarea farmaceutică. Mai mult, demonstrează că deșeurile biologice complexe pot fi transformate în materiale de înaltă valoare prin tehnici simple și scalabile. Lucrarea evidențiază aplicabilitatea industrială a acestor metode, concentrându-se pe procese cu consum redus de energie, tratamente necostisitoare și instrumentație accesibilă.

O contribuție esențială constă în utilizarea spectroscopiei Raman pentru caracterizarea carbonatului de calciu biogenic și monitorizarea transformărilor acestuia — precum schimbările de cristalinitate, esterificarea, eliberarea de medicamente și sinteza de fosfați de calciu. Combinată cu tehnici precum XRD, SEM-EDX și spectroscopie IR, Raman oferă o versatilitate de neegalat pentru monitorizarea proceselor.

Această cercetare contribuie la reziliența climatică și sustenabilitate prin transformarea deșeurilor biogenice (ex. carapace de crab) în materiale valoroase. Simplitatea și scalabilitatea metodelor le fac adaptabile pentru medii industriale cu resurse limitate, susținând modelele economiei circulare.

Utilizarea structurilor biogenice pentru livrarea țintită a medicamentelor, împreună cu tehnici precum SERS pentru monitorizarea compușilor, poate duce la sisteme terapeutice mai eficiente și ecologice. Abordarea interdisciplinară — care combină spectroscopia, știința materialelor și ingineria mediului — oferă un model pentru cercetări viitoare.

În concluzie, această teză prezintă materiale, metode și instrumente valoroase, oferind o viziune asupra inovației durabile în valorificarea biodeșeurilor. Prin utilizarea spectroscopiei Raman, arată cum deșeurile pot fi transformate în materiale funcționale, stimulând atât înțelegerea științifică, cât și

aplicațiile industriale. Cercetarea reflectă principiile bioeconomiei circulare, demonstrând cum deșeurile pot deveni resurse pentru multiple domenii.

Lista Publicațiilor

Publicații pe tema tezei

1. Lovro Ogresta, Fran Nekvapil, Tudor Tămas, Lucian Barbu-Tudoran, Maria Suci, Răzvan Hirian, Mihaela Aluas, **Geza Lazar**, Erika Levei, Branko Glamuzina, Simona Cinta Pinzaru. Rapid and Application-Tailored Assessment Tool for Biogenic Powders from Crustacean Shell Waste: Fourier Transform-Infrared Spectroscopy Complemented with X-ray Diffraction, Scanning Electron Microscopy, and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *ACS Omega*, vol. 6, no. 42, pp. 27773–27780, 2021, doi: 10.1021/acsomega.1c03279.

Numele Revistei: *ACS Omega*. AIS: 0.63; IF: 4.13, Q2

2. **Geza Lazar**, Fran Nekvapil, Razvan Hirian, Branko Glamuzina, Tudor Tamas, Lucian Barbu-Tudoran, Simona Cinta Pinzaru. "Novel drug carrier: 5-Fluorouracil formulation in nanoporous biogenic Mg-calcite from blue crab shells—Proof of concept" *ACS Omega*, vol. 6, no. 42, pp. 27781–27790, 2021, doi: 10.1021/acsomega.1c03285.

Numele Revistei: *ACS Omega*. AIS: 0.63; IF: 4.13, Q2

3. **Geza Lazar**, Fran Nekvapil, Sanja Matić-Skoko, Călin Firta, Dario Vrdoljak, Hana Uvanović, Lucian Barbu-Tudoran, Maria Suci, Luka Glamuzina, Branko Glamuzina, Regina Mertz-Kraus, Simona Cinta Pinzaru. "Comparative screening the life-time composition and crystallinity variation in gilthead seabream otoliths *Sparus aurata* from different marine environments," *Sci. Rep.*, vol. 12, p. 9584, 2022, doi: 10.1038/s41598-022-13667-3.

Numele Revistei: *Scientific reports*. AIS: 1.132; IF: 4.60, Q1

4. **Geza Lazar**, Fran Nekvapil, Branko Glamuzina, Tudor Tamaș, Lucian Barbu-Tudoran, Maria Suci, Simona Cinta Pinzaru. "pH-Dependent Behavior of Novel 5-FU Delivery System in Environmental Conditions Comparable to the Gastro-Intestinal Tract" *Pharmaceutics*, vol. 15, p. 1011, 2023, doi: 10.3390/pharmaceutics15031011.

Numele Revistei: *Pharmaceutics*. AIS: 0.798; IF: 4.9, Q1

5. Cristina Adriana Dehelean, Dorina Coricovac, Iulia Pinzaru, Iasmina Marcovici, Ioana Gabriela Macasoi, Alexandra Semenescu, **Geza Lazar**, Simona Cinta Pinzaru, Isidora Radulov, Ersilia Alexa, Octavian Cretu. "Rutin bioconjugates as potential nutraceutical prodrugs: An in vitro and in ovo toxicological screening," *Front. Pharmacol.*, vol. 13, 2022, doi: 10.3389/fphar.2022.1000608.

Numele Revistei: *Frontiers in Pharmacology*. AIS: 0.995; IF: 5.60, Q1

6. Cristina Dehelean, Ersilia Alexa, Iasmina Marcovici, Andrada Iftode, **Geza Lazar**, Andrea Simion, Vasile Chis, Adrian Pirnau, Simona Cinta Pinzaru, Estera Boeriu. "Synthesis, Characterization, and in vitro–in Ovo Toxicological Screening of Silibinin Fatty Acids Conjugates As Prodrugs With Potential Biomedical Applications," *Biomolecules and Biomedicine*, vol. 24, no. 6, pp. 1735–1750, 2024, doi: 10.17305/bb.2024.10600.

Numele Revistei: Biomolecules and Biomedicine. N/A

7. Fran Nekvapil, Maria Mihet, **Geza Lazar**, Simona Cîntă Pinzaru, Ana Gavrilović, Alexandra Ciorîță, Erika Levei, Tudor Tamaș, Maria-Loredana Soran Composition and Porosity of the Biogenic Powder Obtained from Wasted Crustacean Exoskeletons after Carotenoids Extraction for the Blue Bioeconomy. *Water*, 15, 2591. <https://doi.org/10.3390/w15142591>

Numele Revistei: Water. AIS: 0.528; IF: 3.0, Q2

8. Articol trimis spre publicare: **Geza Lazar**, Tudor Tămaș, Lucian Barbu-Tudoran, Monica M. Venter, Ilirjana Bajama, and Simona Cîntă Pinzaru. Biowaste valorisation: Conversion of Crab Shell-Derived Mg-Calcite into Calcium Phosphate Minerals Controlled by Raman Spectroscopy. *Trimis la RSC Advances*.

Numele Revistei: Journal of Materials Science. AIS: 0.666; IF: 3.9, Q2

9. Articol trimis spre publicare: Ilirjana Bajama, Karlo Maškarić, Geza Lazar, Tudor Tămaș, Codrut Costinas, Lucian Barbu-Tudoran, Simona Cîntă Pinzaru. Years-aged biogenic carbonates from crustacean waste: structural and functional evaluation of calibrated fine powders and their conversion into phosphate minerals.

Numele Revistei: Materials. AIS: 0.523; IF: 3.2, Q3

7 publicații incluse în teză: total AIS = 4.713. 3 Q1; 3 Q2; 1 N/A

Alte Publicații

1. **Geza Lazar**, Calin Firta, Sanja Matić-Skoko, Melita Peharda, Dario Vrdoljak, Hana Uvanović, Fran Nekvapil, Branko Glamuzina, S Cinta Pinzaru. 'Tracking the growing rings in biogenic aragonite from fish otolith using confocal raman microspectroscopy and imaging'. *Studia UBB Chemia*, 65(1), 125–136. <https://doi.org/10.24193/subbchem.2020.1.10>.

Numele Revistei: Studia Chemia. AIS: 0.0062; IF: 0.46, Q4

2. Fran Nekvapil, Ioana Brezestean, **Geza Lazar**, Calin Firta, Simona Cinta Pinzaru. Resonance Raman and SERRS of fucoxanthin: Prospects for carotenoid quantification in live diatom cells. *J. Mol. Struct.* **2021**, 1250, 131608. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131608>.

Numele Revistei: **Journal of Molecular Structure**. AIS: 0.385; IF: 3.8, Q2

9 publicații in total: total AIS = 5.16. 46 citări, H-index 5 (Scopus, WoS, Google scholar).

Contribuții la conferințe

1. **Geza Lazar**, Fran Nekvapil, Razvan Hirian, Branko Glamuzina, Tudor Tamaș, Lucian Barbu-Tudoran and Simona Cinta Pinzaru. *PH dependent fluorouracil release from novel composite drug based on biogenic calcium carbonate*. Poster: ICPAM 14, Dubrovnik, Croatia 7-16 Septembrer 2022.
2. Effects of ocean acidification on the morphology and structure of Hexaplex trunculus sea snail shell biomaterial revealed by Raman, XRD AND SEM-EDX data. **G. Lazar**, F. Nekvapil, I. Bajama, T. Tamas, M. Suci, L. BarbuTodoran, S. Grdan, S. Cinta Pinzaru, S. Dupont, A. Bratos Cetinic, L. Glamuzina. Prezentare Orala: ICPAM 14, Dubrovnik, Croatia 7-16 Septembrer 2022.
3. New biocomposites from waste materials S. Cinta Pinzaru, **G. Lazar**, F. Nekvapil, R. Hirian, T. Tamas, L. Barbu-Tudoran, M. Suci, M. Aluas, I. Bajama, D. A. Dumitru, S. Tomsic, B. Glamuzina. . ICPAM 14, Dubrovnik, Croatia 7-16 Septembrer 2022.
4. Screening of waste shell biomaterials for recycling as adsorbents for water-borne pollutants. F. Nekvapil, **G. Lazar**, M-L. Soran, M. Mihet, R. Hirian, A. Ciorita, S.B. Angyus, T. Kusovaca, M. Precanica, S. Cinta Pinzaru. ICPAM 14, Dubrovnik, Croatia 7-16 Septembrer 2022.
5. Doxycycline hyclate loaded in porous biogenic carbonate: new drug formulation and characterization using Raman spectroscopy techniques and XRD. I. Bajama, **G. Lazar**, T. Tamas, S. Cinta Pinzaru. ICPAM 14, Dubrovnik, Croatia 7-16 Septembrer 2022.
6. Multiplexed SERS for wastewater treatment utilizing highly absorbent biogenic powders to eliminate environmentally realistic mixtures comprising inorganic pollutants. Ilirjana Bajama, **Geza Lazar**, Tudor-Liviu Tamas, Simona Cinta Pinzaru. Poster: ICORS 2024, Rome, Italy 28 July - 2 August 2024.

7. Raman technology for the development of a novel biogenic calcite based bone substitute material. **Geza Lazar**, Ilirjana Bajama, Tudor Tamas, Simona Pinzaru. Accepted abstract. Poster: ICORS 2024. Rome, Italy 28 July - 2 August 2024.
8. Chemical structure, morphology and bioeconomy of the biogenic material derived from the invasive gastropod *Rapana venosa* shell by multi-laser Raman, XRD and SEM-EDX. D-Al. Dumitru, **G. Lazar**, F. Nekvapil, T. Tamas, L. BarbuTudoran, S. Cinta Pinzaru. ICPAM 14, Dubrovnik, Croatia 7-16 Septembrer 2022.
9. Innovative biofertilizer from two aquatic waste materials and its influence on carotenoid content in lettuce crop F. Nekvapil, G. Lazar, R. Hirian, M. Aluas, M. Suci, T. Tamas, L. Barbu-Tudoran, S. Tomsic, B. Glamuzina, S. Cinta Pinzaru. . ICPAM 14, Dubrovnik, Croatia 7-16 Septembrer 2022.
10. New Drug Carrier for Slow Release: 5-Fluorouracil Formulation in Nanoporous Biogenic Mg-calcite from Blue Crab Shell. **Geza Lazar**, Fran Nekvapil, Razvan Hirian, Branko Glamuzina, Tudor Tamaş, Lucian Barbu-Tudoran, Maria Suci, Simona Cinta Pinzaru. Poster: PIM 2021, 22-24 September 2021, Cluj-Napoca.

Alte Activități

Second Workshop on Blue Bioeconomy Approach to Marine Biomass Waste: INNOVATIVE IDEAS, TECHNIQUES AND TRANSLATIONAL SCIENCES. Prezentare Orala: **Geza Lazar**, Novel drug carrier from biogenic calcite popwder from crustaceans. 20 October 2021, Dubrovnik Croatia.

Participare: Summer School Microplastics: From Environmental Impact to Policy, Innovation, and Public Awareness, 16-20 June 2025, Geneve, Switzerland.

Proiect de cercetare: BlueBioSustain From Nanobiosensing to Blue Bioeconomy: Translational Science as Innovation Speeder of Blue Growth.

PROJECT: PN-III-P2-2.1-PED-2019-4777.
<https://bluebiosustain.granturi.ubbcluj.ro/>

Bibliografie

- [1] C. V. Raman, "On iridescent shells," *Proc. Indian Acad. Sci. (Math. Sci.)*, 1, 574–589, 1935, doi: 10.1007/BF03035610.
- [2] **G. Lazar**, F. Nekvapil, B. Glamuzina; T. Tamaş, L. Barbu-Tudoran, M. Suci, and S. Cinta Pinzaru. "pH-Dependent Behavior of Novel 5-FU Delivery System in Environmental Conditions Comparable to the Gastro-Intestinal Tract," *Pharmaceutics*, 15, 1011, 2023, doi: 10.3390/pharmaceutics15031011.
- [3] **G. Lazar**, F. Nekvapil, R. Hirian, B. Glamuzina, T. Tamas, L. Barbu-Tudoran, and S. Cinta-Pinzaru., "Novel drug carrier: 5-Fluorouracil formulation in nanoporous biogenic Mg-calcite from blue crab shells—Proof of concept" *ACS Omega*, 6, 42, 27781–27790, 2021, doi: 10.1021/acsomega.1c03285.
- [4] X. Hou, L. Zhang, Z. Zhou, X. Luo, T. Wang, X. Zhao, B. Lu, F. Chen, L. Zheng, "Calcium Phosphate-Based Biomaterials for Bone Repair," *J. Funct. Biomater* 13, 187, 2022, doi: 10.3390/jfb13040187.
- [5] X. Chen, H. Li, Y. Ma, and Y. Jiang, "Calcium Phosphate-Based Nanomaterials: Preparation, Multifunction, and Application for Bone Tissue Engineering," *Molecules*, 28, 4790, 2023, doi: 10.3390/molecules28124790.
- [6] **G. Lazar**, F. Nekvapil, S. Matic-Skoko, et al., "Comparative screening the life-time composition and crystallinity variation in gilthead seabream otoliths *Sparus aurata* from different marine environments," *Sci. Rep.*, 12, 9584, 2022, doi: 10.1038/s41598-022-13667-3.
- [7] F. Nekvapil, S.C. Pinzaru, L. Barbu-Tudoran et al., "Color-specific porosity in double pigmented natural 3D-nanoarchitectures of blue crab shell," *Sci. Rep.*, 10, 3019, 2020, doi: 10.1038/s41598-020-60031-4.
- [8] L. Ogresta, F. Nekvapil, T. Tămaş, L. Barbu-Tudoran, M. Suci, R. Hirian, M. Aluaş, **G. Lazar**, E. Levei, B. Glamuzina, and S. C. Pinzaru, "Rapid and Application-Tailored Assessment Tool for Biogenic Powders from Crustacean Shell Waste: Fourier Transform-Infrared Spectroscopy Complemented with X-ray Diffraction, Scanning Electron Microscopy, and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy" *ACS Omega*, 6, 42, 27773–27780, 2021, doi: 10.1021/acsomega.1c03279.

- [9] C. A. Dehelean, D. Coricovac, I. Pinzaru, I. Marcovici, I. G. Macasoi, A. Semenescu, **G. Lazar**, S. Pinzaru, I. Radulov, E. Alexa, O. Cretu, "Rutin bioconjugates as potential nutraceutical prodrugs: An in vitro and in ovo toxicological screening," *Front. Pharmacol.*, 13, 2022, doi: 10.3389/fphar.2022.1000608.
- [10] C. Dehelean, D. Coricovac, I. Pinzaru, I. Marcovici, I.G. Macasoi, A. Semenescu, **G. Lazar**, S.C. Pinzaru, I. Radulov, E. Alexa, O. Cretu, "Synthesis, Characterization, and in vitro–in Ovo Toxicological Screening of Silibinin Fatty Acids Conjugates As Prodrugs With Potential Biomedical Applications," *Biomolecules and Biomedicine*, 24, 6, 1735–1750, 2024, doi: 10.17305/bb.2024.10600.
- [11] M. H. Azarian and W. Sutapun, "Biogenic calcium carbonate derived from waste shells for advanced material applications: A review," *Front. Mater.*, vol. 9, 2022, doi: 10.3389/fmats.2022.1024977.
- [12] S. Piras, S. Salathia, A. Guzzini, A. Zovi, S. Jackson, A. Smirnov, C. Fragassa, C. Santulli, "Biomimetic Use of Food-Waste Sources of Calcium Carbonate and Phosphate for Sustainable Materials – A Review," *Materials*, 17, 843, 2024, doi: 10.3390/ma17040843.
- [13] M.L. Basile, C. Triunfo, S. Gärtner, S. Fermani, D. Laurenzi, G. Maoloni, Mazzon, C. Marzadori, A. Adamiano, M. Iafisco, D. Montroni, J. Gómez Morales, H. Cölfen and G. Falini, 'Stearate-coated biogenic calcium carbonate from waste seashells: A sustainable plastic filler.' *ACS Omega*, 9(10), 11232–11242, 2024. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c06186>
- [14] H. Porter, A. Mukherjee, R. Tuladhar, and N. K. Dhimi, 'Life cycle assessment of biocement: An emerging sustainable solution?', *Sustainability*, 13, 13878, 2021. <https://doi.org/10.3390/su132413878>
- [15] M. Song, T. Ju, Y. Meng, S. Han, L. Lin and J. Jiang, J, 'A review on the applications of microbially induced calcium carbonate precipitation in solid waste treatment and soil remediation.' *Chemosphere*, 290, 133229, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133229>
- [16] F. Scalera, L. Carbone, S. Bettini, R.C. Pullar and C. Piccirillo, 'Biomimetic calcium carbonate with hierarchical porosity produced using cork as a

sustainable template agent.’ *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(1), 103594, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103594>

[17] P. Zhao, Y. Tian, J. You, X. Hu and Y. Liu, ‘Recent advances of calcium carbonate nanoparticles for biomedical applications.’ *Bioengineering*, 9(11), 691, 2022. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9110691>

[18] P. Fadia, S. Tyagi, S. Bhagat, et al., ‘‘Calcium carbonate nano- and microparticles: Synthesis methods and biological applications’’. *3 Biotech*, 11, 457, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02995-2>

[19] D.B. Trushina, T.N. Borodina, S. Belyakov and Antipina. ‘Calcium carbonate vaterite particles for drug delivery: Advances and challenges.’ *Materials Today Advances*, 14, 100214, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.mtadv.2022.100214>

[20] S.M. Dizaj, M. Barzegar-Jalali, M.H. Zarrintan, K. Adibkia and F. Lotfipour. ‘Calcium carbonate nanoparticles as cancer drug delivery system’. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 12(10), 1649–1660, 2025. <https://doi.org/10.1517/17425247.2015.1049530>

[21] C. Lin, M. Akhtar, Y. Li, M. Ji, and R. Huang. ‘Recent developments in CaCO₃ nano-drug delivery systems: Advancing biomedicine in tumor diagnosis and treatment’. *Pharmaceutics*, 16(2), 275, 2024. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16020275>

[22] S. Li and B. Lian, ‘Application of calcium carbonate as a controlled release carrier for therapeutic drugs.’, *Minerals*, 13, 1136, 2023, <https://doi.org/10.3390/min13091136>

[23] K. Murai, T. Kinoshita, K. Nagata, and M. Higuchi, ‘Mineralization of Calcium Carbonate on Multifunctional Peptide Assembly Acting as Mineral Source Supplier and Template *Langmuir*’, 32(36), 9351–9359, 2016. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b02439>

[24] I. Sethmann, C. Luft and H.J. Kleebe. ‘Development of phosphatized calcium carbonate biominerals as bioactive bone graft substitute materials’. *Journal of Functional Biomaterials*, 9, 69, 2018. <https://doi.org/10.3390/jfb9040069>

[25] C.V. Raman, and K. Krishnan, ‘A new type of secondary radiation’. *Nature*, 121, 501–502, 1928. <https://doi.org/10.1038/121501c0>

- [26] E. Smith, and G. Dent. 'Modern Raman spectroscopy: A modern approach'. John Wiley & Sons, 2005.
- [27] D.A. Long. 'Raman spectroscopy: Fundamentals and applications'. John Wiley & Sons, 2002.
- [28] J.M. Chalmers and P. R. Griffiths (Eds.). Handbook of vibrational spectroscopy. John Wiley & Sons, 2002.
- [29] S.H. Pine. 'Molecular spectroscopy: Modern research'. Academic Press, 2012.
- [30] C.N. Banwell, and E.M. McCash. 'Fundamentals of molecular spectroscopy'. McGraw-Hill, 1994.
- [31] P. Vandenabeele. 'Practical Raman spectroscopy: An introduction'. John Wiley & Sons, 2013.
- [32] J.L. Goldstein, D.E. Newbury, P. Echlin, et al. 'Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis' (4th ed.). Springer, 2018.
- [33] C. Ning. Biomaterials for bone tissue engineering. In Biomechanics and biomaterials in orthopedics (pp. 35–57). Springer London, 2016.
- [34] B.D. Cullity S.R. and Stock, 'Elements of X-ray diffraction' (3rd ed.). Pearson, 2014.
- [35] V.K. Pecharsky and P.Y. Zavalij, 'Fundamentals of powder diffraction and structural characterization of materials' (2nd ed.). Springer, 2009.
- [36] S.V. Dorozhkin. 'Bioceramics of calcium orthophosphates.' Biomaterials, 31(7), 1465–1485, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.11.050>
- [37] A. Przekora. 'The summary of the most important cell–material interactions that guide tissue regeneration in bone engineering.', BioMed Research International, 2019, 9202476.
- [38] A.R. Boccaccini, and S. Keim, 'Bioactive glasses: Fundamentals, technology and applications.' Journal of the European Ceramic Society, 27(2–3), 547–550. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2006.04.010>
- [39] B.C. Smith, 'Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy' (2nd ed.). CRC Press, 2011.

- [40] P.R. Griffiths and J. de Haseth, 'Fourier Transform Infrared Spectrometry' (2nd ed.). Wiley-Interscience, 2007.
- [41] A. Sionkowska. 'Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials'. *Progress in Polymer Science*, 36(9), 1254–1276.
- [42] A. Barth. 'Infrared spectroscopy of proteins.' *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1767(9), 1073–1101, 2007.
<https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2007.06.004>
- [43] R. Langer and N.A. Peppas, 'Advances in biomaterials, drug delivery, and bionanotechnology.' *AIChE Journal*, 49(12), 2990–3006, 2003.
<https://doi.org/10.1002/aic.690491202>
- [44] M. De La Pierre, C. Carteret, L. Maschio, E. André, R. Orlando and R. Dovesi, 'The Raman spectrum of CaCO₃ polymorphs calcite and aragonite.' *Journal of Chemical Physics*, 140(16), 164509, 2014.
<https://doi.org/10.1063/1.4871900>
- [45] M.M. Tlili, M. Ben Amor, C. Gabrielli, S. Joiret, G. Maurin and P. Rousseau, 'Study of Electrochemical Deposition of CaCO₃ by In Situ Raman Spectroscopy: II. Influence of the Solution Composition', *Journal of the Electrochemical Society*, 150, C485, 2003. <https://doi.org/10.1149/1.1579483>
- [46] B.L. Berg, J. Ronholm, D.M. Applin et. al., 'Spectral features of biogenic calcium carbonates and implications for astrobiology.' *International Journal of Astrobiology*, 13(4), 353–365, 2014. <https://doi.org/10.1017/S1473550414000366>
- [47] C.P. Marshall, H.G.M. Edwards and J. Jehlicka. 'Understanding the application of Raman spectroscopy to the detection of traces of life'. *Astrobiology*, 10(2), 229–243, 2010. <https://doi.org/10.1089/ast.2009.0344>
- [48] T.M. DeCarlo, S. Comeau, C.E. Cornwall et al, 'Investigating marine bio-calcification mechanisms with Raman spectroscopy.' *Global Change Biology*, 25, 1877–1888, 2019. <https://doi.org/10.1111/gcb.14579>
- [49] T.M. DeCarlo, H. Ren and G.A. Farfan, 'The origin and role of organic matrix in coral calcification.' *Frontiers in Marine Science*, 5, 170, 2018.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00170>

- [50] E. DiMasi and L.B. Gower (Eds.). 'Biomineralization Sourcebook'. CRC Press, 2014. <https://doi.org/10.1201/b16621>
- [51] A. Jolivet, J.F. Bardeau and R. Fablet, 'Insights into otolith biomineralization from Raman spectroscopy.' *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 392, 551–560, 2008. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2273-8>
- [52] **G. Lazar**, C. Firta, S. Matić-Skoko, M. Peharda, D. Vrdoljak, H. Uvanović, F. Nekvapil, B. Glamuzina, S. Pinzaru, 'Tracking the growing rings in biogenic aragonite from fish otolith using confocal raman microspectroscopy and imaging', *Studia UBB Chemia*, 65(1), 125–136, 2020. <https://doi.org/10.24193/subbchem.2020.1.10>
- [53] Y. Gao, D. L. Dettman, K.R. Piner and F.R. Wallace, 'Isotopic correlation of otoliths'. *Transactions of the American Fisheries Society*, 139(2), 491–501, 2010. <https://doi.org/10.1577/T09-057.1>
- [54] A. Jolivet, R. Fablet, J.F. Bardeau, H. de Pontual, 'Preparation techniques alter the mineral and organic fractions of fish otoliths: insights using Raman micro-spectrometry'. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405, 4787–4798, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00216-013-6893-2>
- [55] M. Katsikini, 'Crystalline and amorphous calcium carbonate in crab exoskeletons.' *Journal of Structural Biology*, 211(3), 107557, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2020.107557>
- [56] L. Borromeo, U. Zimmermann, S. Andò, G. Coletti, D. Bersani, D. Basso, P. Gentile, B. Schulz, E. Garzanti. 'Raman spectroscopy for Mg estimation in Mg-calcite.' *Journal of Raman Spectroscopy*, 48, 983–992, 2017. <https://doi.org/10.1002/jrs.5156>
- [57] F. Nekvapil, M. Mihet, **G. Lazar**, S. Pinzaru, A. Gavrilović, A. Ciorîță, E. Levei, T. Tamaș, M.-L. Soran, 'Biogenic powder from crustaceans after carotenoid extraction.' *Water*, 15, 2591, 2023. <https://doi.org/10.3390/w15142591>
- [58] M. Katsikini, 'Role of Br and Sr in crab claws.' *Journal of Structural Biology*, 195(1), 1–10, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2016.05.006>
- [59] Pînzaru, S. C., Poplăcean, I.-C., Maškarić, K., Dănuț-Alexandru Dumitru, Lucian Barbu-Tudoran, Tudor-Liviu Tămaș, F. Nekvapil and B. Neculai. 'Raman

tech for waste shell demineralization.' *Processes*, 12, 832, 2024.

<https://doi.org/10.3390/pr12040832>

[60] L. Bergamonti, D. Bersani, D. Csermely, P.P. and Lottici, 'Pigments in corals and pearls.' *Spectroscopy Letters*, 44(7–8), 453–458, 2011.

<https://doi.org/10.1080/00387010.2011.610399>

[61] W. Barnard and D. de Waal, 'Raman of pigmentary molecules in mollusks.' *Journal of Raman Spectroscopy*, 37, 342–352, 2006.

<https://doi.org/10.1002/jrs.1461>

[62] T.S. Elsdon, B.K. Wells, S.E. Campana, et al., 'Otolith chemistry and fish life history.' *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 46, 297–330, 2008.

[63] A. Franco, M. Elliott, P. Franzoi, and P. Torricelli, 'Fish life strategies in estuaries.', *Marine Ecology Progress Series*, 354, 219–228, 2008.

[64] S.E. Campana, 'Chemistry of fish otoliths.' *Marine Ecology Progress Series*, 188, 263–297, 1999.

[65] S.E. Campana and S.R. Thorrold, 'Otoliths, increments, and elements: keys to a comprehensive understanding of fish populations?', *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58(1), 30–38, 2001. <https://doi.org/10.1139/f00-177>

[66] J.M. Kalish, 'Otolith microchemistry: validation of the effects of physiology, age and environment on otolith composition.' *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 132(3), 151–178, 1989. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(89\)90074-9](https://doi.org/10.1016/0022-0981(89)90074-9)

[67] R.E. Thresher, 'Elemental composition of otoliths as a stock delineator in fishes.' *Fisheries Research*, 43(1-3), 165–204, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0165-7836\(99\)00074-1](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(99)00074-1)

[68] T.S. Elsdon and B.M. Gillanders, 'Relationship between water and otolith elemental concentrations in juvenile black bream', *Acanthopagrus butcheri*. *Marine Ecology Progress Series*, 260, 263–272, 2003. <https://doi.org/10.3354/meps260263>

[69] A.M. Sturrock, C.N. Trueman, A.M. Darnaude, and E. Hunter, 'Can otolith elemental chemistry retrospectively track migrations in fully marine fishes?',

Journal of Fish Biology, 81(2), 766–795, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2012.03372.x>

[70] K.E. Limburg, B.D. Walther, Z. Lu, G. Jackman, J. Mohan, Y. Walther, A. Nissling, C.H. David, H. Wickström and H. Svedäng, 'In search of the dead zone: Use of otoliths for tracking fish exposure to hypoxia.' *Journal of Marine Systems*, 141, 167–178, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2014.02.014>

[71] T. C. Barnes and B. M. Gillanders, "Combined effects of extrinsic and intrinsic factors on otolith chemistry: implications for environmental reconstructions," *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 70, 8, 1159–1166, 2013.

[72] B. M. Gillanders, "Using elemental chemistry of fish otoliths to determine connectivity between estuarine and coastal habitats," *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 64, 47–57, 2005.

[73] W. N. Tzeng et al., "Misidentification of the migratory history of anguillid eels by Sr/Ca ratios of vaterite otoliths," *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 348, 285–295, 2007.

[74] C. Doney et al., "Surface-ocean CO₂ variability and vulnerability," *Deep Sea Res. Part II: Top. Stud. Oceanogr.*, 56, 8–10, 504–511, 2009. doi: 10.1016/j.dsr2.2008.12.016.

[75] S. C. Doney, V. J. Fabry, R. A. Feely, and J. A. Kleypas, "Ocean acidification: the other CO₂ problem," *Annu. Rev. Mar. Sci.*, 1, 169–192, 2009. doi: 10.1146/annurev.marine.010908.163834.

[76] J. A. K. Yates, "Coral Reefs and Ocean Acidification," *Oceanography*, 22, 2009. doi: 10.5670/oceanog.2009.101.

[77] J. Orr et al., "Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms," *Nature*, 437, 681–686, 2005. doi: 10.1038/nature04095.

[78] S. C. Doney, D. S. Busch, S. R. Cooley, and K. J. Kroeker, "The Impacts of Ocean Acidification on Marine Ecosystems and Reliant Human Communities," *Annu. Rev. Environ. Resour.*, 45, 83–112, 2020. doi: 10.1146/annurev-environ-012320-083019.

- [79] F. Marin, G. Luquet, B. Marie, and D. Medakovic, "Molluscan Shell Proteins: Primary Structure, Origin, and Evolution," *Curr. Top. Dev. Biol.*, 80, 209–276, 2007. doi: 10.1016/S0070-2153(07)80006-8.
- [80] L. Addadi, D. Joester, F. Nudelman, and S. Weiner, "Mollusk Shell Formation: A Source of New Concepts for Understanding Biomineralization Processes," *Chem. Eur. J.*, 12, 980–987, 2006. doi: 10.1002/chem.200500980.
- [81] F. Nudelman, B. A. Gotliv, L. Addadi, and S. Weiner, "Mollusk shell formation: Mapping the distribution of organic matrix components underlying a single aragonitic tablet in nacre," *J. Struct. Biol.*, 153, 176–187, 2006. doi: 10.1016/j.jsb.2005.09.009.
- [82] S. Weiner and P. M. Dove, "An Overview of Biomineralization Processes and the Problem of the Vital Effect," in *Biomineralization*, P. M. Dove, J. J. De Yoreo, and S. Weiner, Eds. Berlin, Boston: De Gruyter, 2003, 1–30. doi: 10.1515/9781501509346-006.
- [83] Z. Deng, Z. Jia, and L. Li, "Biomineralized Materials as Model Systems for Structural Composites: Intracrystalline Structural Features and Their Strengthening and Toughening Mechanisms," *Adv. Sci.*, 9, 2022. doi: 10.1002/advs.202103524.
- [84] G. Mancinelli, P. Chainho, L. Cilenti, S. Falco, K. Kapisir, G. Katselis and F. Ribeiro, "On the Atlantic blue crab (*Callinectes sapidus* Rathbun 1896) in southern European coastal waters: Time to turn a threat into a resource?," *Fish. Res.*, 194, 1–8, 2017. doi: 10.1016/j.fishres.2017.05.002.
- [85] F. Nekvapil, M. Aluas, L. Barbu-Tudoran, M. Suci, R.A. Bortnic, B. Glamuzina and S. Pinzaru, "From Blue Bioeconomy toward Circular Economy through High-Sensitivity Analytical Research on Waste Blue Crab Shells," *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 7, 16820–16827, 2019. doi: 10.1021/acssuschemeng.9b04362.
- [86] F. Nekvapil, I.V. Ganea, A. Ciorîță, R. Hirian, S. Tomšić, I. M. Martonos and S. Pinzaru, "A New Biofertilizer Formulation with Enriched Nutrients Content from Wasted Algal Biomass Extracts Incorporated in Biogenic Powders," *Sustainability*, 13, 8777, 2021. doi: 10.3390/su13168777.
- [87] S. B. Aziz et al., M. H. Hamsan, M. Muaffaq, M. Nofal, S. San, R.T. Abdulwahid, S. R. Saeed, M.A. Brza, M. F. Z. Kadir, J. Sewara, and S. Al-

Zangana "From Cellulose, Shrimp and Crab Shells to Energy Storage EDLC Cells" *Polymers*, 12, 1526, 2020. doi: 10.3390/polym12071526.

[88] N. Nerdy, U. Lestari, D. Simorangkir, V. Aulianshah², F. Yusuf, T. K. Bakri "Comparison of Chitosan from Crab Shell Waste and Shrimp Shell Waste as Natural Adsorbent Against Heavy Metals and Dyes," *Int. J. Appl. Pharm.*, vol. 14, 2, 181–185, 2022. doi: 10.22159/ijap.2022v14i2.43560.

[89] D. J. Jeon and S. H. Yeom, "Recycling wasted biomaterial, crab shells, as an adsorbent for the removal of high concentration of phosphate," *Bioresour. Technol.*, 100, 9, 2646–2649, 2009. doi: 10.1016/j.biortech.2008.11.035.

[90] F. Nekvapil, I. V. Ganea, A. Ciorîță, R. Hirian, L. Ogresta, B. Glamuzina, C. Roba, S. Cintă Pinzaru, "Wasted Biomaterials from Crustaceans as a Compliant Natural Product Regarding Microbiological, Antibacterial Properties and Heavy Metal Content for Reuse in Blue Bioeconomy," *Materials*, 14, 4558, 2021. doi: 10.3390/ma14164558.

[91] A. Saravanan, P. S. Kumar, D. Yuvaraj, S. Jeevanantham, P. Aishwaria, P. B. Gnanasri, M. Gopinath, Gayathri Rangasamy, "A review on extraction of polysaccharides from crustacean wastes and their environmental applications," *Environ. Res.*, 221, 2023, 115306. doi: 10.1016/j.envres.2023.115306.

[92] B. Zhan, J. Wang, H. Li, K. Xiao, X. Fang, Y. Shi and Y. Jia, "Ethosomes: A Promising Drug Delivery Platform for Transdermal Application," *Chemistry*, 6, 993–1019, 2024. doi: 10.3390/chemistry6050058.

[93] M. Sharma, R. Shah, A. Saraf, R. Kumar, R. Maheshwari, K. Balakrishnan, A. Nair, R. Kumar and P. K. Gupta., "Current advances in the therapeutic potential of nanomedicines for pulmonary disorders," *Emerg. Mater.*, 2024. doi: 10.1007/s42247-024-00708-y.

[94] K. Rani and S. Paliwal, "A Review on Targeted Drug Delivery: Its Entire Focus on Advanced Therapeutics and Diagnostics," *Scholars J. Appl. Med. Sci.*, 2, 328–331, 2014.

[95] R. Prasad, R. Pandey, A. Varma and I. Barman, "Polymer-based nanoparticles for drug delivery systems and cancer therapeutics," in *CABI*, 2017, 53–70. doi: 10.1079/9781780644479.0053.

- [96] J. Zhan, X. L. Ting and J. Zhu, "The Research Progress of Targeted Drug Delivery Systems", IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng., 207, 012017, 2017. doi: 10.1088/1757-899X/207/1/012017.
- [97] S. Dhanasekaran and S. Chopra, "Getting a Handle on Smart Drug Delivery Systems," InTech, 2016. doi: 10.5772/61388.
- [98] A. Alexander, S. Dwivedi, Ajazuddin, T.K Giri, S. Saraf, S. Saraf, D. K. Tripathi "Approaches for breaking the barriers of drug permeation through transdermal drug delivery," J. Control Release, 164, 1, 26–40, 2012. doi: 10.1016/j.jconrel.2012.09.017.
- [99] T. G. Agnihotri, V. Peddinti, S. S. Gomte, B. Rout and A. Jain., "PEGylated Nanocarriers for Protein and Peptide Delivery," in PEGylated Nanocarriers in Medicine and Pharmacy, Springer, 2025. doi: 10.1007/978-981-97-7316-9_10.
- [100] M. Sheikhpour, L. Barani, and A. Kasaeian, "Biomimetics in drug delivery systems: A critical review," J. Control Release, 253, 97–109, 2017. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.03.026.
- [101] J. F. Ponte, L. Lanieri, E. Khera, R. Laleau, O. Ab, C. Espelin, N. Kohli, B. Matin, Y. Setiady, M. L. Miller, T. A. Keating, R. Chari, J. Pinkas, R. Gregory, and G. M. Thurber, "Antibody co-administration can improve systemic and local distribution of antibody-drug conjugates to increase in vivo efficacy," Mol. Cancer Ther., 20, 1, 203–212, 2021, doi: 10.1158/1535-7163.MCT-20-0451.
- [102] S. Kumar and A. K. Pandey, "Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview," ScientificWorldJournal, 2013, 162750, 2013, doi: 10.1155/2013/162750.
- [103] A. Ullah, S. Munir, S. L. Badshah, N. Khan, L. Ghani, B. G. Poulson, A. H. Emwas, and M. Jaremko, "Important flavonoids and their role as a therapeutic agent," Molecules, 25, 22, 5243, 2020, doi: 10.3390/molecules25225243.
- [104] D. H. Abou Baker, "An ethnopharmacological review on the therapeutical properties of flavonoids and their mechanisms of actions: A comprehensive review based on up to date knowledge," Toxicol. Rep., 9, 445–469, 2022, doi: 10.1016/j.toxrep.2022.03.011.

- [105] E. Moine, P. Brabet, L. Guillou, T. Durand, J. Vercauteren, and C. Crauste, "New lipophenol antioxidants reduce oxidative damage in retina pigment epithelial cells," *Antioxidants*, 7, 197, 2018, doi: 10.3390/antiox7120197.
- [106] S. H. Thilakarathna and H. P. Rupasinghe, "Flavonoid bioavailability and attempts for bioavailability enhancement," *Nutrients*, 5, 9, 3367–3387, 2013, doi: 10.3390/nu5093367.
- [107] S. H. Thilakarathna and H. P. V. Rupasinghe, "Flavonoid bioavailability and attempts for bioavailability enhancement," *Nutrients*, 5, 3367–3387, 2013, doi: 10.3390/nu5093367.
- [108] J. Rautio, N. Meanwell, L. Di, and et al., "The expanding role of prodrugs in contemporary drug design and development," *Nat. Rev. Drug Discov.*, 17, 559–587, 2018, doi: 10.1038/nrd.2018.46.
- [109] A. G. Almeida Sá, A. C. de Meneses, P. H. H. de Araújo, and D. de Oliveira, "A review on enzymatic synthesis of aromatic esters used as flavor ingredients for food, cosmetics and pharmaceuticals industries," *Trends Food Sci. Technol.*, 69A, 95–105, 2017, doi: 10.1016/j.tifs.2017.09.004.
- [110] K. Iuchi, M. Ema, M. Suzuki, C. Yokoyama, and H. Hisatomi, "Oxidized unsaturated fatty acids induce apoptotic cell death in cultured cells," *Mol. Med. Rep.*, 19, 4, 2767–2773, 2019.
- [111] H. Lee and W. J. Park, "Unsaturated fatty acids, desaturases, and human health," *J. Med. Food*, 17, 2, 189–197, Feb. 2014, doi: 10.1089/jmf.2013.2917.
- [112] F. Marangoni, C. Agostoni, C. Borghi, A. L. Catapano, H. Cena, A. Ghiselli, C. La Vecchia, G. Lercker, E. Manzato, A. Pirillo, G. Riccardi, P. Risé, F. Visioli, and A. Poli, "Dietary linoleic acid and human health: Focus on cardiovascular and cardiometabolic effects," *Atherosclerosis*, 292, 90–98, 2020, doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.11.018.
- [113] A. L. Kerrihard, R. B. Pegg, A. Sarkar, and B. D. Craft, "Update on the methods for monitoring UFA oxidation in food products," *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 117, 1–14, 2015, doi: 10.1002/ejlt.201400119.
- [114] K. Patel and D. K. Patel, "The beneficial role of rutin, a naturally occurring flavonoid in health promotion and disease prevention: A systematic review and update," in *Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related*

Inflammatory Diseases, 2nd ed., R. R. Watson and V. R. Preedy, Eds. Academic Press, 2019, 457–479, doi: 10.1016/B978-0-12-813820-5.00026-X.

[115] B. Gullón, T. A. Lú-Chau, M. T. Moreira, J. M. Lema, and G. Eibes, "Rutin: A review on extraction, identification and purification methods, biological activities and approaches to enhance its bioavailability," *Trends Food Sci. Technol.*, 67, 220–235, 2017, doi: 10.1016/j.tifs.2017.07.008.

[116] I. Pinzaru, R. Chioibas, I. Marcovici, D. Coricovac, R. Susan, D. Predut, D. Georgescu, and C. Dehelean, "Rutin exerts cytotoxic and senescence-inducing properties in human melanoma cells," *Toxics*, 9, 9, 226, 2021, doi: 10.3390/toxics9090226.

[117] C. Focaccetti, A. Bruno, E. Magnani, D. Bartolini, E. Principi, K. Dallaglio, E. O. Bucci, G. Finzi, F. Sessa, D. M. Noonan, and A. Albini, "Effects of 5-fluorouracil on morphology, cell cycle, proliferation, apoptosis, autophagy and ROS production in endothelial cells and cardiomyocytes," *PLoS One*, 10, p. e0115686, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0115686.

[118] H. S. Mohamed, A. A. Dahy, and R. M. Mahfouz, "Isoconversional approach for non-isothermal decomposition of un-irradiated and photon-irradiated 5-fluorouracil," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 145, 509–516, 2017, doi: 10.1016/j.jpba.2017.05.027.

[119] H. Luo, D. Ji, C. Li, Y. Zhu, G. Xiong, and Y. Wan, "Layered nanohydroxyapatite as a novel nanocarrier for controlled delivery of 5-fluorouracil," *Int. J. Pharm.*, 513, 17–25, 2016, doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.09.004.

[120] M. K. Hazrati, Z. Javanshir, and Z. Bagheri, "B24 N24 fullerene as a carrier for 5-fluorouracil anti-cancer drug delivery: DFT studies," *J. Mol. Graphics Modell.*, 77, 17–24, 2017, doi: 10.1016/j.jmgm.2017.08.003.

[121] K. C. Zatta, L. A. Frank, L. A. Reolon, L. Amaral-Machado, E. S. T. Egito, M. P. D. Gremião, A. R. Pohlmann, and S. S. Guterres, "An inhalable powder formulation based on micro- and nanoparticles containing 5-fluorouracil for the treatment of metastatic melanoma," *Nanomaterials*, 8, 75, 2018, doi: 10.3390/nano8020075.

- [122] N. Sonker, J. Bajpai, and A. K. Bajpai, "Magnetically responsive release of 5-FU from superparamagnetic egg albumin coated iron oxide core-shell nanoparticles," *J. Drug Delivery Sci. Technol.*, 47, 240–253, 2018, doi: 10.1016/j.jddst.2018.07.021.
- [123] L. Zhang, Y. Xing, Q. Gao, X. Sun, D. Zhang, and G. Cao, "Combination of NRP1-mediated iRGD with 5-fluorouracil suppresses proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells," *Biomed. Pharmacother.*, 93, 1136–1143, 2017, doi: 10.1016/j.biopha.2017.06.103.
- [124] R. R. Kayumova, A. V. Sultanbaev, S. S. Ostakhov, S. L. Khursan, M. F. Abdullin, S. K. Gantsev, and D. D. Sakaeva, "The in vivo study of blood 5-fluorouracil content by quenching of intrinsic protein fluorescence," *J. Luminescence*, 192, 424–427, 2017, doi: 10.1016/j.jlumin.2017.07.023.
- [125] M. G. Fuster, G. Carissimi, M. G. Montalbán, and G. Vllora, "Improving anticancer therapy with naringenin-loaded silk fibroin nanoparticles," *Nanomaterials*, 10, 718, 2020, doi: 10.3390/nano1004071.
- [126] I. Fratoddi, I. Venditti, C. Battocchio, L. Carlini, S. Amatori, M. Porchia, F. Tisato, F. Bondino, E. Magnano, M. Pellei, C. Santini, "Highly hydrophilic gold nanoparticles as carrier for anticancer copper(I) complexes: Loading and release studies for biomedical applications," *Nanomaterials*, 9, 772, 2019, doi: 10.3390/nano9050772.
- [127] S. Deng, C.-X. Cui, L. Duan, L. Hu, X. Yang, J.-C. Wang, L.-B. Qu, and Y. Zhang, "Anticancer drug release system based on hollow silica nanocarriers triggered by tumor cellular microenvironments," *ACS Omega*, 6, 553–558, 2021, doi: 10.1021/acsomega.0c05032.
- [128] G. Auriemma, T. Mencherini, P. Russo, M. Stigliani, R. P. Aquino, and P. Del Gaudio, "Prilling for the development of multi-particulate colon drug delivery systems: Pectin vs. pectin–alginate beads," *Carbohydr. Polym.*, 92, 367–373, 2013, doi: 10.1016/j.carbpol.2012.09.056.
- [129] S. A. Galindo-Rodriguez, E. Allemann, H. Fessi, and E. Doelker, "Polymeric nanoparticles for oral delivery of drugs and vaccines: A critical evaluation of in vivo studies," *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, 22, 419–464, 2005, doi: 10.1615/critrevtherdrugcarriersyst.v22.i5.10.

- [130] G. Gaucher, P. Satturwar, M. C. Jones, A. Furtos, and J. C. Leroux, "Polymeric micelles for oral drug delivery," *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 76, 147–158, 2010, doi: 10.1016/j.ejpb.2010.06.007.
- [131] P. C. Ferrari, F. M. Souza, L. Giorgetti, G. F. Oliveira, H. G. Ferraz, M. V. Chaud, and R. C. Evangelista, "Development and in vitro evaluation of coated pellets containing chitosan to potential colonic drug delivery," *Carbohydr. Polym.*, 91, 244–252, 2013, doi: 10.1016/j.carbpol.2012.08.044.
- [132] A. Maroni, M. D. Del Curto, L. Zema, A. Foppoli, A. Gazzaniga, "Film coatings for oral colon delivery," *Int. J. Pharm.*, 457, 372–394, 2013, doi: 10.1016/j.ijpharm.2013.05.043.
- [133] Z. Zhang, L. Zhang, C. Huang, Q. Guo, Y. Zuo, N. Wang, X. Jin, L. Zhang, and D. Zhu, "Gas-generating mesoporous silica nanoparticles with rapid localized drug release for enhanced chemophotothermal tumor therapy," *Biomater. Sci.*, 8, 6754–6763, 2020.
- [134] F. Ye, A. Barrefelt, H. Asem, M. Abedi-Valugerdi, I. El-Serafi, M. Saghafian, K. AbuSalah, S. Alrokayan, M. Muhammed, M. Hassan, "Biodegradable polymeric vesicles containing magnetic nanoparticles, quantum dots and anticancer drugs for drug delivery and imaging," *Biomaterials*, 35, 3885–3894, 2014. <https://doi.org/10.1007/s12274-017-1444-3>
- [135] H. Aghaei, A. A. Nourbakhsh, S. Karbasi, R. JavadKalbasi, M. Rafienia, N. Nourbakhsh, S. Bonakdar, and K. J. D. Mackenzie, "Investigation on bioactivity and cytotoxicity of mesoporous nano-composite MCM-48/hydroxyapatite for ibuprofen drug delivery," *Ceram. Int.*, 40, 7355–7362, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2013.12.079>
- [136] D. Li, X. Huang, Y. Wu, J. Li, W. Cheng, J. He, H. Tian, Y. Huang, "Preparation of pH-responsive mesoporous hydroxyapatite nanoparticles for intracellular controlled release of an anticancer drug," *Biomater. Sci.*, 4, 272–280, 2016. doi: 10.3390/bioengineering4010003
- [137] B. Sahoo, K. S. P. Devi, S. Dutta, T. K. Maiti, P. Pramanik, D. Dhara, "Biocompatible mesoporous silica-coated superparamagnetic manganese ferrite nanoparticles for targeted drug delivery and MR imaging applications," *J. Colloid Interface Sci.*, 431, 31–41, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.06.003>

- [138] L. Meng, X. Zhang, Q. Lu, Z. Fei, P. J. Dyson, "Single walled carbon nanotubes as drug delivery vehicles: Targeting doxorubicin to tumors," *Biomaterials*, 33, 1689–1698, 2012. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.11.004
- [139] A. Kasiński, M. Zielińska-Pisklak, S. Kowalczyk, A. Plichta, A. Zgadzaj, E. Oledzka, and M. Sobczak, "Synthesis and Characterization of New Biodegradable Injectable Thermosensitive Smart Hydrogels for 5-Fluorouracil Delivery," *Int. J. Mol. Sci.*, 22, 8330, 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22158330>
- [140] A. A. H. Abdellatif, A. M. Mohammed, I. Saleem, M. Alsharidah, O. Al Rugaie, F. Ahmed, and S. K. Osman, "Smart Injectable Chitosan Hydrogels Loaded with 5-Fluorouracil for the Treatment of Breast Cancer," *Pharmaceutics*, 14, 661, 2022. DOI: 10.3390/pharmaceutics14030661
- [141] F. Farjadian, M. Moghadam, M. Monfared, and S. Mohammadi-Samani, "Mesoporous silica nanostructure modified with azo gatekeepers for colon targeted delivery of 5-fluorouracil," *AIChE J.*, 68, e17900, 2022. <https://doi.org/10.1002/aic.17900>
- [142] R. M. Giráldez-Pérez, E. Grueso, I. Domínguez, N. Pastor, E. Kuliszewska, R. Prado-Gotor, and F. Requena-Domenech, "Biocompatible DNA/5-Fluorouracil-Gemini Surfactant-Functionalized Gold Nanoparticles as Promising Vectors in Lung Cancer Therapy," *Pharmaceutics*, 13, 423, 2021. DOI: 10.3390/pharmaceutics13030423
- [143] M. Raish, M. A. Kalam, A. Ahmad, M. Shahid, M. A. Ansari, A. Ahad, R. Ali, Y. A. Bin Jordan, A. Alshamsan, M. Alkholief, et al., "Eudragit-Coated Sporopollenin Exine Microcapsules (SEMC) of *Phoenix dactylifera* L. of 5-Fluorouracil for Colon-Specific Drug Delivery," *Pharmaceutics*, 13, 1921, 2021. 10.3390/pharmaceutics13111921
- [144] Z.-Q. Wang, F. Zhang, T. Deng, L. E. Zhang, F. Feng, F.-H. Wang, W. Wang, D.-S. Wang, H.-Y. Luo, R.-H. Xu, et al., "The efficacy and safety of modified FOLFIRINOX as first-line chemotherapy for Chinese patients with metastatic pancreatic cancer," *Cancer Commun.*, 39, 26, 2019. DOI: 10.1186/s40880-019-0367-7
- [145] T. Conroy, P. Hammel, M. Hebbar, M. Ben Abdelghani, A. C. Wei, J.-L. Raoul, L. Choné, E. Francois, P. Artru, J. J. Biagi, et al., "FOLFIRINOX or

gemcitabine as adjuvant therapy for pancreatic cancer," *N. Engl. J. Med.*, 379, 2395–2406, 2018. DOI: 10.1056/NEJMoa1809775

[146] D. B. Longley, D. P. Harkin, and P. G. Johnston, "5-fluorouracil: Mechanisms of action and clinical strategies," *Nat. Rev. Cancer*, 3, 330–338, 2003. <https://doi.org/10.1038/nrc1074>

[147] J. Chen, M. Qiu, S. Zhang, B. Li, D. Li, X. Huang, Z. Qian, J. Zhao, Z. Wang, and D. Tang, "A calcium phosphate drug carrier loading with 5-fluorouracil achieving a synergistic effect for pancreatic cancer therapy," *J. Colloid Interface Sci.*, 605, 263–273, 2022. DOI: 10.1016/j.jcis.2021.07.080

[148] N. Mamidi, R. M. V. Delgadillo, E. V. Barrera, S. Ramakrishna, and N. Annabi, "Carbonaceous nanomaterials incorporated biomaterials: The present and future of the flourishing field," *Compos. B Eng.*, 243, 110150, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2022.110150>

[149] I. Pavel, S. Cota, S. Cînta-Pînzaru, and W. Kiefer, "Raman, Surface Enhanced Raman Spectroscopy, and DFT Calculations: A Powerful Approach for the Identification and Characterization of 5-Fluorouracil Anticarcinogenic Drug Species," *J. Phys. Chem. A*, 109, 9945–9952, 2005, doi: 10.1021/jp053626q.

[150] P. C. Lee and D. Meisel, "Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols," *J. Phys. Chem. A*, 86, 3391–3395, 1982.

[151] R. Howie, 'Selected powder diffraction data for minerals', Swarthmore, Pennsylvania: Joint Committee on Powder Diffraction Standards, 1974, xlvii 833 pp. *Mineral. Mag.*, 40, 209, 1974.

[152] E. E. Coleyshaw, G. Crump, and W. P. Griffith, "Vibrational spectra of the hydrated carbonate minerals ikaite, monohydrocalcite, lansfordite and nesquehonite," *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 59, 2231–2239, 2003. [https://doi.org/10.1016/S1386-1425\(03\)00067-2](https://doi.org/10.1016/S1386-1425(03)00067-2)

[153] B. Mishra, Y. K. Mohanta, C. N. Reddy, S. D. Mohan Reddy, S. K. Mandal, R. Yadavalli, H. Sarma, "Valorization of agro-industrial biowaste to biomaterials: An innovative circular bioeconomy approach," *Circular Economy*, 2, 3, 100050, 2023, ISSN 2773 1677, <https://doi.org/10.1016/j.cec.2023.100050>.

[154] P. Pal, A. K. Singh, R. K. Srivastava, S. S. Rathore, U. K. Sahoo, S. Subudhi, P. K. Sarangi, and P. Prus, "Circular Bioeconomy in Action: Transforming Food

Wastes into Renewable," *Foods*, 13(18), 3007.

<https://doi.org/10.3390/foods13183007>

[155] N. Lyczko, A. Nzihou, P. Sharrok, "Calcium Phosphate Sorbent for Environmental Application," *Procedia Engineering*, 83, 423–431, 2014.

<https://doi.org/10.1016/j.proeng.2014.09.051>

[156] E. A. B. da Silva, C. A. E. Costa, V. J. P. Vilar, et al., "Water Remediation Using Calcium Phosphate Derived From Marine Residues," *Water Air Soil Pollut*, 223, 989–1003, 2012, <https://doi.org/10.1007/s11270-011-0918-2>.

[157] Z. Amjad, ed., *Calcium phosphates in biological and industrial systems*, Springer Science & Business Media, 2013.

[158] J. Enax, F. Meyer, E. Schulze zur Wiesche, and M. Epple, "On the Application of Calcium Phosphate Micro- and Nanoparticles as Food Additive," *Nanomaterials*, 12, 4075, 2022, <https://doi.org/10.3390/nano12224075>.

[159] N. Laohavisuti, B. Boonchom, W. Boonmee, et al., "Simple recycling of biowaste eggshells to various calcium phosphates for specific industries," *Sci. Rep.*, 11, 15143, 2021, <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94643-1>.

[160] G. Fellet, L. Pilotto, L. Marchiol, and E. Braidot, "Tools for Nano-Enabled Agriculture: Fertilizers Based on Calcium Phosphate, Silicon, and Chitosan Nanostructures," *Agronomy*, 11, 1239, 2021, doi: 10.3390/agronomy11061239.

[161] F. J. Carmona, A. Guagliardi, and N. Masciocchi, "Nanosized Calcium Phosphates as Novel Macronutrient Nano-Fertilizers," *Nanomaterials*, 12, 2709, 2022, doi: 10.3390/nano1215270.

[162] J. J. Weeks, Jr. and G. M. Hettiarachchi, "A Review of the Latest in Phosphorus Fertilizer Technology: Possibilities and Pragmatism," *J. Environ. Qual.*, 48, 1300-1313, 2019, doi: 10.2134/jeq2019.02.0067.

[163] X. Hou, L. Zhang, Z. Zhou, X. Luo, T. Wang, X. Zhao, B. Lu, F. Chen, and L. Zheng, "Calcium Phosphate-Based Biomaterials for Bone Repair," *J. Funct. Biomater.*, 13, 187, 2022, doi: 10.3390/jfb13040187.

[164] X. Chen, H. Li, Y. Ma, and Y. Jiang, "Calcium Phosphate-Based Nanomaterials: Preparation, Multifunction, and Application for Bone Tissue Engineering," *Molecules*, 28, 4790, 2023, doi: 10.3390/molecules28124790.

- [165] R. Albulescu, A.-C. Popa, A.-M. Enciu, L. Albulescu, M. Dudau, I. D. Popescu, S. Mihai, E. Codrici, S. Pop, A.-R. Lupu, et al., "Comprehensive In Vitro Testing of Calcium Phosphate-Based Bioceramics with Orthopedic and Dentistry Applications," *Materials*, 12, 3704, 2019, doi: 10.3390/ma12223704.
- [166] A. Das, S. Ghosh, T. Ringu, et al., "A Focus on Biomaterials Based on Calcium Phosphate Nanoparticles: an Indispensable Tool for Emerging Biomedical Applications," *BioNanoSci.*, 13, 795–818, 2023, doi: 10.1007/s12668-023-01081-6.
- [167] S. V. Dorozhkin, "Synthetic Amorphous Calcium Phosphates (ACPs): Preparation, Structure, Properties, and Biomedical Applications," DOI: 10.1039/D1BM01239H, 2021.
- [168] S. R. Dutta, D. Passi, P. Singh, et al., "Ceramic and Non-Ceramic Hydroxyapatite as a Bone Graft Material: A Brief Review," *Ir. J. Med. Sci.*, vol. 184, 101–106, 2015, doi: 10.1007/s11845-014-1199-8.
- [169] V. S. Kattimani, S. Kondaka, and K. P. Lingamaneni, "Hydroxyapatite–Past, Present, and Future in Bone Regeneration," *Bone and Tissue Regeneration Insights*, 7, 2016, doi: 10.4137/BTRI.S36138.
- [170] T. Tanaka, H. Komaki, M. Chazono, S. Kitasato, A. Kakuta, S. Akiyama, and K. Marumo, "Basic Research and Clinical Application of Beta-Tricalcium Phosphate (β -TCP)," *Morphologie*, 101, 334, 164–172, 2017, doi: 10.1016/j.morpho.2017.03.002.
- [171] H. Lu, Y. Zhou, Y. Ma, L. Xiao, W. Ji, Y. Zhang, and X. Wang, "Current Application of Beta-Tricalcium Phosphate in Bone Repair and Its Mechanism to Regulate Osteogenesis," *Front. Mater.*, 8, 2021.
- [172] A. G. Imaniyyah, S. Sunarso, and E. Herda, "Monetite as a Potential Ideal Bone Substitute: A Short Review on Fabrication and Properties," *Mater. Today: Proc.*, 66, 5, 2762–2766, 2022, doi: 10.1016/j.matpr.2022.06.511.
- [173] S. Batool, U. Liaqat, B. Babar, et al., "Bone Whitlockite: Synthesis, Applications, and Future Prospects," *J. Korean Ceram. Soc.*, 58, 530–547, 2021, doi: 10.1007/s43207-021-00120-w.
- [174] L. Ćurković, I. Žmak, S. Kurajica, M. E. Tonković, Z. Šokčević, M. M. Renjo, *Mat.-wiss. u. Werkstofftech.*, 48, 797, 2017.

- [175] I. K. Hariscandra Dinatha, A. H. Diputra, J. Partini, H. Wihadmadyatami, and Y. Yusuf, "3D Pure Bioceramic Scaffold from Biogenic Sand Lobster (*Panulirus homarus*) Shell Waste for Enhancing In Vitro Cell Osteogenic Differentiation," *Ceramics Int.*, 2024, doi: 10.1016/j.ceramint.2024.12.536.
- [176] M. A. Irfa'i, S. Muryanto, A. Prihanto, Y. M. Pusparizkita, R. Ismail, J. Jamari, A. P. Bayuseno, and P. L. Show, "Microwave-Assisted Hydrothermal Synthesis of Carbonated Apatite with Calcium and Phosphate Resources Derived from Green Mussel Shell and Bovine Bone Wastes," *Environ. Adv.*, 17, 100582, 2024, doi: 10.1016/j.envadv.2024.100582.
- [177] S. J. Lee and S. H. Oh, "Fabrication of Calcium Phosphate Bioceramics by Using Eggshell and Phosphoric Acid," *Mater. Lett.*, 57, 29, 4570–4574, 2003.
- [178] I. Raya, E. Mayasari, A. Yahya, M. Syahrul, M. Latunra, and A. Ilham, "Synthesis and Characterizations of Calcium Hydroxyapatite Derived from Crabs Shells (*Portunus pelagicus*) and Its Potency in Safeguard Against Dental Demineralizations," *Int. J. Biomaterials*, 2015, 469176, 2015, doi: 10.1155/2015/469176.
- [179] F. Nekvapil, A. Stegarescu, I. Lung, R. Hirian, D. Cosma, E. Levei, and M.-L. Soran, "A Novel Nanoporous Adsorbent for Pesticides Obtained from Biogenic Calcium Carbonate Derived from Waste Crab Shells," *Nanomaterials*, 13, 3042, 2023, doi: 10.3390/nano13233042.
- [180] R. L. Frost, Y. Xi, R. E. Pogson, G. J. Millar, K. Tan, and S. J. Palmer, "Raman Spectroscopy of Synthetic $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – and in Comparison with the Cave Mineral Brushite," *J. Raman Spectrosc.*, 43, 571–576, 2012, doi: 10.1002/jrs.3063.
- [181] F. Casciani and R. A. Condrate, "The Raman spectrum of monetite, CaHPO_4 ," *J. Solid State Chem.*, 34, 3, 385-388, 1980, doi: 10.1016/0022-4596(80)90439-9.
- [182] P. E. Timchenko, et al., "J. Phys.: Conf. Ser. 784 012060," *J. Phys.: Conf. Ser.*, 784, p. 012060, 2017.
- [183] S. Zhai, X. Wu, and W. Xue, "Pressure-dependent Raman spectra of β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ whitlockite," *Phys. Chem. Minerals*, 42, 303–308, 2015, doi: 10.1007/s00269-014-0720-y.

- [184] A. Engin and İ. Girgin, "Synthesis of hydroxyapatite by using calcium carbonate and phosphoric acid in various water-ethanol solvent systems," *Open Chem.*, 7, 4, 745-751, 2009, doi: 10.2478/s11532-009-0063-6.
- [185] D. Pham Minh, S. Rio, P. Sharrock, et al., "Hydroxyapatite starting from calcium carbonate and orthophosphoric acid: synthesis, characterization, and applications," *J. Mater. Sci.*, 49, 4261–4269, 2014, doi: 10.1007/s10853-014-8121-7.
- [186] D. Pham Minh, M. Galera Martínez, A. Nzihou, et al., "Thermal behavior of apatitic calcium phosphates synthesized from calcium carbonate and orthophosphoric acid or potassium dihydrogen orthophosphate," *J. Therm. Anal. Calorim.*, 112, 1145–1155, 2013, doi: 10.1007/s10973-012-2695-6.