

Raport științific sintetic intermediar
privind implementarea proiectului "Investigarea fundamentală și holistică a fracțiunilor materiei organice dizolvate în vederea dezvoltării unei metode inovative de semnalare" în perioada octombrie 2011 – decembrie 2013

Cod proiect: PN-II-RU-TE-2011-3-0077

1. Introducere

În ultimele decenii, s-au dezvoltat tehnici din ce în ce mai avansate pentru caracterizarea calității apei și a componentei prezente în toate sistemele acvatice: materia organică dizolvată (engl. Dissolved organic matter, DOM) [1, 2]. O tehnică nouă, spectroscopia de fluorescență, care a fost aplicată cu succes în biologie, medicină sau chimie, a devenit o abordare promițătoare pentru evaluarea compușilor organici acvatici și a poluanților organici, datorită rapidității și sensibilității de analiză. Spectroscopia de fluorescență, sub formă de matrice de excitație – emisie (engl. Excitation-emission matrix, EEM), poate fi folosită pentru a determina concentrația și compoziția DOM. Din cadrul amestecului heterogen al DOM, doar proteinele și substanțele humice sunt studiate, în general, prin fluorescență. Fluorescența proteinelor este dată de aminoacizii aromatici: fenilalanină, tirozină și triptofan, indicând activitatea bacteriană din apă [3, 4]. Fluorescența substanțelor humice indică degradarea plantelor și animalelor prin procese biologice și chimice în mediile terestre și acvatice [5-7].

În ciuda aplicării frecvente a fluorescenței la analiza calității apei, în ultimii 10 ani, doar câteva studii s-au axat pe monitorizarea continuă și *in-situ*, din cauza lipsei aparatelor necesare. Puțini cercetători [8-10] au aplicat spectroscopia de fluorescență pentru monitorizarea sistemelor acvatice, dar studiile lor au fost limitate de utilizarea unui fluorimetru cu o lungime de undă fixă, evaluând numai componenta atribuită substanțelor humice. De asemenea, studiile au fost limitate de analiza la o frecvență redusă sau analiza pe un singur sistem acvatic. De aceea, scopul final al acestui proiect este de a caracteriza atât componenta microbiană cât și cea humică, utilizând monitorizarea prin fluorescență, la frecvență mare și de a stabili un protocol optim de monitorizare.

2. Obiectivul proiectului

Obiectivul proiectului este de a dezvolta o metodă inovativă pentru monitorizarea calității apelor de suprafață folosind spectroscopia de fluorescență, care va permite investigarea fundamentală a caracteristicilor și concentrației DOM și va facilita înțelegerea proceselor din ecosistemele acvatice. *În acest sens, s-a întocmit o bază de date pentru a stabili amprentele spectrale ale sistemelor naturale și contaminate, s-a realizat un protocol de monitorizare continuă a sistemelor acvatice și s-a identificat metoda optimă de procesare a datelor rezultate în urma monitorizării continue.*

3. Etape și activități

3.1 Etapa 1 - Identificarea amprentelor spectrale ale materiei organice din diferite sisteme acvatice (05.10.2011 - 15.12.2011)

În vederea identificării și monitorizării poluării, într-un sistem acvatic, este necesară stabilirea caracteristicilor naturale ale apei, cantitatea și calitatea DOM și proporțiile relative ale compușilor microbieni și terestri. Aceste caracteristici pot fi obținute prin identificarea amprente de fluorescență, specifică fiecărui tip de sistem acvatic. De asemenea, este necesară identificarea amprente spectrale corespunzătoare polunților acvatici principali pentru a putea determina, cu ușurință, tipul și gradul de contaminare și pentru ca, în urma monitorizării, autoritățile să acționeze rapid și eficient în vederea remedierii.

3.1.1 Realizarea unei baze de date cu spectre de fluorescență pentru diferite sisteme acvatice

Prima activitate a fazei a avut în vedere întocmirea unei baze de date cu matrici de fluorescență pentru probe colectate din diverse sisteme acvatice de apă dulce (canal, iaz, lac, râu montan, râu urban, râu rural). De asemenea, s-au introdus în baza de date spectre de fluorescență pentru probe din sisteme acvatice afectate de contaminanți majori, precum ape uzate industriale și menajere, dar și probe din ape pluviale, care au un impact major asupra calității apei în care se deversează.

Fluorescența DOM prezintă 5 maxime majore, denumite A, C, M, B și T, nomenclatură introdusă de Coble [1] pentru identificarea zonelor corespunzătoare compușilor DOM din EEM. Astfel, maximele T și B indică activitatea microbiană, triptofan și respectiv tirozină [11] și se corelează cu consumul biochimic de oxigen [12]. Maximele C și M sunt asociate substanțelor humice reprocesate chimic și microbial, în timp ce maximumul A arată o sursă terestră primară [13]. Perechile de lungimi de undă excitație / emisie sunt specifice fiecărei fracțiuni: T₁ și T₂ pentru triptofan ($\lambda_{excitație} / \lambda_{emisie} \sim 225 / \sim 350 \text{ nm}$ - T₁, $\lambda_{excitație} / \lambda_{emisie} \sim 280 / \sim 350 \text{ nm}$ - T₂), B pentru tirozină ($\lambda_{excitație} / \lambda_{emisie} \sim 225 / \sim 305 \text{ nm}$), A și C pentru substanțele humice ($\lambda_{excitație} / \lambda_{emisie} \sim 225 / 400 - 500 \text{ nm}$ - A, $\lambda_{excitație} / \lambda_{emisie} 300 - 350 / 400 - 500 \text{ nm}$ - C) și M pentru DOM reprocesat ($\lambda_{excitație} / \lambda_{emisie} 310 - 320 / 380 - 420 \text{ nm}$). În Fig. 1 sunt prezentate o parte din matricile incluse în baza de date și anume râu montan, râu urban, canal (artificial), râu rural, iaz, lac, ape pluviale, ape menajere și apă cu motorină. Spectrele de fluorescență pentru aceste tipuri de apă au prezentat caracteristici distincte pentru fiecare probă, prin formă și intensitate, corespunzând fluoroforilor tipici.

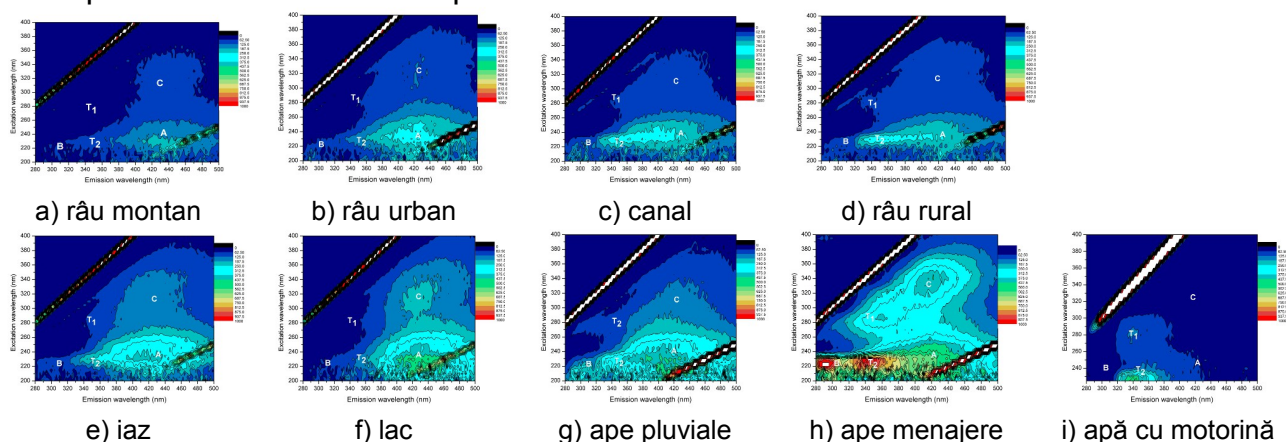


Fig. 1. Matrici de fluorescență pentru diverse sisteme acvatice (A și C substanțe humice; B – tirozină, T₁ și T₂ – triptofan).

3.1.2 Analiza indicatorilor spectrali

Caracteristicile materiei organice pot fi studiate mult mai riguros prin calculul proporțiilor relative dintre fracțiunile microbiene și terestre, din sistemele acvatice, folosind indici de fluorescență [14, 15]: indice de humificare (engl. Humification index, HIX), indice biologic (engl. Biological index, BIX) și indicele F_{450}/F_{500} . Indicii HIX și BIX pot fi utilizați ca o abordare complementară pentru studiul caracterului materiei organice și pentru identificarea amprente spectrale a fiecărui sistem acvatic. Indicele F_{450}/F_{500} a oferit informații nesemnificative comparativ cu HIX și BIX. Cel mai bun rezultat a fost obținut pentru proba prelevată din ape menajere, la care indicele F_{450}/F_{500} a indicat originea microbiană a materiei organice, în timp ce pentru alte probe a dat rezultate neconcludente.

Pentru o identificare eficientă a amprentelor de fluorescență ale diverselor tipuri de sisteme acvatice, cu caracteristici similare sau diferite s-a realizat o evaluare și comparație a parametrilor de fluorescență. Indicii de humificare sau biologici au fost foarte eficienți în a diferenția între tipurile de apă, împărțindu-le în patru categorii: *râurile montane și lacurile* – care conțin materie organică puternic humificată; *râurile urbane, iazurile și apele pluviale* – prezintă grad de humificare mare dar și componentă microbiană; *râurile rurale și canalul navigabil* – conțin fracțiune microbiană mare și cantități scăzute de componentă terestră; *apele menajere* – conțin fracțiune microbiană semnificativă și cantități scăzute de componentă terestră.

3.2 Etapa 2 - Evaluarea holistică a componentelor acvatice (15.12.2011 - 15.12.2012)

Obiectivul acestei faze a fost de a evalua, la scala diurnă, componentele DOM din sistemele acvatice, precum și poluanții de natură petrolieră, care interferează cu semnalul de fluorescență al DOM. Pentru a atinge scopul fazei, au fost monitorizate 2 sisteme acvatice: un sistem natural urban și sistem antropic, folosind un montaj experimental conceput cu acest scop. Pe baza experimentelor de monitorizare, au fost analizate atât specificitățile de fluorescență ale componentelor DOM, cât și versatilitatea metodei și impactul unor factori care pot afecta spectrele de fluorescență.

3.2.1 Definirea protocolului experimental

Au fost alese două sisteme acvatice diferite, un râu urban și un canal artificial, asupra cărora s-au realizat experimente de monitorizare continuă, prin fluorescență, utilizând montajul experimental din Fig.2. Fluorimetrul, amplasat într-o stație laborator, este conectat la o fibră optică inserată într-un recipient de colectare. Apa este extrasă din sistemul acvatic prin tuburi de plastic, folosind o pompă cu vid, care trimite apa către recipientul de colectare. Recipientul are 2 orificii (intrare - ieșire), pentru a putea permite recircularea apei. Intervalul de măsurare trebuie să fie de cel puțin 30 min, în vederea identificării rapide a unor contaminări accidentale, și maxim 3 min, pentru a evita încărcarea cu date a computerului și suprasolicitarea fluorimetrului.

3.2.2 Evaluarea factorilor care afectează spectrele de fluorescență

Semnalul de fluorescență este puternic afectat de temperatura, compoziția, concentrația și pH-ul soluției. În general, cel mai important factor care afectează fluorescența probelor de apă este temperatura. Intensitatea fluorescenței scade odată cu creșterea temperaturii, iar studiul realizat de Baker [16] arată că la o descreștere a temperaturii de la 45° C la 10° C intensitatea fluorescenței DOM crește cu ~48 %. Totuși, în cazul unei monitorizări în timp real prin fluorescență, temperatura apei poate scădea, iarna, sub 10° C. De aceea, pentru aceasta fază, s-a evaluat modificarea intensității fluorescenței materiei organice prin varierea temperaturii de la 20° C la 0° C. S-a observat o creștere a intensității fluorescenței triptofanului și a substanțelor humice, în procente diferite (până la 47 % și, respectiv, 25 %) în funcție de tipul de probă analizat. Pentru corecția spectrelor, se realizează o curbă de calibrare la mai multe temperaturi și se folosește ecuația dată de Watras și alții [17]. Un alt factor care afectează fluorescența este efectul de auto absorbție (engl. Inner filter effect, IFE). IFE reprezintă o scădere a eficienței cuantice și o deformare a formei benzii în urma absorbției radiației de excitație și emisie de către compușii din proba [18]. Acest fapt induce un fenomen de deplasare spre roșu a fluorescenței în funcție de concentrație, care este observat la sistemele multifluoroforice [19]. Varianta optimă pentru eliminarea IFE din spectrele obținute în timp real este prin algoritmi PARAFAC (engl. Parallel factor analysis), dar se poate utiliza și metoda simplă a diluției. De asemenea, valoarea pH-ului probei afectează fluorescența unui fluorofor. Intensitatea fluorescenței DOM crește odată cu creșterea pH-ului până la valoarea 10 [20]. În general, nu este indicată alterarea pH-ului unei probe, însă trebuie să se acorde atenție deosebită asupra valorii pH-ului, iar spectrele trebuie corectate [21].

Acești factori apar, în general, la probele foarte poluate, care implică o concentrație mare a contaminantului, iar în acest caz se recomandă măsurarea absorbției pentru a verifica apariția IFE. De asemenea, se recomandă măsurarea pH-ului și a temperaturii probei, unde este posibil, iar spectrele trebuie corectate dacă valorile parametrilor menționați depășesc pragul normal. Nu este necesară corecția spectrelor, dacă temperatura probei este între 20° C și 25° C, pH-ul între 6 și 8 sau absorbția prezintă o valoare sub 0,1 la 300 nm. În cazul monitorizării din studiul prezent, cele 2 sisteme acvatice au prezentat parametri cu valori care nu au depășit pragul limită, nefiind necesară corecția spectrelor.

3.2.3 Monitorizarea continuă prin spectroscopia de fluorescență

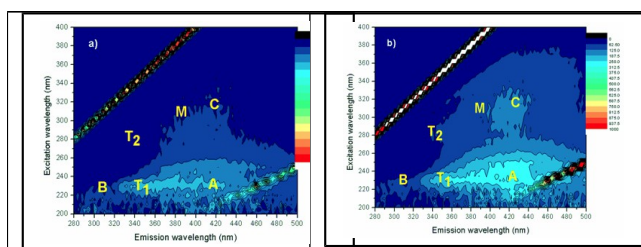


Fig. 3 Matrici de excitație – emisie pentru probe de apă din (a) canalul artificial și (b) râul urban. T_1 și T_2 - triptofan, B - tirozină, A și C - substanțele humice, M - DOM reprocesat.

spectrală și raportul între componente și prin comportamentul diurn al materiei organice. Matricile aparținând probelor din râul urban sunt caracterizate de cantități mari de materie humică, în timp ce probele din canalul artificial au prezentat o fracțiune microbiană mare

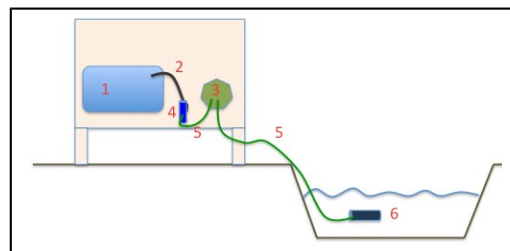


Fig. 2. Montajul experimental:
1 – spectrofluorimetru, 2 – fibra optică,
3 – pompă cu vid, 4 – recipient colectare
probă, 5 – tub plastic, 6 – cilindru cu
sită.

(Fig. 3).

Calitatea apei din râul urban este influențată foarte puternic de precipitații, care cresc cantitatea DOM, în principal, prin aportul de ape pluviale. Nu s-a observat un impact al precipitațiilor asupra probelor de apă din canal, deși s-au înregistrat cantități similare de precipitații în perioada de monitorizare. Conform Swanson și alții [22], datorită vitezei de curgere de ape foarte scăzute și a dispersiei încete din cadrul canalelor, în comparație cu râurile, aportul de ape pluviale determină predominanța nutrienților, asigurând un flux continuu de nutrienți, pe coloana de apă, promovând eutrofizarea. În aceste condiții, apa canalelor prezintă o activitate continuă de procesare a materiei organice, spre deosebire de râuri unde DOM este reprocesat imediat [23]. Aceste diferențe sunt observate în spectrele de fluorescență, prin prezența unei intensități mai mari de fluorescență a maximului T_1 la probele din canal, în comparație cu probele din râu. Procesarea constantă a materiei organice și cantitățile mari de nutrienți conduc la un semnal de fluorescență a maximului T de intensitate mare și invariabil, în cazul spectrelor din canal, în timp ce spectrele probelor din râu prezintă variabilitate mare.

Un sistem acvatic tipic prezintă maxime de fluorescență corespunzătoare fracțiunilor DOM principale, humică și proteică. În cazul contaminării cu ape menajere, intensitatea fluorescenței componente proteice crește proporțional cu cantitatea contaminantului, iar în cazul unui aport mare de ape pluviale sau a unor activități geologice maxime de fluorescență ale componente humice cresc în intensitate. Astfel, identificarea tipului de contaminant este facilă, fiecare prezentând fluorescență într-o zonă diferită din EEM. Însa, contaminarea cu produse petroliere produce o amprentă spectrală mult mai complexă și greu de analizat. Mai mult, fluorescența anumitor produse petroliere se suprapune cu fluorescența componente proteice. De aceea, este foarte important să se evalueze fluorescența tipurilor principale de produse petroliere. În acest sens, s-a monitorizat o poluare accidentală cu motorină a unui râu urban, pe o perioadă de 5 zile. Din EEM, s-au identificat două maxime dominante, aparținând contaminării cu motorină, cu $\lambda_{\text{excitație}} = 235$ nm și 275 nm și cu $\lambda_{\text{emisie}} = 340$ nm. După 5 zile de la contaminare, maximele de fluorescență au scăzut în intensitate cu ~80 % de la cea mai mare valoare înregistrată.

Fluorescența produselor petroliere este dată de un grup de fluorofori intrinseci, denumiți hidrocarburi aromatice, care prezintă maxime de fluorescență la diferite lungimi de undă de emisie în funcție de numărul de inele aromatice pe care îl conțin. Astfel, cu cât numărul de inele aromatice este mai mare, cu atât lungimea de undă de emisie este mai mare [24, 25]. În cazul acestui studiu, maximele aparțin compușilor cu 2 (naftalină) și 3 (fenantrenă și antracenă) inele aromatice. Această informație este foarte importantă deoarece indică persistența și toxicitatea poluantului în mediu. În timpul monitorizării, la 1 zi de la monitorizare, s-a observat o scădere bruscă a intensității fluorescenței, ceea ce confirmă prezența hidrocarburilor cu masă moleculară mică (naftalina, fenantrena și antracena). Pentru evaluarea tipului de combustibil și estimarea cantității, s-au analizat, în laborator, 2 probe de motorină și benzină, disponibile pe piață. Spectrele de fluorescență ale acestor probe prezintă maxime de fluorescență diferite, cu privire la poziția și forma acestora. Spectrul benzinei prezintă un maxim mare în domeniul $\lambda_{\text{excitație/emisie}} = 340 - 380$ nm / 380 - 430 nm, în timp ce spectrul motorinei are două maxime mici la $\lambda_{\text{excitație/emisie}} = 305$ nm / 340 nm și 330 nm / 380 nm. Pe baza acestor caracteristici, e posibilă distingerea între combustibili prin amprente de fluorescență ale acestora.

3.3 Etapa 3 - Determinarea metodei optime de analiză a spectrelor de fluorescență (15.12.2012 - 15.12.2013)

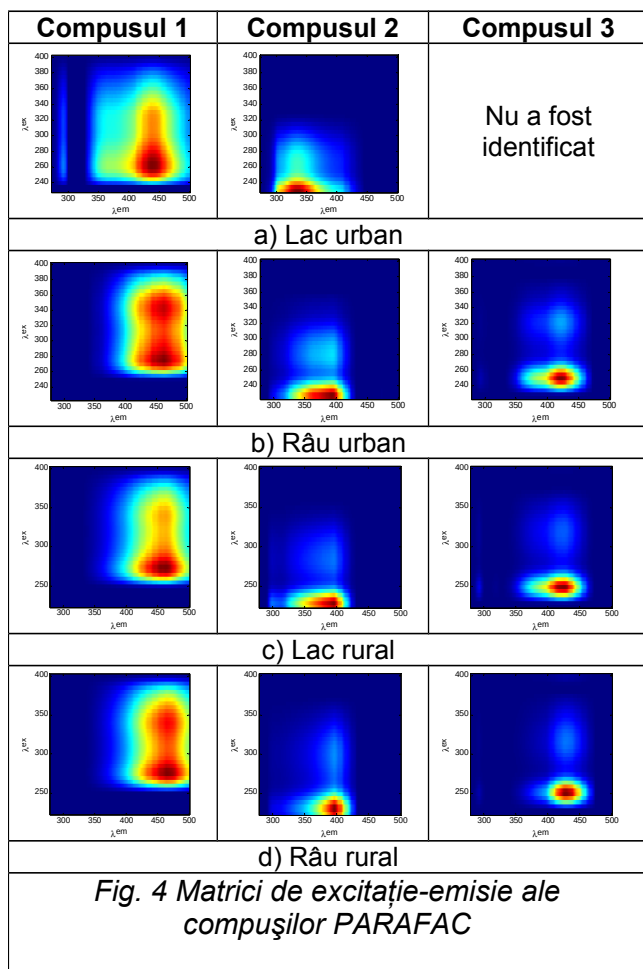
Obiectivul acestei faze a fost de a determina metoda optimă de procesare a datelor pentru a facilita resunoașterea tiparelor din spectrele de fluorescență și de a identifica proprietățile spectrale relevante din sistemele acvatice de suprafață. Setul de date enorm generat prin monitorizarea continuă poate îngreuna procesul analitic, fiind necesare

metode statistice robuste pentru a asigura interpretarea corectă a datelor. Astfel, s-au verificat metodele aplicate frecvent în analiza spectrelor de fluorescență pentru a obține informații cât mai utile.

3.3.1 Compararea metodelor de analiză a spectrelor de fluorescență

Metodele utilizate pentru interpretarea matricilor de fluorescență variază de la cele simple, precum metoda “peak-picking” (identificarea valorii maxime dintr-un anumit domeniu de lungimi de undă), până la metode mai complexe care analizează domenii întregi de lungimi de undă, ca de exemplu analiza componentelor principale, analiza PARAFAC și hărțile auto-organizate. Cea mai utilizată metodă, “peak-picking”, a fost introdusă de Coble [1] pentru identificarea maximelor de fluorescență atribuite substanțelor humice și proteinelor (Fig. 4). Această metodă a fost aplicată în studiile realizate în etapele anterioare. Tehnica prezintă următoarele avantaje: permite evaluarea rapidă și de ansamblu a proprietăților spectrale ale materiei organice din probele de apă; nu necesită pre-procesarea matricei de fluorescență înaintea analizei; nu necesită programe sofisticate pentru analiză; poate fi aplicată fără o instruire complexă prealabilă a utilizatorului. Cu toate acestea, tehnica este dificil de utilizat pentru interpretarea unor seturi de date mari, presupunând analiza individuală a fiecărei matrice. De aceea, s-au dezvoltat metode complexe pentru a rezolva această problemă. Dintre aceste tehnici, cea mai utilizată este PARAFAC, care împreună cu fluorescența, reprezintă o metodă foarte utilă în a separa diferiți fluorofori și a detecta amprenta de fluorescență a DOM și a poluanților organici [26, 27]. Printre avantajele acestei metode se pot enumera: analiza rapidă a unui număr mare de matrice; separarea eficientă a fracțiunilor DOM; îndepărtarea zgomotului și împrăștierei din EEM; corecția EEM în cazul apariției IFE; permite evaluarea statistică a compușilor prezenți în probele de apă. De asemenea, PARAFAC prezintă și dezavantaje precum: necesită un număr de peste 20 EEM pentru o analiză corectă; presupune utilizarea programului Matlab, care este costisitor; necesită instruire prealabilă asupra pachetelor PARAFAC; utilizatorul trebuie să aleagă un număr estimativ de compuși. Însă, studiile actuale se concentrează pe optimizarea tehnicii PARAFAC pentru o evaluare rapidă și eficientă a matricilor de fluorescență. Pentru aceasta este necesar să se analizeze capacitatea metodei de a separa DOM provenit din diverse tipuri de apă prin identificarea compușilor specifici și evaluarea formei spectrale.

3.3.2 Aplicarea metodei optime de identificare a informației necesare



În vederea testării tehnicii PARAFAC s-au prelevat probe de apă din: râuri (urban și rural) și lacuri (urban și rural). Ambele râuri sunt sisteme naturale cu adâncimi de aproximativ 13 cm. Lacul urban este un sistem artificial închis, în timp ce lacul rural este natural și colectează apele râului rural. Apele pluviale reprezintă sursele potențiale principale de poluare, la toate sistemele acvatic. Probele au fost colectate de la suprafața fiecărui sistem și măsurate în maxim 24 h. Matricile de fluorescență au fost înregistrate cu spectrofluorimetrul Edinburgh Instruments FLS920, utilizând următorii parametri: domeniul de excitație 230 – 400 nm, pas de 5 nm, domeniul de emisie 250 - 500 nm, cu pas de 2 nm, fantele de excitație și emisie 4 nm și timp de integrare 0,200 sec. Înainte de realizarea fiecărui set de măsurători, s-a înregistrat maximul Raman al apei pentru a verifica stabilitatea instrumentului.

Analiza PARAFAC a fost efectuată utilizând pachetul DOMFluor și Matlab 2011 pe un set de date de 20 până la 30 de EEM pentru fiecare sistem analizat. Metoda PARAFAC folosită în acest studiu este bazată pe cea dezvoltată de Mounier et al. [28]. Analiza PARAFAC, bazată pe matricile de fluorescență, a identificat 3 compuși principali, după cum este prezentat în Tabelul 1 și Fig. 4, un compus fiind asociat cu materia microbiană și 2 compuși cu materia humică.

Compusul 1 (C1) a indicat prezența fracțiunilor de DOM reprocessat microbian și terestru, echivalent cu maximele A și C din metoda peak-picking, conform studiilor precedente [29-31]. Ishii și Boyer [13] și Ghervase et al. [32] au raportat că acest tip de compus poate fi găsit în diverse sisteme marine și terestre, are caracter hidrofob redus și dimensiune moleculară mică. Acest compus a fost detectat la toate probele de lacuri și râuri, indicând faptul că substanțele humice reprocessate microbian reprezintă fracțiunea dominantă a DOM. Diferența dintre cele două tipuri de probe a fost observată la forma matricilor (Fig. 4). Cel de-al doilea maxim de fluorescență al C1, cu lungime de undă de excitație la ~335 nm, a prezentat o bandă de emisie mai mare și mai intensă la probele de râu, în comparație cu probele de lac. Mai mult, C1 a prezentat o lungime de undă de emisie mai mică la lacul urban, sugerând un caracter mai puțin aromatic și mai hidrofil, comparativ cu celelalte probe. Cârstea et al. [33] au găsit un compus hidrofil al DOM la sistemele lacustre închise, identificat prin lungimea de undă mică a maximului C. Cercetătorii au sugerat că la sistemele închise, maximul C, care indică DOM reprocessat microbian, a rezultat în urma unei încărcături bacteriene mari.

Tabelul 1. Compuși PARAFAC, asocierea surselor și corespondența cu metoda peak-picking pentru fiecare sistem acvatic.

Probe	Compuși (C) identificați în	Lungime de undă de	Lungime de undă de	Asociere sursă	Corespondență peak-
-------	-----------------------------	--------------------	--------------------	----------------	---------------------

	acest studiu	excitație (nm)	emisie (nm)		picking *
Lac urban	C1	265, 330	445	Substanțe humice reprocesate microbial și terestru	A și C
	C2	< 240, 270	335	Triptofan	T
Râu urban	C1	275, 340	460	Substanțe humice reprocesate microbial și terestru	A și C
	C2	< 240, 280	390	Triptofan	T
	C3	250, 320	420	Substanțe humice reprocesate chimic și terestru	A și M
Lac rural	C1	275, 335	460	Substanțe humice reprocesate microbial și terestru	A și C
	C2	< 240, 280	395	Triptofan	T
	C3	250, 320	420	Substanțe humice reprocesate chimic și terestru	A și M
Râu rural	C1	275, 340	460	Substanțe humice reprocesate microbial și terestru	A și C
	C2	< 240, 290	395	Triptofan	T
	C3	250, 320	425	Substanțe humice reprocesate chimic și terestru	A și M

*Pe baza nomenclaturii dată de Coble [1] și corelarea cu studiile realizate de [13, 29, 30, 34-36].

Încărcătura bacteriană este dată de compusul 2 (C2), care a fost corelat cu fracțiunea proteică a DOM, mai exact cu triptofan, pe baza rezultatelor obținute în studii precedente [29-31, 34-36]. Acest compus a fost găsit în toate tipurile de probe, din acest studiu. Râurile urbane și rurale și lacul rural au prezentat, pentru C2, o lungime de undă de emisie la 395 nm și o formă spectrală similară. Spre deosebire de aceste probe, lacul urban a prezentat o lungime de undă de emisie a C2, la ~335 nm. S-a obținut o lungime de undă similară în studii realizate pe probe de lac [30, 35, 36] și într-un studiu realizat pe probe de râu [31]. Aceste rezultate au indicat faptul că lungimea de undă de emisie mică a C2 poate fi caracteristică lacurilor. Conform studiilor realizate de Cârstea et al. [33] și Ghervase et al. [32], sistemele lacustre închise au fost caracterizate de o acumulare a încărcăturii bacteriene cauzate de eliberarea necontrolată a deșeurilor menajere, apelor pluviale și deșeurilor de la păsări. Cârstea et al. [33] au sugerat că, în special, deșeurile de la păsări, produc un semnal specific tirozinei, componentă a fracțiunii proteice la lungimea de undă de emisie de ~310 nm. Astfel, lungimea de undă de emisie a C2 ar putea fi atribuită prezenței deșeurilor de la păsări, adică unei cantități mari de materie proteică. În consecință, probele cu conținut proteic mare ar prezenta un C2 deplasat către lungimi de undă de emisie mai mici, între 300 și 350 nm, în timp ce probele cu un caracter humic puternic ar prezenta un C2 cu o lungime de undă de emisie apropiată de 400 nm.

Compusul 3 (C3) a fost asociat cu DOM reprocesat chimic și terestru, corespunzând maximelor A și M, pe baza studiilor precedente [31, 35]. Conform studiului realizat de Ishii și Boyer [13] acest tip de compus ar putea fi găsit într-o varietate de sisteme, inclusiv cele dominate de aport terestru. În plus, s-a demonstrat că C3 are caracter hidrofob crescut și are o dimensiune moleculară mai mare față de C1. C3 a fost observat la toate tipurile de probe cu excepția lacului urban. Spectrele lacului urban conțin probabil, o combinație a semnalului de fluorescență de intensitate mare a C1 și semnalul de intensitate mică a C3, de aceea C3 nu a putut fi identificat prin PARAFAC. Probele de lac rural au indicat prezența C3 datorită, posibil, aportului de DOM terestru de la râul rural. Acest fapt a fost

observat și de Zhang et al. [30], Wang et al. [35] și Borisover et al. [36], în studii pe probe de lacuri cu afluenți.

Rezultatele au arătat că PARAFAC a fost capabil să separe și identifice sursele de DOM din lacuri și râuri. PARAFAC a obținut informații semnificative din EEM pentru fiecare tip de probă, demonstrându-se că PARAFAC prezintă mai multe avantaje față de metoda peak-picking.

4. Concluzii generale

În urma studiilor realizate în perioada **05.10.2011 - 15.12.2013** s-au obținut următoarele rezultate:

- O colecție de amprente spectrale, reprezentând o bază de date cu spectre de fluorescență pentru diferite tipuri de ape, cu scopul de a pune în evidență influența antropică asupra diferitelor tipuri de sisteme acvatice și pentru a înțelege corelația dintre parametrii standard ai apei și diverși poluanți.
- Stabilirea parametrilor de fluorescență eficienți în diferențierea tipurilor de probe de apă: indicii de humificare și indicii biologici.
- Protocol de măsurare în timp real care a demonstrat capacitatea spectroscopiei de fluorescență de a monitoriza *in situ* materia organică naturală și poluările accidentale.
- Identificarea parametrilor standard care influențează spectrele de fluorescență, în cazul monitorizării în timp real.
- Identificarea metodei optime de procesare a matricilor rezultate în urma monitorizării continue.

Perspectivile acestor studii pe termen scurt sunt legate de optimizarea metodei de procesare și anume: îmbunătățirea corecției în PARAFAC pentru IFE; introducerea altor corecții, în metodă, pentru temperatură sau pH; evaluarea capacității PARAFAC de a procesa matricile în timp real. Pe termen lung, perspectivele țin de aplicarea spectroscopiei de fluorescență: metoda poate fi aplicată în controlul on-line al proceselor de tratare a apei menajere; poate fi utilizată în monitorizarea apelor reciclate, a sistemelor urbane cu efluenți de ape menajere sau în evaluarea compoziției și concentrației DOM pentru evitarea producerii de produse secundare în urma tratării cu clor a apei potabile.

5. Diseminarea rezultatelor

În propunerea inițială, pentru primele 3 etape, s-au preconizat următoarele modalități de diseminare a rezultatelor: *2 publicații ISI / an, 4 conferințe și 2 mese rotunde.*

Până în prezent, pentru acest proiect, s-au realizat: **8 publicații în reviste științifice (din care 4 publicații cotate ISI și 1 proceedings ISI), 1 carte, 1 capitol carte, 7 conferințe, 2 mese rotunde și 2 stagii de lucru.**

Lucrări ISI

1. E.M. Cârstea, L. Ghervase, G. Pavelescu, M. Tăutan, Real-time monitoring of an urban river contaminated with petroleum products, *Environmental Engineering and Management Journal*, 11(2), 279-283, 2012. Factor Impact: 1.117
2. M. Ciobanu, V. Turcus, D. Savastru, A. Ardelean, C. Cotoraci, R. Savastru, E.M. Cârstea, L. Ghervase, Two approaches characterizing the chaotic behavior of neurons, *Digest Journal Of Nanomaterials And Biostructures*, 7(4), 1519-1525, 2012. Factor Impact: 1.092
3. E.M. Cârstea, A. Baker, R. Savastru, Comparison of river and canal water dissolved

organic matter fluorescence within an urbanised catchment, În curs de publicare in 2013 la *Water and Environment Journal*. Factor Impact: 0.969

4. J. Bridgeman, A. Baker, C. Carliell-Marquet, E. Cârstea, Determination of changes in wastewater quality through a treatment works using fluorescence spectroscopy, În curs de publicare in 2013 la *Environmental Technology*. Factor Impact: 1.606

Proceedings ISI

5. E.M. Cârstea, L. Ghervase, G. Pavelescu, C. Ioja, Correlation of dissolved organic matter fluorescence and several metals concentration in a freshwater system, *Procedia Environmental Sciences*, 14, 41-48, 2012. – Proc. International Conference Environment – Landscape – European Identity, Bucuresti, Romania, Noiembrie 2011.

Alte baze de date

6. M. Ciobanu, L. Preda, D. Savastru, R. Savastru, E.M. Cârstea, Band Gaps for Some Specific Photonic Crystals Structures, *Quantum Matter*, 2(1), 60-66, 2013.
7. M. Ciobanu, L. Preda, R. Savastru, E.M. Cârstea, L. Ghervase, Tunability of a hexagonal and of a triangular photonic crystals, *Moldavian Journal of the Physical Sciences*, 11(4), 334-339, 2012.
8. A. Marin, L.A. Preda, M. Ciobanu, D. Savastru, E.M. Cârstea, L. Ghervase, S. Dontu Photonic band structures of 2D photonic crystals with half-elliptical holes, *Moldavian Journal of the Physical Sciences*, 11(4), 340-346, 2012.

Carte

- E.M. Cârstea, Fluorescence Fingerprints in Water Quality Analysis, Editura Technopress, Iași, Romania, 107 pagini, 2013.

Capitol carte

- E.M. Cârstea, Fluorescence spectroscopy as a potential tool for in-situ monitoring of dissolved organic matter in surface water systems, In: *Water Pollution*, N. Balkis (Ed.), InTech – Open Access Publisher, 47-68, 2012.

Conferințe:

- E.M. Cârstea, G. Pavelescu, R. Savastru, M. Tăutan, Identification of Fluorescence Fingerprints using PARAFAC Analysis, *7th International Conference on Environmental Engineering and Management ICEEM 07*, Viena, Austria, septembrie 2013, 37 - 38.
- E.M. Cârstea, S. Mounier, R. Redon, X. Luciani, C. Gadio, A. Baker, On-line Parafac analysis of fluorescence spectra, *International Workshop on Organic Matter Spectroscopy*, Toulon, Franța, iulie 2013, D2.5.
- S. Mounier, E.M. Cârstea, X. Luciani, R. Redon, Evaluation of inner filter effect on the fluorescence excitation emission matrix of a complex mixture of fluorescing and absorbing compounds, *International Workshop on Organic Matter Spectroscopy*, Toulon, Franța, iulie 2013, D3.3.
- E.M. Cârstea, D. Savastru, M. Tautan, G. Pavelescu, Multivariate analysis of monitoring fluorescence spectra, *International Conference on Environmental Science and Technology – ICOEST*, 18-21 iunie 2013, Ürgüp, Turcia.
- M. Ciobanu, L. Preda, D. Savastru, R. Savastru, Band gaps of a 2.5 D photonic crystal, *6th International Conference on Materials Science and Condensed Matter Physics – MSCMP*, septembrie 2012, Chișinău, Republica Moldova.

- E.M. Cârstea, L. Ghervase, G. Pavelescu, M. Tăutan, M. Ciobanu, Continuous monitoring of dissolved organic matter fluorescence from an urban canal, *Conferința Națională de Fizică – CNF 2012*, iulie 2012, Constanța, România.
- L. Ghervase, E. M. Cârstea, G. Pavelescu, Optical tool for evaluating water pollution, *International Symposium "The Environment and Industry"* - SIMI, București, România, noiembrie 2011.

Mese rotunde: 1) cu tema "Calitatea apelor de suprafață din zonele urbane" organizată în 2011 și 2) cu tema "Monitorizarea calitatii apei" organizată în 2012.

Stagii de lucru

- Stagiul de lucru la Universitatea Bogazici, Istanbul, Turcia, pentru a studia, împreună cu Prof. M. Bekbolet și Dr. C. Uyguner, capacitatea spectroscopiei de fluorescență de a evalua eficiența tratării apei prin fotocataliză.
- Stagiul de lucru la Universitatea din Toulon, Franța, pentru a realiza, împreună cu Dr. S. Mounier și Dr. R. Redon, studii care au vizat analiza, prin PARAFAC, a spectrelor de fluorescență ale unor probe multifluoroforice.

Bibliografie

[1] P.G. Coble, *Marine Chemistry*, 51 (1996), 325-346. [2] A. Baker et al., *Environmental Pollution*, 124 (2003), 57-70. [3] W.K.L. Cammack et al., *Limnology and Oceanography*, 49 (6) (2004), 2034-2045. [4] S. Elliott et al., *Water Research*, 40 (10) (2006), 2075-2083. [5] C.A. Stedmon et al., *Marine Chemistry*, 82 (2003), 239-254. [6] N. Patel-Sorrentino et al., *Water Research*, 36 (2002), 2571-2581. [7] N. Hudson, et al., *River Research and Applications*, 23 (2007), 631-649. [8] R.G.M. Spencer et al., *Hydrological Processes*, 21 (23) (2007), 3181-3189. [9] B.D. Downing et al., *Limnology and Oceanography: Methods*, 7 (2009), 119-131. [10] E.M. Cârstea et al., *Water Research*, 44 (18) (2010), 5356-5366. [11] S. Cumberland et al., *Environmental Technology*, 33 (2012), 687-693. [12] N. Hudson et al., *Science of the Total Environment*, 391 (1) (2008), 149-158. [13] S.K.L. Ishii & Boyer T.H., *Environmental Science and Technology*, 46 (2012), 2006-2017. [14] A. Huguet et al., *Organic Geochemistry*, 40 (2009), 706-719. [15] D.M. McKnight et al., *Limnology and Oceanography*, 46 (2001), 38-48. [16] A. Baker, *Water Research*, 39 (2005), 4405-4412. [17] C.J. Watras et al., *Limnology and Oceanography: Methods*, 9 (2011), 296-301. [18] R.K. Henderson et al., *Water Research*, 43 (2009), 863-881. [19] O. Divya & Mishra A.K., *Analytica Chimica Acta*, 630 (2008), 47-56. [20] D.M. Reynolds & Ahmad S.R., *Water Research*, 31 (1997), 2012-2018. [21] A. Baker et al., *Chemosphere*, 67 (2007), 2035-2043. [22] L.A. Swanson et al., *Hydrology: Science and Practice for the 21st Century*, Publisher British Hydrological Society, II (2004), 160-167. [23] P.A. Raymond et al., *Marine Chemistry*, 92 (2004), 353-366. [24] D.Y. Pharr et al., *Ground Water*, 30 (4) (1992), 484-489. [25] O. Abbas et al., *Talanta*, 75 (2006), 857-871. [26] L. Lakhal et al., *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 116 (2012), 112-122. [27] N. Maie et al., *Applied Geochemistry*, 27 (2012), 917-929. [28] S. Mounier et al., *Biogeochemistry*, 106 (2011), 107-116. [29] S. Singh et al., *Science of the Total Environment*, 408 (2010), 3211-3222. [30] Y. Zhang et al., *Water Research*, 45 (2011), 5110-5122. [31] H. Hong et al., *Biogeochemistry*, 109 (2012), 163-174. [32] L. Ghervase et al., *Romanian Reports in Physics*, 64 (2012), 3, 754-760. [33] E.M. Cârstea et al., *Romanian Reports in Physics*, 65 (2013), 3, 1092-1104. [34] R.D. Holbrook et al., *Science of the Total Environment*, 361 (2006), 249-266. [35] Z. Wang et al., *Journal of Environmental Sciences*, 19 (2007), 787-791. [36] M. Borisover et al., *Water Research*, 43 (2009), 3104-3116.

Director de proiect,
Dr. Simona Donțu

