

UNIVERSITATEA DE VEST DIN TIMȘOARA
FACULTATEA DE CHIMIE, BIOLOGIE, GEOGRAFIE
ȘCOALA DOCTORALĂ DE CHIMIE
LABORATOARELE DE CERCETĂRI AVANSATE DE MEDIU

ANALIZE FIZICO-CHIMICE ȘI ECOTOXICOLOGICE
ALE APELOR DIN AREALUL MOLDOVA NOUĂ ȘI
PROPUNEREA DE METODE DE REMEDIERE

TEZĂ DE DOCTORAT
(REZUMAT)

Coordonator științific:

Prof. Dr. Vasile OSTAFE

Doctorand:

Constantina-Bianca VULPE

Timișoara

2023

REZUMAT

Teza de doctorat, elaborată în limba română și intitulată ”**Analize fizico-chimice și ecotoxicologice a apelor din arealul Moldova Nouă și propunere de metode de remediere**”, este structurată în două părți mari: Studiu de literatură și Cercetare experimentală.

Partea teoretică dezbate concepte și termeni despre poluarea apelor, tipuri de ape, tipuri de poluanți, poluarea mediului prin procese de minerit, Mina de cupru Moldova Nouă, analize pentru determinarea calității apelor, parametri fizico-chimici, teste de ecotoxicitate, metode de remediere.

Partea experimentală cuprinde capitolele Materiale și Metode, Rezultate și Discuții și Concluzii Generale. Capitolul Materiale și Metode este compus din mai multe subcapitole în care sunt prezentate descrierea locului de prelevare a probelor, modul de prelevare a probelor, reactivii utilizați, organismele și genele folosite, mediile de cultură, determinarea acțiunii metalelor asupra fosfatazei acide, teste de inhibare a activității enzimatică a fosfatazei acide, teste de inhibare al fermentației drojdiei de bere, și analize de determinare a concentrației de metale grele prin ICP-OES și ICP-MS, iar în cele din urmă aplicarea de teste statistice pentru analiza datelor.

Capitolul Rezultate și Discuții cuprinde 3 subcapitole principale în care sunt discutate rezultatele obținute cu referire la articolele publicate pe baza acestora.

Primul capitol, **Evaluarea hidrochimică și ecotoxicologică a apelor de suprafață și de adâncime din zona Moldova Nouă**, a constat în determinarea parametrilor fizico-chimici (pH, conductivitate, oxigen dizolvat și turbiditate) *in situ*, și concentrațiile de metale grele (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb și Zn) în laborator. De asemenea s-au aplicat două teste ecotoxicologice, unul de inhibare a activității enzimatică a fosfatazei acide și unul de determinare a gradului de inhibiție a procesului de fermentație al drojdiei de bere (*Saccharomyces cerevisiae*) pentru evaluarea efectelor poluării miniere în ceea ce privește calitatea apelor de suprafață și a apelor subterane. Rezultatele au pus în evidență faptul că majoritatea parametrilor fizico-chimici și concentrațiile de metale grele s-au situat în limite normale. Exceptând proba de apă de suprafață colectată din râul Boșneag, în amonte de Moldova Nouă, toate probele au provocat efecte de inhibiție față de martorul pozitiv în cadrul testelor ecotoxicologice aplicate. De asemenea, s-au observat corelații semnificative din punct de vedere statistic, concentrația totală de ioni de fier prezentând cele mai semnificative corelații statistice cu alți parametri. Pentru evaluarea stării apelor a fost utilizată o scală de evaluare a stării apelor, subliniind impactul slab al poluanților minieri asupra probelor analizate. Rezultatele obținute pentru caracterizarea zonei Moldova Nouă, în ceea ce privește

efectul metalelor grele asupra parametrilor de caracterizare a calității apelor, fac obiectul unui articol publicat într-un jurnal cotate ISI: Stevanovic, Z., Kovacevic, R., Markovic, R., Gardic, V., VULPE, C.B., Bianca, B., Gheorghita, M., *State of the surface waters in cross border region of eastern Serbia and Caras Severin county - Moldova Noua in Romania*, Studia UBB Chemia, 2021, 4, 309 <https://doi.org/10.24193/subbchem.2021.4.23> și al unui articol aflat sub recenzie după o primă revizuire la jurnalul Ecological Chemistry and Engineering S VULPE, C.B., Boros B., Matica M.A., Menghiu G., Roman D.L., Dascălu D., Kovacevic R., Ostafe V., *Hydrochemical and ecotoxicological characterization of water samples contaminated with mining pollutants from Moldova Noua area, Romania*, ECOL CHEM ENG S. 2021;28(X):X-X.

Al doilea capitol, intitulat **Efectul metalelor grele asupra activității enzimatică a fosfatazei acide**, expune rezultate ale efectelor metalelor Ag^+ , Ca^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Hg^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} asupra activității enzimatică a fosfatazei acide. Fosfataza acidă este o enzimă larg răspândită în toate organismele vegetale, dar și animale, fiind implicată în eliminarea fosfatului din alte molecule în timpul digestiei. Aceasta catalizează conversia monoesterului ortofosforic și a H_2O în alcool și acid fosforic, ajutând la absorbția fosfatului anorganic în plante sau fiind implicată în procese metabolice din oase, splină, plămâni, prostată, eritrocite, macrofage și trombocite la organismele umane. Rezultatele au arătat ca ionul de Hg^{2+} are cel mai puternic efect inhibitor și că ionii de Ca^{2+} , respectiv Mg^{2+} , nu au efect inhibitor puternic decât la concentrații foarte mari, începând de la 200 mM

Capitolul al treilea, intitulat: **Eficiența de acumulare a cuprului în diferite tipuri disponibile de microorganisme recombinante utilizate pentru bioremedierea impurităților din ape poluate cu metale grele**, prezintă rezultate ce stau la baza bioremedierii cuprului din apă sintetică. Eficiența acumulării ionilor de cupru a fost măsurată folosind diverse tulpini modificate genetic ale speciilor *Saccharomyces cerevisiae* (EBY100, INVSc1, BJ5465 și GRF18), *Pichia pastoris* (X-33, KM71H), *Escherichia coli* (XL10 Gold, DH5 α și șase tipuri de BL21 (DE3)) și *Escherichia coli* BL21 (DE3) OverExpress care exprimă două peroxidaze distincte. Testele de viabilitate ale tulpinilor de drojdie și bacterii au arătat că bacteriile sunt viabile la concentrații de cupru de până la 2,5 mM și drojdiile până la 10 mM. Spectrometria de emisie optică prin analiză cu plasmă cuplată inductiv (ICP-OES) a arătat că rezistența tulpinilor de bacterii crescute pe medii care conțin 1 mM de cupru a fost mai mică decât cea a tulpinilor de drojdie la aceeași concentrație de cupru. Tulpina *E. coli* BL21 RIL a avut cea mai bună performanță în ceea ce privește eficiența de acumulare a cuprului (4,79 mg/L de cultură normalizată la o densitate optică de 1,00), fapt care a fost de 1250 de ori mai eficient decât tulpina de control. Tulpina de drojdie *S. cerevisiae* BJ5465

a fost cea mai eficientă în acumularea de cupru din cele șase tulpini de drojdie utilizate, acumulând de peste 400 de ori mai mult decât tulpina utilizată pe post de control negativ. Mai mult, celulele *E. coli* care au exprimat în interior peroxidaza recombinantă din *Thermobifida fusca* au fost capabile să acumuleze de 400 de ori mai mult cupru decât celulele care au produs peroxidaze recombinante periplasmatică. Aceste rezultate sunt publicate într-un articol publicat într-o revistă cotate ISI: VULPE, C.B., Matica, M.A, Kovacevic, R., Dascălu, D., Stevenovic, Z., Isvoran, A., Ostafe, V., Menghiu, G., *Copper Accumulation Efficiency in Different Recombinant Microorganism Strains Available for Bioremediation of Heavy Metal-Polluted Waters*, Int. J. Mol. Sci. 2023, 24(8), 7575; <https://doi.org/10.3390/ijms24087575>

Concluziile Generale constau în prezentarea rezultatelor în ansamblu. Finalul lucrării prezintă toate sursele bibliografice care au fost suport pentru realizarea ei.