



Project funded by
EUROPEAN UNION



Common borders. Common solutions.

Ghid metodologic ecotoxicologic
de monitorizare a mediului:
problematică, tehnici de
laborator și investigarea riscului
asupra sănătății

BSB27-MONITOX

Editori:

Elena Zubcov
Antoaneta Ene



Project funded by
EUROPEAN UNION



Ghid metodologic ecotoxicologic de monitorizare a mediului: problematică, tehnici de laborator și investigarea riscului asupra sănătății

Editori:

**Elena Zubcov
Antoaneta Ene**

Chișinău, 2021

Cartea este recomandată pentru publicare de către Consiliul Științific al Institutului de Zoologie, Ministerul Educației și Cercetării, la 26 iulie 2021.

Ghidul ecotoxicologic este elaborat în cadrul proiectului BSB 27 Rețea de cooperare interdisciplinară în Bazinul Mării Negre pentru monitorizarea comună durabilă a migrației compușilor toxici în mediu, evaluarea îmbunătățită a stării ecologice și a impactului substanțelor dăunătoare asupra sănătății umane, și prevenirea expunerii populației - MONITOX (Programul Operațional Comun Bazinul Mării Negre 2014-2020, finanțat de Uniunea Europeană). Sunt utilizate, de asemenea, unele rezultate ale cercetărilor din cadrul proiectelor internaționale și naționale finalizate MIS ETC 1676 (2013-2015), AQUASYS (2015-2019) și ale celor în curs de realizare - BSB 165 HydroEcoNex (2018-2021), SOFT1/2/47 (2020-2021), AQUABIO (2020-2023).

Ghidul ecotoxicologic este adresat cercetătorilor, specialiștilor în domeniul mediului, tineretului studios (doctoranzi, masteranzi, studenți) și tuturor celor care doresc să se familiarizeze cu aspectele teoretice și aplicative ale investigațiilor ecotoxicologice, care includ monitorizarea, descifrarea proceselor de migrație a substanțelor toxice în mediu și evaluarea stării ecologice și funcționării ecosistemelor acvatice.

Editori:

Elena Zubcov, membru correspondent AȘM, profesor cercetător, doctor habilitat
Antoaneta Ene, profesor, doctor habilitat

Design și machetare computerizată:

Natalia Dorogan

Î.S. Firma Editorial-Poligrafică „Tipografia Centrală”,

MD-2068, Chișinău, str. Florilor, 1

Tel. 022-49-31-46

Descrierea CIP a Camerei Naționale a Cărții

Ghid metodologic ecotoxicologic de monitorizare a mediului: problematică, tehnici de laborator și investigarea riscului asupra sănătății / BSB27-MONITOX, Programul Operațional Comun Bazinul Mării Negre, Institute of Zoology, Center of Research of Hydrobiocenoses and Ecotoxicology; editori: Elena Zubcov, Antoaneta Ene. - Chișinău: S. n., 2021 (Î.S. F.E.-P. „Tipografia Centrală”). - 112 p.: fig., tab. - (Common borders. Common solutions, ISBN 978-9975-128-28-5).

Apare cu suportul financiar al Uniunii Europene. - Referințe bibliogr. la sfârșitul capitolelor. - 200 ex.

ISBN 978-9975-157-79-7

CUPRINS

INTRODUCERE	4
Capitolul 1. ECOTOXICOLOGIA CA RAMURĂ DE ȘTIINȚĂ	6
1.1. CONSIDERENTE GENERALE	6
1.2. ECOTOXICINETICA.....	17
1.3. ECOTOXICODINAMICA	21
1.4. ECOTOXICOMETRIE.....	26
1.5. EVALUAREA RISCULUI DE MEDIU	34
Bibliografie	36
Capitolul 2. INVESTIGAȚII ECOTOXICOLOGICE ALE ECOSISTEMELOR ACVATICE (studiul ecotoxicanților).....	38
2.1. INTRODUCERE.....	38
2.2. GENERALIZĂRI METODOLOGICE	40
2.3. REZULTATELE INVESTIGAȚIILOR ECOTOXICOLOGICE	43
2.4. CONCLUZII.....	52
Bibliografie	52
Capitolul 3. EVALUAREA CONTAMINANȚILOR MICROBIENI EMERGENȚI DIN APĂ	54
3.1. CONSIDERENTE GENERALE	54
3.2. METODE PENTRU DETECTAREA CALITATIVĂ ȘI CANTITATIVĂ A BACTERIILOR DIN PROBELE DE APĂ	57
3.3. CONCLUZII ȘI PERSPECTIVE	70
Bibliografie	71
Capitolul 4. CONTAMINANȚI EMERGENȚI ÎN MEDIU – EFECTE ECOTOXICOLOGICE	73
4.1. CONSIDERENTE GENERALE	73
4.2. REGLEMENTAREA ȘI LEGISLAȚIA UE PRIVIND CONTAMINANȚII EMERGENȚI (PRODUSE FARMACEUTICE, PERTURBATORI ENDOCRINI)	76
4.3. ANTIBIOTICE.....	77
4.4. CONTRACEPTIVE	83
4.5. DISRUPTORI ENDOCRINI	86
4.6. DETERMINAREA GRADULUI DE EXPUNERE LA PRODUSE FARMACEUTICE ÎN MEDIUL ACVATIC	90
4.7. DETERMINAREA RISCULUI DE EXPUNERE ASUPRA SĂNĂȚĂȚII UMANE	92
Bibliografie	93
Capitolul 5. RADIAȚII IONIZANTE ÎN MEDIU – RISCUL RADIOLOGIC	97
5.1. CONSIDERENTE GENERALE	97
5.2. INTERACȚIA RADIAȚIILOR CU ȚESUTUL VIU ȘI RISCUL RADIOLOGIC.....	105
Bibliografie	110

INTRODUCERE

Elena Zubcov^{1,2}, Antoaneta Ene²

¹ Institutul de Zoologie, Str. Academiei nr.1, Chișinău, R. Moldova

² Universitatea Dunărea de Jos din Galați, Centrul de cercetare internațional interdisciplinar INPOLDE, Facultatea de Științe și Mediu, Str. Domnească nr.47, 800008 Galați, România

La finele secolului XX, emisiile de poluanți antropici au devenit proporționale cu amploarea proceselor naturale de migrare și acumulare a diferiților compuși. Problemele legate direct de poluarea chimică a biosferei, care duc adesea la situații toxicologice și ecologice acute, s-au înrăutățit brusc. Aceasta a condus la extinderea și intensificarea diferitelor studii privind amploarea și rata poluării mediului, căutarea unor metode eficiente de protejare a aerului atmosferic, a apelor naturale, a solului și a vegetației, care se bazează pe reducerea fluxului de poluanți chimici care intră în biosferă cu emisiile din industrie, deșeurile, precum și limitarea sau eliminarea totală a efectelor toxice ale diferitelor substanțe și compuși de origine antropică asupra lumii vegetale și animale, prevenirea impactului lor negativ asupra sănătății umane.

Potrivit Organizației Mondiale a Sănătății (OMS) ([World Health Organization. Promotion of Chemical Safety Unit & International Programme on Chemical Safety, 1992](#)), din peste 6 milioane de compuși chimici cunoscuți, sunt practic utilizați până la 500 de mii de compuși; aproximativ 40 de mii dintre aceștia sunt dăunători oamenilor, iar 12 mii sunt toxici.

Conform datelor [REACH](#), actualmente există peste 140 de mii de substanțe chimice care sunt produse în cantități de peste 1 tonă/an, dintre cele mai mult de 142 milioane de substanțe înregistrate în [Sci Finder Chemical Abstracts Service \(august 2018\)](#). Majoritatea dintre acești compuși ar putea ajunge, într-un caz sau altul, în mediul înconjurător. În al doilea rând, este evident că substanțele chimice nu se găsesc singure în mediu, ci

ca amestecuri complexe. În timp o substanță chimică poate exista în concentrații scăzute, sau sub limita de detecție, amestecul de mai multe substanțe împreună poate produce totuși efecte adverse.

Mai mult, produsele de transformare a micropoluantilor, formate în mediu sau prin metabolismul biologic, nu sunt întotdeauna cunoscute sau înregistrate și pot fi mai toxice și mai persistente decât compușii inițiali de bază. De facto, aproximativ 30 de mii de tipuri de compuși chimici noi xenobiotici sunt produși anual.

A apărut astfel o necesitate de evaluare a acestora în ceea ce privește pericolul pentru organismele vii, populațiile de organisme și biocenoză.

Ecotoxicologia - o nouă știință a mediului - a apărut în stadiul conștientizării de către om a necesității de a forma cunoștințe despre fluctuațiile și schimbările în starea mediului său sub influența unui număr imens de substanțe străine și naturale în mediul de trai.

Ecotoxicologia - un nou domeniu al științei mediului - a apărut ca o direcție interdisciplinară, dezvoltându-se în zonele de frontieră ale toxicologiei, ecologiei, biologiei, geochimiei, științei solului și alte științe.

Ecotoxicologia este una din disciplinele fundamentale ale pregătirii profesionale generale a studenților, masteranzilor sau doctoranzilor înscriși în programele de studii ecologie, biologie, știința mediului, și care permite viitorului specialist să înțeleagă liber evaluarea și analiza cuprinzătoare a efectelor xenobioticelor și ecotoxicanților asupra mediului și a sistemelor biologice privind aceste efecte.

Partea teoretică a ecotoxicologiei prezintă ideile moderne despre transformarea și circuitul substanțelor toxice în sistemele ecologice, mecanismele de includere a acestora în ciclurile naturale, precum și consecințele schimbărilor fluxurilor naturale de substanțe în biosferă - încălcarea echilibrului ecologic și transformarea elementelor biosferei, reducerea biodiversității, riscul pentru sănătatea umană.

Ecotoxicologia pune bazele abordărilor științifice ale problemei adaptării comunităților de diferit rang ale organismelor și precizează principiile evaluării toxicității unei substanțe din punct de vedere al toxicologiei și ecotoxicologiei, caracteristicile standardizării și tehnicile de estimarea riscurilor.

Partea practică constă în formarea cunoștințelor despre metodele de monitorizare a mediului necesare pentru colectarea informațiilor despre mediu și abilitatea de a interpreta aceste cunoștințe pentru a evalua starea, durabilitatea și prognoza dezvoltării complexelor naturale.

Scopul principal al ecotoxicologiei este de a oferi cunoștințele fundamentale despre sursele de substanțe dăunătoare din mediul înconjurător, distribuția acestora și efectul asupra organismelor vii și a comunităților viețuitoarelor de diferit rang organizațional, ecosistemelor și biosferei.

Astfel, ecotoxicologia este unul dintre componentele pregătirii profesionale generale a specialiștilor de mediu, privind înțelegerea problemelor de evaluare și analiza cuprinzătoare a efectelor asupra obiectelor de mediu și reacțiile anumitor medii naturale la aceste efecte.

Studiile ecotoxicologice urmăresc studierea migrării ecotoxicanților (substanțe de proveniență naturală) și xenobioticelor (com-

puși obținuți în procesul de activități umane, care sunt străini pentru metabolismul organismelor vii) în sistemele ecologice, mecanismele de încorporare a acestora în circuitul biogeochimic, precum și consecințele schimbărilor fluxurilor naturale, echilibrul și transformarea elementelor biosferei, reducerea biodiversității, dezechilibrul ecosistemelor și riscul pentru sănătatea umană.

Istoria toxicologiei se pierde în adâncurile secolelor. Omul s-a confruntat cu efectele otrăvitoare ale diferitelor substanțe de origine vegetală și animală în epoca de piatră. Pe măsură ce s-a dezvoltat mediul natural, au apărut tot mai multe substanțe toxice noi, inclusiv cele provocate de om, adică așa cum au fost produse de om însuși fie ca intermediari, fie ca produse finale ale activității sale de muncă.

În legătură cu dezvoltarea industriei, chimiei și tehnologiei chimice, aceste substanțe toxice sau "otrăvuri" au solicitat o atenție deosebită. Drept vorbind, de facto, în mediul înconjurător nu există substanțe fără toxicitate. În anumite condiții, în anumite doze, și substanțele nutritive pot deveni periculoase pentru comunitățile viețuitoare, putând provoca daune sau afectarea funcțiilor acestora și, în final, moartea. Astfel, toxicitatea substanțelor care sunt complet inerte în ceea ce privește obiectele biologice poate fi desemnată cantitativ ca tendință (dar nu egală) la zero. În legătură cu cele de mai sus, este posibilă definirea ecotoxicologiei ca o știință care studiază o proprietate inerentă aproape tuturor substanțelor din jurul nostru, atât naturale, cât și antropice, circuitul și transformarea lor în mediul de trai și efectele lor toxice asupra comunităților de viețuitoare acvatice, terestre, inclusiv a omului.

ECOTOXICOLOGIA CA RAMURĂ DE ȘTIINȚĂ

Elena Zubcov^{1,2}, Natalia Zubcov¹, Antoaneta Ene²

¹ Institutul de Zoologie, Str. Academiei nr.1, Chișinău, R. Moldova

² Universitatea Dunărea de Jos din Galați, Centrul de cercetare internațional interdisciplinar INPOLDE, Facultatea de Științe și Mediu, Str. Domnească nr.47, 800008 Galați, România

1.1. CONSIDERENTE GENERALE

Începutul dezvoltării unei noi ramuri a științei - ecotoxicologia l-a constituit cartea *Primăvara Tăcută (Silent Spring)*, scrisă de Rachel Carson și publicată în 1962, în care autoarea descrie cazurile de moarte în masă a păsărilor și a peștilor din cauza utilizării necontrolate a pesticidelor. R. Carson a concluzionat că efectele nefaste ale poluanților asupra vieții sălbatice prefigurează un dezastru iminent pentru oameni (Carson, 1962). Această carte a atras atenția pe scară largă, atât a publicului cât și a societăților de protecție a mediului, guvernărilor, ceea ce a intensificat elaborarea mai multor legislații guvernamentale care reglementează emisiile xenobiotice în mediul de trai.

Termenul „ecotoxicologie” ca ramură de știință a fost desemnat de Renne Truhaut în 1961 - „*Ecotoxicologia este o ramură de știință care studiază interacțiunile ce determină distribuția și abundența organismelor*” cu toxicologia „*știința care se ocupă cu studiul efectelor nefaste ale substanțelor asupra organismelor vii*”. Autorul a reunit două subiecte complet diferite: ecologia și toxicologia. De fapt, ecotoxicologia, pe lângă ecologie și toxicologie, include și elemente ale altor științe (Truhaut, 1977).

Pentru cercetările ecotoxicologice sunt necesare cunoștințe temeinice de chimie organică și anorganică, biochimie, chimie analitică, chimie fizică, toxicologie, ecologie, bio-

logie, medicină. De asemenea, este necesară cunoașterea unor metode de calcul statistic.

Definiția ecotoxicologiei a fost modificată de mai mulți cercetători.

Francois Ramade a publicat în 1977 un manual în care subliniază că: „*Ecotoxicologia studiază modalitățile de contaminare a mediului de către agenții poluanți naturali și artificiali produși de activitatea umană, mecanismele de acțiune și efectele asupra viețuitoarelor care populează biosfera*” (Ramade, 1977). Această definiție a fost clarificată mai târziu în cadrul conferinței SCOPE (Comitetul științific internațional pentru probleme de mediu) din 1978. Aici Butler G.C. a prezentat și apoi a publicat principalele obiective a ecotoxicologiei - „*Ecotoxicologia - este ramura toxicologiei care studiază efectele toxice ale substanțelor naturale sau artificiale asupra organismelor vii care constituie biosfera (animale, vegetale, terestre, acvatice), inclusiv interacțiunea substanțelor toxice cu mediul fizic în care organismele vii există*” (Butler, 1984).

Valery E. Forbes & Thomas L. Forbes în anul 1984 apoi în cartea *Ecotoxicology in theory and practice* editată în 1995, au afirmat că „*Ecotoxicologia este domeniul de studiu care integrează efectele ecologice și toxicologice ale poluanților chimici asupra populațiilor, comunităților ecosistemelor cu „soarta” acestora în mediu (transport, dezintegrare)*” (Forbes & Forbes, 1984,1995).

P. Calow, în 1998, prin realizarea mai multor investigații și editarea manualelor privind ecotoxicologia și protecția ecosistemelor, încearcă să unească aceste două direcții - „*Ecotoxicologia este ramura științei care se ocupă cu protejarea sistemelor ecologice față de efectele adverse ale substanțelor chimice sintetice*”. (Calow, 1998).

C.H. Walker, R.M. Sibly, S.P. Hopkin & D.B. Peakall, în lucrarea *Principles of Ecotoxicology* din 1998, au scris că: „*Ecotoxicologia este știința care studiază efectele daunătoare ale substanțelor chimice asupra ecosistemelor*” (Walker et al., 1998).

Odată cu dezvoltarea conceptului “*ecotoxicologie*”, acesta a suferit o anumită evoluție. Walker et al. (2001) din nou au constatat că „*Ecotoxicologia este o știință care studiază efectele toxice ale agenților chimici asupra organismelor vii, în special la nivelul populațiilor și comunităților, în anumite ecosisteme*”.

Subiectul ecotoxicologiei este reprezentat de organisme și sisteme biologice de diferit nivel (comunitate, populație, ecosistem, etc.), supuse poluării antropice. Prin urmare, principiile fundamentale ale funcționării și structurii sistemelor naturale de populație și rangului biocenotic, dezvoltate activ de ecologia teoretică modernă, servesc drept bază teoretică pentru ecotoxicologie.

Domenii de cercetare interdisciplinară legate de ecotoxicologie

Expansiunea și aprofundarea conceptului de “*ecologie*” a dus la apariția unor noi domenii științifice independente. Aceste direcții sunt în contact între ele: au o metodologie comună, un aparat conceptual, obiecte de cercetare, folosesc aceleași rezultate științifice pentru a-și rezolva propriile probleme specifice.

Ca exemplu, *ecologia chimică* (Bogdanovsk, 1994; Egorov, 2009) studiază modificările chimice sub influența factorilor de mediu. Sarci-

na centrală este de a studia comportamentul substanțelor antropice: concentrația în mediu, procesele de acumulare în mediu. Sfera de interese include procesele chimice din mediu datorită schimbărilor provocate de activitatea umană. Legătura strânsă dintre chimia ecologică (Korte, 1997) și ecotoxicologie este exprimată prin faptul că ambele domenii folosesc metode și tehnici de analize chimice și fizico-chimice.

Subiectul cercetării ecotoxicologice este stabilirea legăturilor între dinamica substanțelor chimice și dezvoltarea comunităților de organisme vii în ecosisteme. Spre deosebire de chimia ecologică, obiectele cercetării ecotoxicologice nu se referă numai la substanțe antropogene, ci și la substanțe naturale, prin care are loc interacțiunea lor asupra comunităților vii, și la descifrarea rolului și importanței organismelor în procesele de transport, circuitul și diminuarea sau sporirea toxicității substanțelor chimice.

O trăsătură comună a toxicologiei și ecotoxicologiei este aceea că ambele domenii de cercetare utilizează metodologia, aparatul conceptual toxicologic și bazele fundamentale privind toxicitatea (*Ecological Bulletins No. 36, 1984*).

Toxicologia în majoritate sa este un compartiment al medicinei care studiază proprietățile fizice, chimice ale otrăvurilor (substanțe daunătoare și toxice), mecanismele acțiunii lor asupra corpului uman și dezvoltă metode de diagnosticare, tratament și prevenire a intoxicațiilor (Golikov, 1972).

Toxicologia este studiul toxicității și al procesului toxic. Toxicitatea și procesul toxic sunt două concepte de bază ale toxicologiei moderne. Toxicitatea este o proprietate (capacitate) a substanțelor chimice, care acționează asupra sistemelor biologice și provoacă daune (disfuncții) sau deces. Astfel, toxicitatea este capacitatea de a provoca o întrerupere, boală sau deces. Produsele chimice care, în anumite condiții, pot prezenta

această proprietate, sunt denumite **toxice** (substanțe toxice) (Kutsenko, 2006; Lysenko & Dogadina, 2015; Oprea, 2007).

Acțiunea unei substanțe, care duce la perturbarea funcțiilor sistemelor biologice, se numește **efect toxic**. Baza efectelor toxice este interacțiunea unei substanțe cu un obiect biologic la nivel molecular.

Chimia interacțiunii unui agent toxic și a unui obiect biologic (la nivel molecular) se numește **mecanismul acțiunii toxice**. **Toxicant** = otravă = substanță otrăvitoare, dăunătoare sau periculoasă (Kutsenko, 2006).

Ecotoxicologia și toxicologia, atunci când se iau în considerare toxicitatea și procesele toxice, utilizează un aparat, modele și metodologie conceptuale comune; acestea sunt trăsăturile lor comune. Cu toate acestea, toxicologia și ecotoxicologia studiază toxicitatea substanțelor și manifestarea procesului toxic la diferite niveluri de organizare a unui obiect biologic (Bazerman, Charles & René Agustin De los Santos, 2006).

Ecotoxicologia tratează un material toxic ca o componentă toxică în procesele ecologice a unui ecosystem sau comunități vii, iar toxicologia - la unui organ sau organism. Aceasta este diferența fundamentală dintre ecotoxicologie și toxicology (Relyea & Hoverman, 2006).

În toxicologie, aportul, metabolismul și eliminarea substanței toxice dintr-un obiect biologic și procesul toxic sunt studiate fără o perspectivă ecologică sau un context ecologic (fără a ține seama de comportamentul din ecosystem și de impactul asupra populațiilor și comunităților) (Lysenko & Dogadina, 2015; Oprea, 2007).

Ecotoxicologia studiază efectele toxice deasupra diferitor comunități de organisme până la nivel de ecosystem și astfel valoarea mediului devine factor activ în dezvoltare; în plus, o trăsătură specifică a ecotoxicologiei este evaluarea proceselor de migrație și a circuitului substanțelor toxice și a consecin-

țelor de mediu ale acțiunii combinate a factorilor antropici și naturali asupra sistemelor biologice.

Cele mai multe interferențe le are ecotoxicologia cu toxicologia generală și cu toxicologia mediului. Făcând o paralelă între aceste discipline și ecotoxicologie este necesar de evidențiat următoarele:

Toxicologia se ocupă cu preluarea, absorbția, difuziunea, excreția substanțelor toxice de către organismele individuale. Ecotoxicologia se ocupă cu cinetica poluanților în mediul abiotic (aer, apă, sol/sedimente) și mediul biotic (lanțul trofic), studiul transformărilor și biotransformărilor substanțelor chimice la nivel de comunități de organisme și ecosistem.

Toxicologia are ca scop protejarea omului/ animalelor (privite ca individ) față de expunerea la substanțe toxice. Ecotoxicologia are ca scop protejarea populațiilor și comunităților diferitelor specii precum și a ecosistemelor de efectele dăunătoare ale expunerii la substanțe toxice (Kutsenko, 2006).

O importanță majoră atât pentru toxicologie cât și pentru ecotoxicologie o prezintă relația dintre cantitatea de substanță chimică la care organismul este expus și natura, gradul efectelor nocive consecutive (relația doză/răspuns, care constituie baza pentru estimarea hazardului și riscului prezentat de substanțele chimice din mediu).

Ecotoxicologia (Straalen, 2002) a fost asimilată o perioadă cu toxicologia mediului. Toxicologia mediului abordează în mod limitat problemele de poluare și anume:

- modul prin care își exercită acțiunea fiziopatologică asupra organismelor țintă, în special nevertebrate, mamifere (om);
- mecanismul de acțiune pe plan celular și molecular.

În procesul de studiere a efectelor substanțelor chimice prezente în mediu, asupra oamenilor și a comunităților umane, toxicologia mediului acționează cu categorii și con-

cepte de toxicologie clasică stabilite și, de regulă, aplică metodologia tradițională experimentală, clinică și epidemiologică. Obiectivul cercetării în acest caz sunt mecanismele, dinamica dezvoltării, manifestarea efectelor adverse ale acțiunii substanțelor toxice și a produselor de transformare a acestora în mediu asupra oamenilor.

Ecotoxicologia, diferit de Toxicologia mediului (Robinson & Thorn, 2005; Frumin, 2013), în majoritatea sa abordează efectele poluării nemijlocit per ansamblu asupra populațiilor, ecosistemelor, cu scopul de a le proteja în totalitate și nu pe componente izolate.

Conceptul de bază al ecotoxicologiei, la fel, este **toxicitatea**, care în termeni generali poate fi definită ca o proprietate (capacitate) a substanțelor chimice, care acționează asupra sistemelor biologice provocând lezarea sau moartea lor sau capacitatea de a provoca degradarea biocenozei sau a întregului ecosistem.

Consecința efectului toxic al substanțelor asupra sistemelor biologice cât și reacția unui biosistem la acțiunea unui agent toxic care conduce la deteriorarea (adică afectarea funcțiilor sale, viabilitatea) sau moartea acestuia este numit **proces toxic**. Semnele externe, înregistrate de procese toxice (acțiunea toxică), reprezintă manifestarea sa (efectul toxic) (Forbes & Calow, 1999).

Procesul toxic la nivel de populație se manifestă prin (Bezel et al., 1994):

- moartea populației;
- creșterea morbidității, mortalității, numărului de defecte congenitale;
- scăderea potențialului de înmulțire;
- încălcarea caracteristicilor structurale (sex, vârstă, spațiu, dimensiune, structură de masa, etc.);
- scăderea posibilităților medii de viață și degradarea componenței populației.

Procesul toxic la nivelul biocenozelor se manifestă prin:

- modificări ale spectrului populațional al cenozei, până la dispariția anumitor specii și apariția unora noi, care nu sunt tipice acestei biocenoze (aceasta poate schimba speciile dominante și, de regulă, poate diminua biodiversitatea);
- încălcarea relațiilor interspecifice, productivitatea redusă a biocenozelor ca sistem întreg;
- posibila degradare și dispariție a acestui ecosistem.

Diferențele metodologice dintre ecotoxicologie și toxicologia mediului sunt șterse complet atunci când un cercetător este invitat să evalueze efectul indirect al poluanților asupra populațiilor umane (de exemplu, datorită modificării toxice a biotei) sau, dimpotrivă, să afle mecanismele de acțiune ale substanțelor chimice în mediu asupra reprezentanților unuia sau a celuilalt individ (Bezel et al., 1994).

În acest sens, din punct de vedere teoretic, “toxicologia mediului” ca știință este doar o problemă specială a “ecotoxicologiei”, în timp ce metodologia, aparatul conceptual și structura științelor sunt aceleași (Robinson & Thorn, 2005).

Dificultățile de a stabili ecotoxicologia ca direcție independentă sunt astăzi legate de absența unei baze teoretice suficient de stricte care să unească materialul experimental acumulat și să-l explice.

Ambiguitatea datelor inițiale obținute în diferite condiții naturale și sub diverse influențe, lipsa unei relații explicite între observațiile de teren și experiment, izolarea pozițiilor teoretice de la aplicarea lor specifică la rezolvarea problemelor practice sunt toate semnele unei nouăți și a primilor pași ai noii direcții științifice.

OBIECTIVELE DE BAZĂ ALE ECOTOXICOLOGIEI

Conținutul disciplinei “Ecotoxicologie” este studiul ecotoxicității și principalelor caracteristici ale profilului habitatului xenobiotic, ecotoxicocinetica, ecotoxicodinamica și ecotoxicometria ecotoxicanților și xenobionților, evaluarea comunităților biologice de diferit rang supuse poluării mediului de trai.

Cele mai importante sarcini ale ecotoxicologiei includ: studiul privind fluctuațiile compoziției speciilor precum și relațiilor speciilor calitative la un nivel trofic. În ceea ce privește ecotoxicologia, factorul de reducere a diversității speciilor este deosebit de important (diversificare), deoarece o scădere a numărului de specii poate duce la dispariția în primul rând a organismelor indicatoare existente anterior. Schimbările parametrilor de creștere și a metabolismului organismelor aduce la modificarea structurală a comunităților de specii și provoacă perturbări în funcționarea întregului ecosystem (Forbes & Calow, 1999; Panin & Bezel, 2008).

Dacă se efectuează studii epidemiologice, pierderea sau reducerea numărului de specii principale de organisme necesită o analiză a tendințelor în dezvoltarea comunităților biologice. Astfel de studii sunt o altă sarcină a ecotoxicologiei, care pot ajuta la identificarea gradului de risc și la prevenirea fenomenelor periculoase (Kaplın, 2006).

Astfel, ecotoxicologia prezintă un studiu profund al ecosistemelor, iar cele mai importante părți ale acesteia ar trebui să fie problemele de conservare (pentru ecosisteme neperturbate) și restaurare (pentru sistemele deja afectate). Ambele obiective pot fi atinse doar în modul de modelare funcțională. Cu toate acestea, datorită faptului că nu există un model universal, dezvoltarea unor astfel de modele, precum și crearea modele de laborator și matematice sau studii similare în condiții naturale se realizează pe baza obiec-

tivului stabilit pentru rezolvarea unei probleme particulare (Walker et al., 2002; Robinson & Thorn, 2005).

Natura și amploarea influenței poluanților chimici asupra situației ecologice generale, biogeocenozelor și componentelor biosferei variază în diferite zone naturale și chiar în raport cu unele specii de animale și plante, iar ca rezultat al provocării unor situații periculoase toxico-ecologice se produc adesea perturbări de mediu locale (Katrin Franke Bader, 2012).

Ecosistemele naturale au capacitatea de a rezista atât fluctuațiilor factorilor naturali obișnuiți, cât și schimbărilor în condițiile existenței sub influența antropică. Prin urmare, valorificarea rațională și conservarea naturii, proprietățile care pot detecta schimbări de mediu negative sau potențial periculoase în primele etape devin esențiale. În consecință, sunt necesare și metode eficiente de detectare precoce a anumitor modificări (Israel, 1984).

Orice transformare a mediului ca rezultat al activității umane poate fi numită antropogenă (sau factor uman). Un impact antropogen care conduce la o schimbare în compoziția chimică a uneia sau a mai multor componente naturale ale mediului este geochimic, deoarece implică în mod inevitabil această schimbare a sistemelor naturale care interacționează unul cu altul cu viteză și intensitate diferită (Panin & Bezel V.S., 2008).

Lucrările mai multor cercetători (Truhaut, 1977; Forbes & Forbes, 1995; Schueuermann & Markert, 1997; Connell et al., 1999; Forbes & Calow, 1999; Walker et al., 1998, 2001) au devenit clasice în dezvoltarea ecotoxicologiei ca o ramură științifică în care sunt stipulate și argumentate principalele noțiuni, obiective, sarcini, direcții de cercetare ecotoxicologice, și care se referă la toate compartimentele acestui capitol, după cum urmează.

CELE TREI OBIECTIVE MAJORE ALE ECOTOXICOLOGIEI SUNT:

1. Obținerea datelor ecologice și toxice pentru evaluarea riscului și a managementului mediului;
2. Cunoașterea și stabilirea legităților de dispersare în mediu a substanțelor chimice;
3. Elaborarea bazelor (empirice sau teoretice) pentru a îmbogăți și îmbunătăți cunoștințele referitoare la comportamentul privind efectele toxice ale substanțelor chimice în sistemul viu.

În cadrul obiectivelor de mai sus sunt abordate **următoarele aspecte principale:**

- distribuția poluanților în mediu, cu identificarea dispunerii substanțelor chimice în diferitele compartimente ale mediului înconjurător (în aer, apă, soluri, produse alimentare);
- cinetica poluanților (modalitățile de pătrundere, depozitarea în mediu, difuzarea, transformările acestora în mediu);
- efectele poluanților asupra organismelor vii, respectiv definirea tabloului efectelor nocive la nivel *individual (disrupții ale structurii și funcției biochimice, moleculare și fiziologice) precum și la nivel populațional (modificarea numărului de indivizi, modificarea frecvenței genelor, modificarea funcției întregului ecosistem)*.
- înregistrarea toxicității individuale a substanțelor toxice: doza, concentrații cu teste standard sau prin sisteme complexe;
- evaluarea hazardului sau riscului pentru un anumit toxic (pe baza datelor despre toxicitate);
- evaluarea potențialului general de tulburări (modificări) în ecosistem;
- elaborarea măsurilor de „terapie” (*redresare*); luarea de măsuri preventive față de risc și analiza acestora.

PROFILUL XENOBIOTIC

Substanțele străine în mediu (apa, sol, aer și organisme vii), sub forma (starea de agregare) care să le permită să intre în interacțiuni fizico-chimice și chimice cu obiecte biologice a ecosistemelor constituie profilul xenobiotic a biocenozii. În această listă de substanțe sunt incluse și materialele radioactive.

Profilul xenobiotic ar trebui considerat ca fiind unul dintre cei mai importanți factori de mediu (împreună cu temperatura, lumina, umiditatea, troficitatea, ș.a., caracteristicile calitative și cantitative) ([Katrin Franke Bader, 2012](#)).

Elementele importante ale profilului xenobiotic sunt și substanțele xenobionte în organele și țesuturile organismelor vii, pentru că toate sunt consumate de către alții, mai devreme sau mai târziu.

În schimb, produsele chimice care sunt fixate în solid, nedispersate în obiecte din aer și apă, insolubile (piatra, diferite solide, sticlă, plastic solid, etc.), nu pot fi considerate drept componente ale profilului xenobiotic.

Prezintă interes numai substanțele bio-disponibile, care interacționează asupra organismelor vii în mod non-mecanic. Acestea sunt în stare gazoasă sau lichidă, sub formă de soluții apoase, adsorbite pe particule de sol, solide, și sub formă de praf fin dispersat (< 50 micrometri).

CELE MAI FRECVENTE COMPONENTE ALE PROFILULUI XENOBIOTIC ȘI ROLUL LOR

➤ **Oxigenul** nu este practic un poluant în adevăratul sens al cuvântului, dar poate influența sănătatea prin scăderea concentrației lui în aer și prin scăderea presiunii atmosferice, efectul fiind determinat de scăderea presiunii parțiale la nivelul alveolei pulmonare, alterarea schimbului de gaze. **Oxigenul și bioxidul de carbon** (O_2 și CO_2) sunt determinante în procesul de oxigenare a sângelui. Fenomenele specifi-

ce care apar sunt fenomene de hipoxie sau anoxie, gravitatea lor fiind dependentă de gradul de scădere a presiunii parțiale.

- **Ozonul** se găsește în mod natural în componența atmosferei formând datorită concentrației crescute un adevărat strat în atmosfera înaltă a Pământului. Acest strat sau „**pătura de ozon**” are un important rol ecologic la nivel global datorită calității sale de a ecrana radiația din sectorul ultraviolet al spectrului luminii solare.

Concentrația ozonului în atmosfera respirabilă este în mod normal destul de redusă fiind variabilă în funcție de condițiile geografice care determină o incidență și o intensitate diferită a radiațiilor ultraviolete. Astfel, în zonele aride concentrația medie a ozonului este de aproximativ 15 părți per milion (ppm), în timp ce în zonele situate la altitudini mai mari poate ajunge la valori de peste 100 ppm.

Cercetări recente au demonstrat că expunerea organismului uman la concentrații crescute de ozon determină afectarea ochilor, căilor respiratorii și procesul de respirație în ansamblu. Efectele sunt mai puternic resimțite de organismele tinere.

- **Dioxidul de carbon** nu produce tulburări ale organismului uman, decât în situațiile în care este împiedicată trecerea gazului din sângele venos în alveola pulmonară și eliminarea lui prin aerul expirat. De fapt fenomenele toxice apar în momentul în care presiunea parțială a CO_2 din aer crește atât de mult încât împiedică eliminarea acestuia.

Inițial apare o creștere a CO_2 din sânge mai puțin datorită pătrunderii lui din aerul exterior, cât din cauza autointoxicării organismului. Pe măsură ce crește concentrația în aerul atmosferic, intervine și solubilizarea lui în plasma sanguină datorită presiunii parțiale crescute.

Primele tulburări apar în jurul concentrației de 3%, manifestate prin tulburări respi-

ratorii (accelerarea respirației, apare apoi cianoza, urmată de tulburări respiratorii și circulatorii).

- **Dioxidul de sulf (SO_2)** produce iritarea mucoaselor și dilatarea bronhiolilor. În contact cu sângele formează sulfhemoglobina care imprimă sângelui o culoare roșu-brună. De asemenea, dioxidul de sulf poate deregla activitatea de sinteză a acizilor nucleici rezultând aberații cromozomiale, scăderea ritmului de creștere. Efectele nocive care se produc asupra omului în legătură cu concentrația de SO_2 din aerul atmosferic sunt bine cunoscute, privind afectarea procesului respiratoriu.

Dioxidul de sulf se află în mod natural în atmosferă în concentrații extrem de scăzute, de până la 0,2 ppm, activitatea vulcanică fiind principala sursă de dioxid de sulf. Principalele surse de poluare cu dioxid de sulf sunt dependente de activitatea umană și reprezentate mai ales de activitățile care presupun arderea combustibililor fosili. Estimările arată că emisiile de SO_2 în atmosferă pot atinge cifra de 145 milioane tone anual, valoare care include cantitățile datorate arderii cărbunilor (70%) și a altor combustibili (16%), restul procentelor fiind asigurate de activități industriale metalurgice (prelucrarea a 1000 t zăcământ cuprifera înseamnă eliberarea a 600 t dioxid de sulf).

Concentrațiile SO_2 în atmosfera orașelor industrializate variază de la caz la caz, având însă o valoare medie de 0,17 - 2 ppm, fapt ce trebuie să devină îngrijorător, deoarece expunerea pe termen lung a organismelor homeoterme, inclusiv a omului, la concentrații mai mari de 0,1 ppm de dioxid de sulf în aer poate induce afecțiuni grave.

- **Hidrogenul de sulfurat (H_2S)** intră în mod normal în componența atmosferei ca urmare a unor procese de fermentație produse în absența oxigenului (anaerobioza) în care sunt implicate microorganisme

specifice atât mediului terestru cât și celui acvatic.

Cantitatea de hidrogen sulfurat produsă în acest mod de către bacterii este estimată anual la valori de 68 milioane tone pentru mediul terestru și 30 milioane tone în mediul acvatic. Tot în mod natural, dar ca urmare a activității vulcanice, o cantitate importantă de H₂S este eliminată permanent în atmosferă.

S-a estimat că în urma activităților industriale implicate în producerea derivaților sulfului sau prelucrarea unor minereuri cu conținut de sulf se eliberează anual în aer circa 3 milioane de tone echivalent sulf.

Se cunoaște faptul că în zonele geografice considerate nepoluate concentrația considerată normală a acestui gaz în atmosferă este de aproximativ 2 ppm. Eliminarea acestui poluant foarte toxic din atmosferă se produce în mod natural prin procese chimice complicate care determină oxidarea hidrogenului sulfurat prin producerea de dioxid de sulf.

Acest gaz pătrunde în organism pe căile respiratorii iar efectele sale se resimt atât la expunerea pe termen scurt cât și la expunerea pe termen mediu sau mai îndelungat, fiind legate de afectarea respirației.

Se observă o mare variabilitate a sensibilității indivizilor umani la acțiunea hidrogenului sulfurat dar, în principiu, în funcție de cantitatea inhalată, efectele sunt reprezentate de constricția bronhiilor, apariția bronșitelor și chiar a spasmului bronhic. Efectul este mai sever la organismele tinere.

➤ **Azotații și azotiții** pot provoca efecte nocive asupra omului prin intoxicație, fenomen care se produce prin intermediul alimentelor și a apei de băut. Conform normelor igienice din Republica Moldova, apa potabilă poate avea un conținut de azotați de cel mult 45 mg/litru și nu se admite prezența azotiților decât în mod excepțional în cantitate de 0,3 mg/litru în apele subterane până la 60 m adânci-

me. Apa devine suspectă la 50 mg azotați/litru și toxică la 1 g/litru. Calea cea mai frecventă de intoxicare a omului este cea digestivă. În tubul digestiv azotații suferă o serie de transformări succesive până la amoniac. Aceste transformări sunt efectuate sub influența florei bacteriene și a unor enzime.

Toxicitatea azotaților și a compușilor rezultați din metabolizarea acestora se manifestă la început chiar în tubul digestiv prin efecte iritante și congestive asupra mucoaselor digestive. Apoi, acțiunea iritantă se manifestă asupra rinichiului prin congestii și hemoragii.

După pătrunderea în circuitul sanguin, azotații și azotiții acționează paralizant asupra centrilor vasomotori și a venelor, îndeosebi asupra celor de calibru mic, provocând vasodilatație și hipotensiune.

Acești compuși ai azotului au influențe negative asupra glandelor endocrine, asupra hipofizei, dar mai ales asupra tiroidei. Azotații și metabolizii săi induc o stare de hipotiroidism.

➤ **Fosfații** pot provoca efecte poluante ce se manifestă direct asupra omului prin apariția intoxicațiilor. La creșterea gradului de toxicitate contribuie și unele "impurități" pe care le conțin superfosfații, dintre care cel mai important este fluorul. Fosforul împreună cu fluorul au un efect iritant asupra mucoasei tubului digestiv.

➤ **Pesticidele** - reprezintă cea mai mare grupă ale substanțelor xenobiotice (Rathore & Nollet, 2012; <http://npic.orst.edu/factsheets/ecotox.pdf>) care, după felul în care pătrund în organism și după caracterul acțiunii nocive, se împart în:

- *produse de ingestie* (pătrund în organism odată cu hrana),
- *produse de contact* (acționează prin atingere cu tegumentul),
- *produse de respirație* (care acționează prin intermediul aparatului respirator).

- **Insecticidele organofosforice** au în general acțiune de contact și ingestie și mai rar de respirație. Prezintă o acțiune toxică puternică a *sistemului nervos modificând transmiterea influxului nervos, apărând spasme, convulsii și moarte*.
- **Nematocidele și moluscocidele** sunt pesticide cu toxicitate ridicată care se aplică pe sol. Acționează prin ingestie și contact. Efectele cronice ale intoxicațiilor cu pesticide se observă cel mai adesea asupra ficatului și a sistemului nervos. Deoarece ficatul este organul cel mai important care metabolizează pesticidele, el este cel mai lezat (traumatizat, afectat).
- **Metale-macro și metale-urme** sunt cele mai conservative și persistente substanțe ecotoxice, rolul cărora este multilateral de la cele esențiale pentru viață- pînă la cele extrem de toxice. Influența macro- și micrometalelor este în dependență de proprietățile lor fizico-chimice, cantitatea, forma de migrație, factorii de mediu (temperatura, umiditatea, pH, procesele de oxido-reducere ș.a.) și nu în ultimul rând starea și procesele metabolice în organisme vii supuse influenței.

MODIFICAREA PROFILULUI XENOBIOTIC

În ultimii ani, activitățile umane, au modificat deseori în mod semnificativ profilul xenobiotic natural în multe regiuni (în special urban și industrial).

Substanțele chimice care se acumulează în mediu, în cantități neobișnuite, contaminează profilul xenobiotic în care se concentrează așa numiții ecopoluanți și xenobiotici (Katrin Franke Bader, 2012).

Schimbarea profilului xenobiotic poate avea loc ca rezultat al acumulării excesive în mediu a unuia sau mai multor poluanți, însă nu întotdeauna acesta aduce la consecințe dezastruoase pentru viață.

Numai ecopoluanții acumulați într-o cantitate suficientă pentru a iniția un proces toxic în biocenoză (la orice nivel de organizare a materiei vii) pot fi desemnați ca ecotoxici (Harris et al., 2014).

Una dintre cele mai mari probleme practice a ecotoxicologiei este determinarea parametrilor cantitativi pentru care ecopoluantul se transformă în ecotoxicant.

COMPONENTELE DE BAZĂ A PROFILULUI XENOBIOTIC

Ecotoxiciții - substanțe toxice stabili în condiții naturale care să acumulează în organisme până la cantități toxice sau sunt dăunătoare pentru viață (produsele petroliere, metale grele, biotoxine microbiene ș.a.).

Xenobionții - substanțe care nu există în natură și sunt sintetizate de oameni, care provoacă inhibarea proceselor vitale sau pot deveni cauza intoxicării organismelor vii și, în ultimă instanță, a omului (pesticide, produse farmaceutice, detergenți, coloranți și alte substanțe sintetice, inclusiv medicamentele obținute din plante și organisme).

Poluanții principali

Există foarte multe clasificări ale poluanților în dependență de toxicitate, proveniență, componență chimică, etc. (Ciubotaru, 2003; Yufit, 2002).

Ciclurile biogeochimice includ acum o listă mare de compuși sintetici necunoscuți mediului natural virgin. Acestea includ, în special, un grup mare de substanțe unite de termenul general “pesticide”, “fenoli și derivații lor”, “freoni”, “dioxine”, “benzopireni”, etc.

Din pozițiile geochimice clasice, noțiunea de **poluare** înseamnă o modificare a proprietăților chimice ale mediului, care nu sunt asociate cu procesele naturale. Atunci când se utilizează acest termen, semnificația biomedicală se introduce cel mai adesea atunci când **poluarea** este luată în considerare din

punctul de vedere al afectării sănătății umane (Hoffman et al., 2003).

În acest caz, poluarea înseamnă orice modificare a aerului, a apei, a solului și a produselor alimentare care are efecte nedorite asupra sănătății, supraviețuirii sau activității umane.

Severitatea (gradul) expunerii la poluanți este determinată de trei factori:

Primul factor este natura poluanților toxici, adică cât de active și dăunătoare sunt substanțele testate pentru oameni, plante și animale;

Al doilea factor este concentrația poluanților, adică conținutul pe unitate de volum sau masă de aer, apă sau sol;

Al treilea factor este durabilitatea/persistența substanței, sau durata existenței în aer, apă și sol.

Scara poluării este împărțită după locație:

- conform *sursei de poluare* (în jurul întreprinderilor industriale, ferme zootehnice, depozite de petrol, etc.);
- în corespondență cu *regiunile geografice și statale* (în regiune, bazinul unei regiuni, republică, stat);
- în conformitate cu *spațiul* (în spațiul cosmic - de exemplu, nivelul de deșeuri de aeronave, etc.).

Sursele de poluare sunt împărțite în funcție de proveniența poluanților. Toate sursele de emisii industriale cât și deversarea apelor reziduale sunt *puncte focale* (surse punctiforme) de poluare, în timp ce *sursele difuze* sunt asociate cu agricultura, chimizarea, scurgerile de suprafață din zonele poluate, etc.

La evaluarea impactului poluării asupra mediului natural este necesar să se facă distincție între efectele *primare*, *secundare* și cele *indirecte* (de exemplu, impactul direct al emisiilor de la o instalație metalurgică sau chimică provoacă efectul primar al pierderii vegetației în imediata vecinătate, până

la distrugerea completă a solului (efect indirect)).

Prin natura formării, sursele de poluare sunt împărțite în *naturale și produse formate prin activitatea umană*. Poluarea naturală este cauzată de existența poluantului în roci și soluri nepoluate (de exemplu fluorul, seleniul în apele subterane sau mercurul, molibdenul în rocile din Asia Centrală). Aici se formează zonele endemice de concentrații sporite a unora sau altora dintre ecotoxiciți în mediul înconjurător.

În procesul de poluare naturală, într-un concept mai restrâns se includ și procesele naturale catastrofale - o puternică erupție vulcanică, alunecările de teren, etc., precum și poluarea geochimică, care a apărut în procesul de formare și dezvoltare a planetei noastre. Aceste procese pot fi atât pozitive, cât și negative. În primul caz, există un exces de element într-o anumită localitate, iar în al doilea, există o deficiență (ca exemplu - excesul de fluor, seleniu și deficitul de iod în apele subterane din Moldova).

Poluarea cauzată de activitățile umane, numită antropogenă

Activitățile umane sunt împărțite în *industriale* (metalurgie, coxochimie, chimică, farmaceutică, alimentară, etc., cauzate de o singură întreprindere sau întreaga industrie), *agricole* (care rezultă din aplicarea îngrășămintelor, pesticidelor, erbicidelor și a altor substanțe toxice, deșeurile de animale și de producție agricolă) și *militare* (chimice, radioactive).

Prin natura lor, toate tipurile de poluare se reflectă prin efecte fizice (inclusiv mecanice, radioactive, magnetice), fizico-chimice, chimice și biologice (Panin & Bezel, 2008; Kaplin, 2006).

Poluarea fizică este asociată cu modificări ale factorilor fizici de mediu, cum ar fi: temperatura - poluarea termică; parametrii de undă - poluarea electromagnetică; zgomotul

- poluarea fonică; parametrii radiației - contaminarea radioactivă.

Singura formă de poluare **fizico-chimică** este poluarea cu aerosoli, adică poluarea aerului cu substanțe lichide fine și solide; un exemplu al acestei forme de poluare este smogul industrial sau doar fumul.

Pătrunderea în mediu a substanțelor chimice, care lipsesc inițial din acest mediu sau care modifică concentrația naturală la un nivel peste rata normal, este denumită **poluare chimică** (metale grele, pesticide, săruri, detergenți, policloruri, bifenili, benzopireni, dioxine, coloranți, substanțe farmaceutice etc.)

Poluarea biologică este asociată cu introducerea în mediu și reproducerea în acesta a unor organisme alogene, precum și cu substanțele eliminate de microorganisme (sunt cele mai toxice, cunoscute de mii de ani în urmă), de plante (în perioada înfloririi - substanțe alergene), produse de descompunere a organismelor vii, diferiți viruși și microorganisme patogene.

Printre sursele naturale de xenobiotice bi-disponibile, potrivit **OMS**, sunt incluse: particulele de praf purtate de vânt, sarea de mare, aerosolii, activitatea vulcanică, incendiile forestiere, particulele biogene ale nutrienților volatili (**WHO. Promotion of Chemical Safety Unit & International Programme on Chemical Safety, 1992**).

Majoritatea deșeurilor sunt generate în orașe, în care locuiește cea mai mare parte a populației lumii, și este concentrată cea mai mare parte a diverselor sectoare industriale. Fluxurile antropogene materiei formate în timpul activităților de producție ale populației urbane este extrem de diversă, conțin concentrații ridicate de gama mare de elemente chimice, inclusiv toxice (**Ballschmiter & Zell, 1980**).

Prin implicarea în cicluri de migrație naturală, fluxurile antropice conduc la răspândirea rapidă a poluanților în componentele peisajului urban, unde interacțiunea lor cu oamenii este inevitabilă (**Izrael, 1984**).

Un impact semnificativ asupra procesului de poluare a mediului îl au acțiunile militare. Ca urmare a celui de-al doilea război mondial, mii de tone de metale au fost stocate pe câmpurile de luptă. În 1999, în urma unei operațiuni militare a NATO (**ECETOC, 2021**) (<https://moldova.europalibera.org/a/dou%C4%83-de-cenii-de-la-decizia-nato-de-a-intervenii-militar-%C3%AEn-serbia/29508829.html>).

Astfel, la scară relativ mică în Iugoslavia, s-a constatat creșterea poluării aerului, apei și solului în Serbia atât prin consumul acestor elemente toxice - plumb (Pb), cadmiu (Cd), arsenic (As) și mercur (Hg) - dar și din cauza calității necorespunzătoare a produselor alimentare importate sau primite în scopuri umanitare. Potrivit efectului general al forțelor asupra mediului în timp de pace, acesta este comparabil cu efectul unei industrii de mărime medie (aproximativ 4% din totalul deversărilor apelor uzate, și 1,2% din emisii).

Ecotoxicologia este divizată în trei compartimente:

- **Ecotoxicocinetica** investighează soarta ecotoxicanților și substanțelor xenobiotice în mediul înconjurător (sursa/originea, distribuția în elementele abiotice și biotice ale mediului, transformarea și eliminarea din mediul înconjurător);
- **Ecotoxicodinamica** examinează mecanismele specifice de dezvoltare și formele de manifestare a procesului toxic cauzate de acțiunea ecotoxicanților și substanțelor xenobiotice asupra biocenozelor și / sau a populației, precum și asupra componentelor acesteia;
- **Ecotoxicometria** analizează tehnicile metodologice de evaluare a ecotoxicității poluanților.

1.2. ECOTOXICINETICA

Ecotoxicinetica este o direcție de bază a ecotoxicologiei care cercetează procesele care determină difuzarea xenobioticelor și ecopoluantilor în mediul ambiant, și anume:

- sursele de apariție a acestora;
- distribuirea în elementele de mediu abiotice și biotice;
- conversia/transformarea xenobioticelor în mediu;
- eliminarea acestora din mediu.

Dintre **sursele ecotoxicanților** biodisponibili, potrivit OMS (WHO, 1992) sunt: *particule de praf, săruri de mare aduse de vânt, activitatea vulcanică, incendii forestiere, particule biogene, substanțe volatile biogene*. Însă, cea mai **periculoasă sursă de xenobiotice în mediu**, a cărei magnitudine este în continuă creștere, este activitatea umană.

Printre substanțele persistente în mediu sunt incluși ecotoxicanții, dintre care metalele grele și elementele urmă - aflate în concentrații la nivel de părți per milion (ppm) - formează una din cele mai numeroase grupe de ecotoxicanți (plumb, cupru, zinc, nichel, cadmiu, cobalt, antimoniu, mercur, arsenic, crom, vanadiu, molibden, seleniu, strontiu, bor, bismut, beriliu ș.a.), și substanțele xenobiotice - hidrocarburi policiclice, dioxine și benzofurani, bifenili policlorurați, pesticide - în special clororganice (DDT, hexaclor, aldrin, lindan etc.), produse farmaceutice, detergenți, coloranți, și multe alte substanțe.

Substanțele obținute prin sinteză chimică, care de regulă sunt destul de rezistente la distrugere, fiind persistente în mediu, sunt cele mai periculoase substanțe (Tabelul 1.1).

Eliberarea în mediu a poluanților persistenti duce la acumularea lor, fiind partea cea mai vulnerabilă (sensibilă) a ecosistemelor. După încetarea eliberării toxicelor persistente, acestea rămân în mediu pentru o perioadă lungă de timp. Astfel, în apele lacului Ontario, s-au determinat în anii 1990 concentrații ridi-

cate ale pesticidului Mirex, a cărui utilizare a fost întreruptă la sfârșitul anilor 1970.

Tabelul 1.1. Perioada de de înjumătățire al unor xenobiotice (Kutsenko, 2002)

Xenobionți	Timpul de înjumătățire	Substrat
DDT	10 ani	Sol
TCDD	9 ani	Sol
Atrazină	25 luni	Apă (pH 7,0)
Fenantren	138 zile	Sol
Carbofurani	45 zile	Apă (pH 7,0)
Fosfortiozoline	21 zile	Sol (t + 15°)
Iperită	7 zile	Sol (t + 15°)
Sarin	4 ore	Sol (t + 15°)

În ecosistemele acvatice de testare în Florida, în perioada 1962-1964 a fost pulverizat în scopuri de cercetare Agentul Orange, care timp de 10 ani a fost observat în cantități de 10-35 ng/kg (CLA în SUA fiind de 0,1 pg/kg) (Lysenko & Dogadina, 2015).

PROCESELE DE ELIMINARE A POLUANȚILOR PRIN PROCESELE NEDISTRUCTIVE

Procesele de evaporare și diluare. Unele procese care apar în mediul înconjurător contribuie la eliminarea xenobioticelor din regiune, schimbând distribuția acestora în componentele de mediu. Un poluant cu o presiune ridicată a vaporilor se poate evapora cu ușurință din apă și din sol și apoi poate migra în alte regiuni sub acțiunea curenților de aer. Acest fenomen subliniază distribuția omniprezentă a insecticidelor organoclorinate relativ volatile, cum ar fi lindanul și hexaclorbenzenul (Katrin Franke Bader, 2012; Panin & Bezel, 2008).

Eliminarea sub influența vântului și a curenților atmosferici. Antrenarea de către vânt și curenții atmosferici a particulelor toxice sau de sol pe care sunt adsorbite substanțele este, de asemenea, o modalitate importantă de redistribuire a poluanților în mediu.

În acest sens, este caracteristic exemplul hidrocarburilor aromatice policiclice (benzopiren, dibenzopiren, benzantracen, dibenzantracen, etc.). Benzopirenul și compușii înrudiți, atât de origine naturală (preponderent vulcanică), cât și antropică (emisiile din industria metalurgică, industria de rafinare a petrolului, termocentrale etc.), sunt implicați activ în circulația biosferică a substanțelor, trecând de la un mediu la altul. În acest caz, de regulă, aceștia sunt asociați cu particule solide de praf atmosferic.

Praful (1-10 μm) este conservat pe termen lung în aer iar particulele de praf mai mari se depun suficient de repede pe sol și în apa de la locul de formare. Mai mult, cu cât este mai intensă emisia, cu atât poluanții sunt mai dispersați.

Absorbția substanțelor pe particule în suspensie în apă, urmată de precipitare, duce la eliminarea lor din straturile apei însă crește acumularea sau nivelul lor în sedimente.

Redistribuirea substanțelor solubile în apă depinde de caracterul ploilor și circulația apelor subterane. De exemplu, atrazina erbicidă, utilizată pentru a proteja plantele de pădure în fermele rurale și parcurile din Statele Unite, este detectată practic permanent în apele de suprafață. Potrivit unor investigații, până la 92% din corpurile de apă studiate din SUA conțin acest pesticid. Deoarece substanța este suficient de stabilă și ușor de solubilă în apă, aceasta migrează în apele subterane și se acumulează acolo.

TRANSFORMAREA ȘI DESTRUGEREA ABIOTICĂ

Un număr mare de procese afectează persistența unor substanțe în mediul înconjurător. Principalele procese sunt fotoliza (distrugerea sub influența luminii), hidroliza (distrugerea sub influența apei) și oxidarea (distrugerea sub influența proceselor de oxidare-reducere) (Vergeichik, 2009).

Fotoliza. Lumina (în special razele ultraviolete) distruge legăturile chimice și, astfel, substanțele chimice se descompun. Fotoliza are loc în principal în atmosferă și pe suprafața solului și a apei. Rata fotolizei depinde de intensitatea luminii și de capacitatea substanței de a o absorbi. Compușii aromatici nesaturați, cum ar fi hidrocarburile aromatice policiclice (HAP), sunt cei mai sensibili la fotoliză, deoarece absorb energia luminoasă. Lumina accelerează alte procese de degradare a substanțelor - hidroliza și oxidarea. La rândul lor, prezența fotooxidanților în mediu, cum ar fi ozonul, oxizii de azot, formaldehida, acroleina, peroxizii organici, accelerează semnificativ procesul de fotoliză a altor poluanți.

Hidroliza. Apa, mai ales când este încălzită, distruge rapid multe substanțe. Legăturile esențiale, de exemplu în moleculele de compuși organofosforici, sunt foarte sensibile la acțiunea apei, ceea ce determină rezistența moderată a acestor compuși în mediu.

Rata de hidroliză este dependentă în mare măsură de valorile pH. Ca rezultat al transformării substanțelor chimice în mediul înconjurător, se formează noi substanțe. Cu toate acestea, toxicitatea acestora poate fi uneori mai mare decât cea a agentului inițial. Transformările fotochimice din mediul înconjurător al acidului 2,4,5-triclorfenoxiacetic, un erbicid bine cunoscut, pot conduce la formarea unui poluant și mai periculos - 2,3,7,8-tetraclorobibenzo-p-dioxină (TCDD).

Un alt exemplu bine cunoscut este **formarea compușilor nitrozo** (Vergeichik, 2009). Astfel, potrivit oamenilor de știință, în sol (într-un mediu acid), un număr de pesticide se asociază ușor cu nitriții. Printre aceștia se numără dialchiltiocarbamații, disulfurile de tiocarbamoil, sărurile acidului fenoxiacetic, etc. Compușii nitrozozii care rezultă sunt în prezent considerați ca fiind posibile substanțe carcinogene.

Oxidarea. Prezența fotooxidanților în mediu, cum ar fi ozonul, oxizii de azot, for-

maldehida, acroleina, peroxizii organici, accelerează semnificativ procesul de fotoliză. Descompunerea unor xenobiotice în procesul de oxidare diminuează toxicitatea lor în ecosistemele acvatic.

TRANSFORMAREA BIOTICĂ

Distrușgerea abiotică a substanțelor chimice are loc, de obicei, la viteză mică. Xenobioticele se degradează semnificativ mai repede cu participarea biotei, în special a microorganismelor (în principal bacterii și ciuperci), care le utilizează ca substanțe nutritive.

Procesul de distrușgere biotică are loc cu participarea enzimelor. Transformările biologice ale substanțelor se bazează pe procesele de oxidare, hidroliză, dehalogenare, scindarea structurilor ciclice ale moleculei, scindarea radicalilor alchil (dealchilare) etc.

Degradarea unui compus poate fi completă cu distrușgerea completă, adică mineralizarea (formarea apei, a dioxidului de carbon și altor compuși simpli). Este de asemenea posibilă formarea de produse intermediare de biotransformare a substanțelor cu toxicitate uneori mai mare decât agentul original (Perminova et al., 2020).

Astfel, transformarea compușilor de mercur anorganici poate conduce la formarea compușilor de organo-mercur mai toxici, în special metilmercur. Un fenomen similar a avut loc în perioada 1950-1960 în Japonia, pe malul golfului Minamata, considerat ca unul dintre cele mai grave catastrofe ecologice având cauze umane.

BIOACUMULAREA

Multe substanțe toxice se acumulează în corpul animalelor și plantelor, îndeosebi în organismele acvatice. Procesul prin care organismele acumulează toxine, eliminându-le din faza abiotică (apă, sol, aer) și din nutriție (prin lanțul trofic), se numește bioacumulare. Bioacumularea are consecințe negative atât

pentru organismul însuși (atingerea unei concentrații dăunătoare în țesuturile critice), cât și pentru organismele care folosesc această specie ca hrană.

Mediul acvatic oferă cele mai bune condiții pentru bioacumularea compușilor. Aici există miriade de organisme acvatice, care filtrează apa și acumulează o cantitate imensă de substanțe diluate în apă până la nivel toxic. Hidrobionții acumulează substanțe în concentrații uneori de mii de ori mai mari decât cele conținute în apă (Zubcov et al., 2012, 2013a,b).

Un exemplu de lanț trofic acvatic, în direcția măririi dimensiunilor corpului, este: substanțe dizolvate - fitoplancton - nevertebrate planctonice - nevertebrate bentonice - pește - păsări de pradă - animale poikiloterme care se hrănesc cu pește.

Dacă substanțele străine sunt consumate și dacă aceste substanțe nu pot fi "digerate" sau pur și simplu eliminate din organism, ele încep să se acumuleze de-a lungul lanțului trofic, mai ales dacă substanța are un timp biologic de înjumătățire lung.

Rata de acumulare a otrăvurilor care nu se descompun în majoritatea cazurilor este de aproximativ 10 pentru fiecare etapă a lanțului alimentar. În plus, acumularea substanțelor toxice în lanțurile trofice este adesea sporită datorită răspunsului mai lent și a mobilității limitate a animalelor care acumulează aceste substanțe, deoarece indivizii mai otrăviți devin pradă mai ușor pentru prădători decât toate celelalte componente ale lanțului trofic.

Ca urmare, în lanțul trofic al ecosistemului acvatic, cel mai mare conținut de substanțe toxice este deseori observat în peștii detritofagi și răpitori. Substanțele otrăvitoare din pești nimeresc în corpul păsărilor răpitoare, pinipedelor, precum și, nu în ultimul caz, prin produsele piscicole în corpul oamenilor.

Factorii care afectează bioacumularea

Tendința bioacumulativă al ecotoxicanților depinde de o serie de factori. Prima este persistența xenobioticilor în mediul înconjurător. Gradul de acumulare a unei substanțe în organism este în cele din urmă determinat de conținutul său în mediu. Substanțele eliminate rapid, în general se acumulează insuficient în organism. O excepție sunt condițiile în care poluantul este introdus constant în mediul înconjurător (regiuni în apropierea industriilor etc.). Spre exemplu, acidul cianuric, care este un compus extrem de toxic, datorită volatilității sale ridicate nu este, în opinia multor experți, o substanță potențial periculoasă.

Cu toate acestea, până în prezent nu a fost posibilă excluderea totală a faptului că anumite tipuri de boli, tulburări de sarcină la femeile care locuiesc în apropierea întreprinderilor miniere de aur, unde cianurile sunt eliminate în cantități mari, nu sunt asociate cu acțiunea cronică a acestei substanțe. După ce substanțele intră în organism, soarta lor este determinată de procesele **toxicocinetice**. Substanțele solubile (lipofile), metabolice lent în organism, au cea mai mare capacitate de bioacumulare.

Țesutul adipos, ca regulă, este principalul loc de depunere pe termen lung a xenobioticilor. Astfel, la mulți ani după expunere, niveluri ridicate de Agentul Orange s-au găsit în țesutul adipos și plasma de sânge a veteranelor Armatei SUA și a participanților la războiul din Vietnam.

Multe substanțe lipofile sunt predispuse la sorbție pe suprafețele diferitelor particule precipitate din apă și aer, ceea ce le reduce biodisponibilitatea. De exemplu, sorbția benzopirinei cu acizi humici reduce capacitatea de a se bioacumula în țesuturi de pește și diminuează toxicitatea de trei ori. Peștii din iazuri cu un conținut redus de particule suspendate în apă acumulează mai mult DDT de-

cât peștii din iazurile eutrofice cu un conținut ridicat de substanțe în suspensie.

Substanțele care se metabolizează în organism se acumulează în cantități mai mici decât s-ar putea aștepta, pe baza proprietăților lor fizico-chimice. Diferențele inter-specifice în valorile factorilor de bioacumulare ale xenobioticilor sunt în mare măsură determinate de speciile particulare ale metabolismului lor.

Importanța bioacumulării. Bioacumularea poate sta la baza nu numai a efectelor toxice acute cronice, ci și întârziate. Astfel, pierderea rapidă de grăsime, în care se acumulează o cantitate mare de substanță, duce la eliberarea unui produs toxic în sânge. Mobilizarea țesutului adipos la animale este adesea observată în timpul sezonului de reproducere. În regiunile nefavorabile din punct de vedere ecologic, acest lucru poate fi însoțit de moartea în masă a animalelor atunci când ajung la maturitatea sexuală.

Poluanții persistenți acumulați pot fi, de asemenea, transmiși puilor, păsărilor - cu conținutul sacului de gălbenuș, peștilor - prin conținutul icrelor, și la mamifere - prin laptele matern. În acest caz, descendenții pot dezvolta efecte care nu se manifestă la părinți (Katagi, 2010).

BIOAMPLIFICAREA

Produsele chimice pot circula prin lanțuri de la organisme victime la organisme de consum. Pentru substanțele cu grad ridicat de lipofilie, această migrație poate fi însoțită de o creștere a concentrației toxice din țesuturile fiecărui organism ulterior al lanțului trofic. Acest fenomen se numește **biomagnificare** sau **bioamplificare** (Gobas et al. 1999; Kutsenko, 2002).

Este cunoscut faptul că DDT a fost folosit pentru a ucide țânțarii pe unul dintre lacurile din California. După prelucrare, conținutul de pesticid în apă a fost de 0,02 ppm. După o anumită perioadă de timp în plancton, DDT a

fost determinat la o concentrație de 10 ppm, în țesuturile peștilor care consumă planctonul - 900 ppm, în peștii prădători - 2700 ppm, iar păsările care au consumat pește au acumulat 21000 ppm. Conținutul de DDT în țesuturile de păsări care nu au fost direct afectate de pesticide a fost de 1.000.000 de ori mai mare decât în apă și de 20 de ori mai mare decât în prima treaptă a lanțului trofic.

În cartea "Silent Spring", [Rachel Carson \(1962\)](#) oferă un astfel de exemplu. Pentru a combate purtătoarea "bolii olandeze" care afectează ulmii - gândacul European de scoarță de ulm *Scolytes multistriatus* - copacii au fost tratați cu DDT. O parte din pesticid a ajuns în sol, unde a fost absorbit de răme și s-a acumulat în țesuturi. Păsările migratoare, care mănâncă în cea mai mare parte răme, au acumulat acest pesticid. Unele dintre acestea au murit, la altele a fost afectată funcția de reproducere, ele depunând ouă sterile. Ca rezultat, lupta împotriva bolilor copacilor a condus la dispariția aproape completă a păsărilor în numeroase regiuni din SUA.

1.3. ECOTOXICODINAMICA

Ecotoxicodinamica este un compartiment al ecotoxicologiei axat pe descifrarea unor mecanisme specifice și procese toxice cauzate de acțiunea toxinelor asupra comunităților organismelor și/sau asupra biocenozelor. Mecanismele prin care substanțele pot provoca efecte adverse în biogeocenoză sunt numeroase dar unice în fiecare caz. Cu toate acestea, ele pot fi clasificate. Astfel, putem evidenția acțiunea directă, indirectă și mixtă a ecotoxicanților.

➤ **Acțiunea directă - este pierderea directă a organismelor uneia sau a mai multor populații din cauza unora sau mai multor ecotoxicanți sau xenobionți ai unui profil xenobiotic.**

Mecanismul acțiunii directe a substanțelor toxice conduce la moartea în masă a reprezentanților speciilor sensibile. Utilizarea pesticidelor eficiente conduce la moartea în masă a dăunătorilor: insecte (insecticide) sau buruieni (erbicide). Acest efect ecotoxic creează o strategie pentru utilizarea substanțelor chimice. Cu toate acestea, în unele cazuri există fenomene negative asociate. De exemplu, în Suedia, în anii 1950-1960, metil mercuriducyanamida a fost utilizată pe scară largă pentru tratarea culturilor de semințe. Concentrația de mercur din cereale a fost mai mare de 10 mg/kg. Păstrarea periodică a semințelor tratate de către păsări a dus la faptul că, după câțiva ani, s-a observat moartea masivă a fazanilor, porumbeilor, potârnicilor și a altor păsări care au mâncat semințe de cereale și s-au intoxicat cu mercur la nivel cronic.

La evaluarea situației de mediu, este necesar să se țină seama de legea fundamentală a ecotoxicologiei: ***sensibilitatea diferitelor tipuri de organisme vii la substanțele chimice este întotdeauna diferită***. Prin urmare, apariția poluantului în mediu, chiar și în cantități mici, poate fi în detrimentul reprezentanților speciilor celor mai sensibile. Ca exemplu, clorura de plumb ucide dafnia în timpul zilei când este conținută în apă într-o concentrație de aproximativ 0,01 mg/l, însă aceste cantități prezintă un risc scăzut pentru alte specii ([Kutsenko, 2002](#)).

➤ **Acțiunea indirectă - reprezintă situația în care profilul xenobiotic sau unele componente abiotice ale mediului nu mai sunt optime pentru existența populației, ca urmare ea nu se mai dezvoltă.**

Acțiunea indirectă a xenobioticelor conduce la dezvoltarea stărilor abiotice și a formelor speciale ale procesului toxic. La sfârșitul anilor 1980, aproximativ 18 mii de foci au murit în Marea Baltică, în Marea Nordului și în Irlanda ca urmare a infecțiilor vira-

le. În țesuturile animalelor moarte a fost găsit un conținut ridicat de bifenili policlorurați (PCB). Se știe că PCB-urile, ca și alți compuși care conțin clor, cum ar fi DDT, hexaclorbenzenul, dieldrinul, au un efect imunosupresiv asupra mamiferelor. Acumularea lor în organisme a condus la o scădere a rezistenței focilor la infecții. Astfel, fără a avea acțiune directă, cum ar fi moartea animalelor, poluantul a sporit semnificativ sensibilitatea lor la acțiunea altor factori de mediu nefavorabili (Kutsenko, 2002; Panin & Bezel, 2008).

Un exemplu clasic al acestei forme de efect ecotoxic este creșterea numărului de neoplasme și scăderea abilităților de reproducere în populațiile persoanelor care trăiesc în regiuni poluate de toxicanți (efectul dioxinelor în Vietnamul de Sud).

➤ Acțiunea mixtă

Mai multe substanțe toxice în special xenobionte au un efect atât direct, cât și indirect, adică influența lor se reflectă prin **acțiune mixtă**. Un exemplu este acela al erbicidelor 2,4,5-T și 2,4-D care conțin ca impuritate o cantitate mică de 2,3,7,8-tetraclor-p-dioxină. Utilizarea pe scară largă a acestor substanțe de către armata americană în Vietnam a provocat daune directe privind distrugerea considerabilă a florei și faunei țării și, indirect, a afectat și sănătatea umană (Panin & Bezel, 2008).

➤ Acțiunea substanțelor chimice depinde de capacitatea lor toxică și persistența lor

Ecotoxicitatea reprezintă capacitatea unui profil xenobiotic al mediului să provoace efecte adverse în biocenoza corespunzătoare. În cazurile în care profilul natural xenobiotic este asociat cu acumularea excesivă a unui singur poluant în mediu, este posibil să se vorbească în mod condiționat de ecotoxicitatea numai a acestei substanțe.

Conform Bezel et al. (1994), efectele ecotoxice adverse pot fi evaluate la diferite nivele:

- **la nivelul organismului** - se manifestă printr-o scădere a rezistenței la alți factori activi de mediu, o scădere a activității, incidența bolilor, moartea organismului, carcinogeneza, afectarea funcțiilor reproductive, etc.
- **la nivelul populației** - observăm pierderea vădită a populației, creșterea morbidității, mortalității, scăderea ratei natalității, o creștere a numărului de defecte congenitale, încălcarea caracteristicilor demografice (raport de vârstă, sex, etc.), modificări ale speranței de viață, degradarea culturală;
- **la nivelul biogeocenozei** - observăm modificări evidente a componenței populației până la dispariția anumitor specii și apariția unor noi, care nu sunt caracteristice acestei biocenoze, prin distrugerea relațiilor interspecifice.

În cazul evaluării ecotoxicității numai pentru o singură substanță în raport cu reprezentanții doar unei singure specii de comunități vii, se consideră caracteristicile complete calitative și cantitative, ca și în toxicologia clasică (*valoarea acută și subacută, toxicitatea cronică, doza și concentrația cauzatoare de efecte mutagene, cancerigene, teratogene, etc.*).

Cu toate acestea, în sistemele mai complexe, ecotoxicitatea nu este măsurată prin numere (*cantitativ*), și se caracterizează printr-un număr de indicatori *calitativi* sau semicantitativi, prin noțiunile de “*pericol*” sau “*risc de mediu*” (Hoffman et al., 2003). În funcție de durata acțiunii ecotoxicanților **asupra ecosistemului**, se poate vorbi de ecotoxicitate *acută și cronică*.

➤ Ecotoxicitatea acută

Efectele toxice acute ale substanțelor asupra biocenozelor pot fi rezultatul accidentelor și catastrofelor, însoțite de eliberarea în mediu a unui număr mare de substanțe toxice relativ instabile sau de utilizare necorespunzătoare a substanțelor chimice.

Sunt deja bine cunoscute diferite evenimente. Astfel, în 1984, în orașul Bhopal (India), a avut loc un accident la fabrica companiei americane Union Carbide de produse chimice pentru producția de pesticide. Ca urmare, o cantitate mare de izocianat de metil pulmonotrop a ajuns în atmosferă. Fiind un lichid volatil, substanța a format o sursă instabilă de infecție. Cu toate acestea, aproximativ 200 de mii de oameni au fost otrăviți, 3 mii dintre aceștia au murit. Principala cauză a decesului este edemul pulmonar acut dezvoltat. Experții subliniază că în Bhopal s-au înregistrat neobișnuit de mulți copii născuți cu defecte sau care au deficiențe de dezvoltare, precum și diferite forme de cancer, diabet și alte boli cronice (Kutsenko, 2002).

Un alt caz cunoscut de dezastru toxicologic și ecologic acut a avut loc în Irak. Guvernul acestui stat a cumpărat un lot mare de semințe de cereale. Cerealele însăși înregistrate în scopul combaterii dăunătorilor au fost tratate cu un fungicid (metil mercur). Cu toate acestea, acest lot de cereale a intrat accidental în vânzare și a fost folosit pentru coacerea pâinii. Ca urmare a acestui dezastru ecologic, mai mult de 6,5 mii de persoane au fost otrăvite, dintre care aproximativ 500 au decedat. În anul 2000, în România, în una dintre companiile de extracție a metalelor prețioase, ca rezultat al accidentului, a existat o scurgere de acid cianhidric și produse cu conținut de cianură. Toxicanții în cantități mari au intrat în apele Dunării, otrăvind toate organismele vii pe sute de kilometri în aval (Kutsenko, 2002; Oprea, 2007).

Cel mai mare dezastru ecologic l-a constituit utilizarea de substanțe chimice foarte toxice în scopuri militare. În timpul primului război mondial, țările în conflict au folosit aproximativ 120 mii tone de substanțe otrăvitoare pe câmpurile de luptă. Drept urmare, mai mult de 1,3 milioane de oameni au fost otrăviți, ceea ce poate fi considerat unul

dintre cele mai mari dezastre ecologice din istoria omenirii.

Efectele ecotoxice acute nu duc întotdeauna la decesul sau bolile acute ale oamenilor sau ale altor specii afectate. Deci, printre substanțele otrăvitoare folosite în primul război mondial, au fost și substanțe cancerigene, care au cauzat moartea târzie datorată neoplasmelor formate (Kutsenko, 2002; Lysenko & Dogadina, 2015).

➤ Ecotoxicitatea cronică

Afectarea cronică apare la expunerea prelungită la concentrații mici. Efectele subletale sunt de obicei asociate cu toxicitatea cronică a substanțelor. Adesea, aceasta implică o încălcare a funcțiilor de reproducere, modificări ale sistemului imunitar, patologie endocrină, malformații, alergii etc. Cu toate acestea, expunerea cronică la un agent toxic poate duce, de asemenea, la decese în rândul indivizilor în dependență de nivelul rezistenței individuale.

Efectul expunerii pe termen lung asupra dioxidului de sulf poate fi foarte vizibil. Studiile de vegetație în zona cuptoarelor metalurgice din Ontario (Canada) au arătat că la o distanță de 16 km de acestea, 25 de specii de plante au crescut într-o stare normală și, pe măsură ce se apropiau de cuptoare, numărul acestora a scăzut. La o distanță mai mică de 1,6 km nu a mai crescut nici o plantă (Lysenko & Dogadina, 2015).

➤ Efectul embriotoxic

Este bine stabilit faptul că DDT, care se acumulează în țesuturile păsărilor, cum ar fi rața sălbatică, vulturul pescar, vulturul chel, etc., duce la o subțiere a coajei de ouă și, în consecință, la lovirea și/sau moartea puicutelelor. Acest lucru este însoțit de o scădere a numărului de păsări (Frumin, 2013).

Exemple de efecte toxice ale diferitelor xenobiotice (inclusiv medicamente) asupra embrionilor umani și de mamifere sunt bine cunoscute.

➤ **Acțiunea directă a produsului biotransformării poluanților cu un efect neobișnuit**

Observațiile pe teren ale peștilor din statul Florida au făcut posibilă identificarea populațiilor cu un număr mare de femele cu semne evidente de masculinizare (comportament ciudat, modificarea aripilor anale, etc.). Aceste populații au fost găsite într-un râu în aval de un efluent și s-a presupus că efluentul conține agenți de masculinizare.

Cu toate acestea, studiile au arătat că în emisii nu există astfel de substanțe: apa uzată nu a provocat masculinizarea. S-a constatat, de asemenea, că fitosteronul a fost conținut în apele reziduale (formate în timpul procesării materiilor prime), care, în apa râului, au fost expuse influenței bacteriilor care au transformat substanța dată în androgen, ceea ce a provocat un efect advers (Kutsenko, 2002).

Astfel, interacțiunea dintre xenobiotice și componenta biotică a mediului (microorganisme) poate determina efecte semnificative asupra populației în biocenoză.

Acțiunea mediată prin reducerea resurselor alimentare ale habitatelor

Într-una din regiunile canadiene, un pesticid organofosfat cu degradare rapidă în mediul înconjurător a fost utilizat pentru combaterea dăunătorilor (viermi de molid) din industria forestieră. Ca rezultat al unei scăderi accentuate a numărului de omizi, aproximativ 12 milioane de păsări au murit din cauza foametei.

Explozia dimensiunii populației poate avea loc datorită distrugerii unei specii concurente. În Statele Unite, după începerea utilizării pesticidelor sintetice pentru a controla anumite tipuri de dăunători ai plantelor, un număr mic de omida fluturelui de matasă au început să se înmulțească rapid, numărul lor crescând de la 6 la 16. Acest fenomen se explică prin faptul că, în lumea insectelor, există un sistem complex

de relații, iar numărul de specii într-o populație de insecte erbivore este deseori controlat de alte specii, care sunt pradatori acestor insecte. Efectele pesticidelor pot fi mai pronunțate asupra speciilor de pradă. Este ușor de observat că mecanismele acțiunii ecotoxice a substanțelor pe animale, în alte condiții, pot fi utilizate pentru estimarea impactului asupra omului (Kutsenko, 2002).

➤ **Mecanismele și căile uzuale de pătrundere a toxicelor în organisme**

Absorbția toxicelor reprezintă trecerea acestora din mediul extern în sânge sau limfa circulantă. Absorbția substanțelor toxice, cu toată varietatea structurală a acestora, se bazează pe legități comune care presupun transportul prin membrană. Absorbția substanțelor toxice se face diferențiat, în funcție de segmentul tubului digestiv. Substanțele care se absorb pe această cale (de exemplu, *cocaina, nicotina, cianura de potasiu*) evită bariera hepatică și detoxificarea lor este limitată. Absorbția se face prin difuziune simplă (transport pasiv) și transport activ (Robinson & Thorn, 2005).

Transportul activ se realizează împotriva gradientului de concentrație, cu consum de energie. În toxicologia clinică, transportul activ este prezent doar pentru un număr restrâns de toxice absorbabile pe cale digestivă și excepțional, pentru cele care pătrund transcutanat sau pe cale pulmonară. Prin transport activ se absorb: *fluorurile, clorurile, nitriții, nitrații, stibiul, plumbul, cuprul, cromul*.

Difuziunea simplă are la bază permeabilitatea selectivă a membranei și se produce, în general, fără consum de energie, reprezentând cel mai frecvent mecanism de transport prin membrane biologice (Katrin Franke Bader, 2012).

Dintre toxicele care se absorb prin mecanismul difuziunii simple se pot menționa: *halogenii, derivații gazoși ai sulfului, azotului, fosforului, arsenului, sulfura de carbon, al-*

coolul etilic, eterul etilic, fenolul, tetraclo-
rura de carbon, etc.

➤ **Căile principale de pătrundere a toxice-
lor în organisme**

- ❖ **CALEA DIGESTIVĂ:** consum de plante toxice, de apă cu conținut de substanțe toxice, de furaje contaminate cu toxice sau toxine;
- ❖ **CALEA RESPIRATORIE:** este caracteristică pentru toxicele volatile, toxicele gazoase sau toxicele sub formă de aerosoli (Katagi, 2010).

Calea respiratorie este o cale severă de intoxicație, deoarece absorbția toxicelor se face rapid, detoxificarea este diminuată, toxicele ocolind bariera hepatică. Excepție fac toxicele activate hepatic (ex. parationul). Pe cale respiratorie se absorb **toxicele volatile** (cloroformul, eterul), **toxicele gazoase** (oxidul de carbon, acidul cianhidric, bioxidul de sulf, hidrogenul sulfurat, amoniacul), produșii care sublimează, particulele fine de aerosoli (mai mici de 5 μ), pulberile metalice încărcate electric. **Mucoasele căilor respiratorii** anterioare (nazală, traheală, bronhică) au importanță redusă pentru absorbție. În general, toxicele sunt expulzate prin tuse, strănut. Totuși, contactul repetat poate duce la intoxicație (de exemplu, se pot absorbi sărurile alcaline ca iodura de sodiu, salicilatul de sodiu). **Sistemul pulmonar** are o mare capacitate de absorbție datorită suprafeței mari, structurii și vascularizației sale.

- ❖ **CALEA CUTANATĂ** și a mucoaselor aparente: tratamentul cutanat cu substanțe potențial toxice, contactul accidental (Gobas et al., 1999).

Absorbția toxicelor prin pielea intactă este dificilă datorită structurii acesteia și datorită stratului hidrolipidic. Pielea este considerată o barieră fiziologică față de particulele și moleculele chimice străine. Există, totuși, două posibilități pentru pătrunderea

toxicelor în capilarele din dermă și de aici în circulația generală și anume **transepidermic** (pentru substanțele liposolubile cu coeficient de partaj mare) și **transfolicular** (din sebum în glandele sebacee sau foliculul pilos și de aici în dermă). **Transcutanat** se pot absorbi substanțele gazoase și volatile (*hidrogenul sulfurat, oxidul de carbon, bioxidul de carbon, aldehida formică, acidul cianhidric*), o serie de substanțe organice (hidrocarburile alifatiche lichide de la C₆ la C₁₀; *hidrocarburi aromatice, ciclice, terpenice; alcoolii, esterii: acetatii, butiratii; fenolii; solvenții clorurați; insecticidele organofosforice, insecticidele organoclorurate; alcaloizii lichizi: nicotina etc.*), substanțele minerale (direct sau după transformarea în contact cu acizii grași din sebum - *sărurile de taliu, unele săruri de mercur, plumb și bismut, iodurile alcaline*). În general, substanțele cu greutate moleculară mare traversează greu pielea, pe când toxicele cu greutate moleculară mică, liposolubile, neionice și nepolare, străbat pielea mai ușor. **Absorbția transcutanată** este favorizată de masaj (prin comprimarea foliculilor), de transpirație (prin dizolvarea toxicelor de pe tegument), de eroziuni (prin descoperirea circulației limfatice a corionului), de solvenții organici, substanțele keratolitice, detergenți.

- ❖ **CĂILE PARENTERALE** constituie căi mai rare de pătrundere a toxicelor. Pe aceste căi se pot produce intoxicații prin supradozarea medicamentelor, administrarea pe căi neuzuale sau injectarea frauduloasă (Hoffman et al., 2003). Majoritatea intoxicațiilor se datorează **pătrunderii pe căi multiple**.

Calea intravenoasă permite absorbția rapidă a toxicelor, substanțele evitând barierele gastrice și intestinale.

Calea subcutanată. Substanța fiind introdusă în țesutul hipodermic, prin difuziune, ajunge în circulație și își exercită efectul toxic.

Calea intramusculară asigură absorbția mai rapidă a substanțelor decât cea subcutanată. Din mușchi, datorită vascularizației bogate, substanțele ajung în circulație prin difuziune. **Cel mai rapid se absorb substanțele hidrosolubile.** Cantitatea de toxic legată depinde de concentrația toxicului, afinitatea pentru locurile de fixare, capacitatea de cuplare disponibilă a proteinelor plasmatiche. **S-a constatat o competitivitate** pentru locurile de cuplare între toxicele din același grup: acizii slabi între ei, bazele slabe între ele. Toxicele bazice dispun de mai multe locuri de cuplare decât cele acide.

1.4. ECOTOXICOMETRIE

Ecotoxicometria este un compartiment la ecotoxicologiei, în cadrul căruia sunt luate în considerare tehnicile metodologice care fac posibilă evaluarea prospectivă sau retrospectivă a ecotoxicității substanțelor toxice. Toate tipurile de studii toxicologice cantitative clasice sunt pe deplin utilizate pentru a determina ecotoxicitatea.

Toxicitatea acută a ecotoxicanților este determinată experimental pe mai multe specii reprezentând diferite niveluri de organizare trofică într-un ecosistem (alge, plante, nevertebrate, pești, păsări, mamifere).

Agenția americană pentru protecția mediului ([Agency of Environmental Protection of United States, 2011](#)) solicită determinarea toxicității sale în cel puțin 8 tipuri diferite de apă dulce și organisme marine (16 teste) în determinarea criteriilor pentru calitatea apei care conține un agent toxic ([EPA U.S., Clean Water Act Policy and Guidance Documents, 2018](#)).

Au fost realizate încercări repetate de a clasifica speciile de ființe vii prin sensibilitatea lor la substanțe toxice. Cu toate acestea, pentru diferite substanțe toxice, raportul

dintre sensibilitatea organismelor vii față de acestea este diferit. În plus, utilizarea ecotoxicologică a “speciei standard” a reprezentanților anumitor niveluri de organizare ecologică pentru a determina ecotoxicitatea din punct de vedere științific este incorectă deoarece sensibilitatea animalelor, chiar și a speciilor din aceeași familie, uneori diferă foarte semnificativ.

TIPURI DE INTOXICAȚII

Intoxicațiile accidentale se pot produce în condiții naturale sau în condiții create de om.

Intoxicațiile în condiții naturale se produc cu toxice care se găsesc în mod obișnuit în natură, cum ar fi toxicele minerale din apa de băut (*fluorurile, nitrații, fierul*) sau acumulate în plante (*molibden, seleniu, cadmiu*), din plantele toxice (*mai ales în condiții de secetă, afectează animalele tinere la începutul pășunatului*), insectele veninoase (*bondari, viespi, păianjeni*) și șerpii veninoși.

Intoxicațiile în condiții create de activitatea umană sunt cele mai frecvente. Cauzele sunt: poluanții industriali, pesticidele, îngrășămintele chimice (azotate, fosfatice, potasice), medicamentele, aditivii furajeri, micotoxinele. Intoxicațiile provocate sunt cele făcute în scop criminal sau eutanasic.

Factorii care influențează toxicitatea. Factorii de toxicitate reprezintă totalitatea condițiilor de care depinde toxicitatea unei substanțe sau gradul său de nocivitate (condițiile climaterice, valorile temperaturii apei și a solurilor, procesele de oxido-reducere etc.).

Toxicitatea depinde atât de proprietățile fizico-chimice a factorului toxic cât și de organismele, populațiile sau ecosistemele supuse influenței acestora (specia, vârsta, greutatea corporală, sexul, gradul de plenitudine a tubului digestiv, regimul alimentar, starea de întreținere, starea de sănătate, predispoziția, sensibilitatea individuală, coraportul între diferite specii, genuri).

PROPRIETĂȚILE FIZICO-CHIMICE, NATURA CHIMICĂ, STAREA DE AGREGARE ȘI MĂRIMEA PARTICULELOR

Starea lichidă favorizează absorbția și sporește gradul de toxicitate. Substanțele gazoase se absorb rapid și au un grad ridicat de toxicitate. Formele amorfe a toxicelor solide, fiind mai solubile, sunt mai ușor absorbabile și, ca urmare, mai toxice, având un grad crescut de toxicitate.

Toxicele vegetale. Toxicitatea acestora este influențată de factorii pedoclimaterici și meteorologici (în condiții de secetă, în regiunile de stepă, în unele plante se concentrează glicozizi cianogenetici), partea plantei (toxicele se concentrează în rădăcini, semințe, polen), stadiul vegetației (toxicele se găsesc în cantități mai mari în anumite faze ale vegetației, de exemplu glicosizii cianogenetici - în porumb, în faza de lapte); la unele plante cele mai frecvente cazuri se întâlnesc la polen și flori. Asocierile de substanțe pot modifica activitatea acestora în sensul creșterii sau reducerii toxicității. Asocierile pot fi sinergetice (cresc toxicitatea) sau antagonistice (reduc toxicitatea).

ASOCIEREA PRIN ÎNSUMAREA EFECTELOR TOXICE

Aditism ($1+1=2$) (ex. cocaina și adrenalina): rezultatul reprezintă o sumă ale efectelor toxice mai multor toxicanți;

Sinergism ($1+1>2$): sporirea efectelor toxice ale unui amestec de substanțe mai mult decât suma efectelor toxice ale acestora (Liess et al., 2016);

Antagonism ($1+1<2$): diminuează toxicitatea prin efectele de ordin fizic, chimic sau farmacodinamic. Antagonismul poate fi reversibil sau ireversibil. Un caz particular îl constituie antidotismul. De exemplu: taninurile precipită alcaloizii; intoxicația cu cupru poate fi prevenită prin molibden și invers; cianura de potasiu în combinație cu glucoza este transformată în cianhidrină, produs netoxic.

Clasificarea poluanților după acțiunea lor

✓ **POLUANȚII IRITANȚI** provoacă efecte iritative asupra mucoasei oculare și îndeosebi asupra aparatului respirator. În această grupă intră pulberile netoxice, precum și o sumă de gaze și vapori ca *dioxidul de sulf*, *dioxidul de azot*, *ozonul* și *substanțele oxidante*, *clorul*, *amoniacul* etc. (Katrin Franke Bader, 2012).

Poluarea iritantă constituie cea mai răspândită dintre tipurile de poluare, rezultând în primul rând din procesele de ardere a combustibilului, dar și din celelalte surse.

✓ **POLUANȚII FIBROZANȚI** produc modificări fibroase la nivelul aparatului respirator. Printre cei mai răspândiți sunt *dioxidul de siliciu*, *azbestul* și *oxizii de fier*, *compușii de cobalt*, *bariu* etc. Sunt mult mai agresivi în mediul industrial fiind determinante îmbolnăvirilor specifice. Poluarea intensă cu pulberi poate duce la modificări fibroase pulmonare (Katagi, 2010). **Pulberile** rezultate în special din industria materialelor de construcție (*ciment*, *azbest*, *gips*, *magnezit*) pot provoca organismului uman diferite simptome, având în general acțiune *iritantă*, *infecțantă toxică*, *alergică* și *cancerigenă*. Modul de acțiune al pulberilor asupra organismului depinde de structura lor fizică și chimică. *Acțiunea iritantă* este consecința formei ascuțite sau a unei anumite durități a particulelor care declanșează o reacție de apărare din partea țesuturilor sau organelor expuse. Pulberile provoacă disconfort și boli specifice numite conioze. În organul sau țesutul afectat observăm diferite *dermo-*, *oftalmo-*, *entero-* sau *pneumopatologii*.

✓ **POLUANȚII ASFIXIANȚI** sunt cei care împiedică asigurarea cu oxigen a țesuturilor organismului. Dintre cele mai importante sunt *oxidul de carbon*, *nitrații*, *nitriții*, care formează cu hemoglobina un compus

relativ stabil (*carboxihemoglobina*) și derivați incapabili să transporte oxigenul și care împiedică astfel oxigenarea sângelui și transportul de oxigen către țesuturi (Gobas et al., 1999).

În funcție de concentrația din aer și timpul de expunere se realizează o anumită proporție de carboxihemoglobină care poate depăși 60% din hemoglobina totală, blocarea enzimelor respiratorii celulare (*cianurile*), lezarea organelor hematoformatoare (*substanțele radioactive*).

Intoxicația acută cu *oxidul de carbon* este relativ rară, apărând practic numai în spații închise în prezența unor surse importante de CO (în încăperi în care sistemele de încălzit funcționează defectuos, garaje, pasaje subterane pentru autovehicule, nemijlocit în autovehicule închise etc.)

✓ **POLUANȚII ALERGENICI** din atmosferă sunt cunoscuți de multă vreme. Putem menționa aici cazul **poluanților naturali** (*polen*) precum și a *prafului din casă*, responsabili de un număr foarte mare de alergii respiratorii sau cutanate (Hoffman et al., 2003).

Pe lângă acestea se adaugă poluanții proveniți din surse artificiale - în special industriale - care pot emite în atmosferă o sumă de alergeni compleți sau incompleți. Pe primul loc din acest punct de vedere, se găsește *industria chimică* (industria maselor plastice, industria farmaceutică, fabricile de insecticide etc.). Sunt semnalate și situații cu apariția unor fenomene alergice în masă, un exemplu poate fi cel produs la New Orleans în 1958 în care alergenul a fost *identificat în praful provenit de la deșeurile industriale* (Kutsenko, 2002).

Alergenii sunt substanțe care activează sistemul imunitar. Unii alergeni acționează direct ca antigeni, fiind recunoscuți ca substanțe străine de celulele albe din sistemul sangvin și stimulează producerea unor anti-

corpi specifici (proteine care recunosc și se leagă de celule sau substanțe chimice străine organismului). Alți alergeni acționează indirect prin legarea și modificarea chimică a substanțelor străine astfel încât ele devin antigeni și determină un răspuns imun.

✓ **SUBSTANȚELE TERATOGENE** sunt substanțe chimice sau factori care produc anomalii în timpul dezvoltării și creșterii embrionare. Unii compuși, care altfel nu sunt periculoși, pot cauza probleme tragice în această etapă sensibilă a vieții. Se consideră că cel mai răspândit teratogen din lume este alcoolul. Consumarea de alcool în timpul sarcinii poate duce la un sindrom care presupune apariția mai multor simptome: anomalii craniofaciale, întârziere mentală, probleme de comportament.

✓ **SUBSTANȚELE COROZIVE** acționează asupra zonelor de contact și asupra organelor de excreție (*toxicele minerale*);

✓ **SUBSTANȚELE TOXICE PROTOPLASMATICE ȘI PARENCHIMATOASE** provoacă degenerescența grasă a ficatului și tendința spre hemoragie (*tetraclorură de carbon, fosforul*).

✓ **SUBSTANȚELE CANCERIGENE** sunt substanțe care cauzează cancerul - celule invazive cu creștere necontrolată care duc la apariția de tumori maligne. Rata cancerului a crescut în majoritatea țărilor industrializate în secolul XX, în SUA fiind acum a doua cauză care duce la deces (Chapman, 2002). În anul 2000, de exemplu, au murit mai mult de jumătate de milion de oameni. Totuși, creșterea frecvenței cancerului îndeosebi în mediul urban, a impus luarea în considerare și a poluanților atmosferici ca agenți cauzali posibili, cu atât mai mult cu cât în zonele poluate au fost identificate în aer substanțe cancerigene.

Putem clasifica substanțele cancerigene prezente în substanțe *organice* și substanțe *anorganice*. Dintre poluanții cancerigeni anorganici menționăm *azbestul, arsenul, cromul, cobaltul, beriliul, nichelul și seleniul*. Dintre cei organici mai răspândiți sunt *hidrocarburile policiclice aromatice ca benzo-piren, benzoantracen, benzofluoranten etc.* *Ultima* substanță cancerigenă este cunoscută de multă vreme, iar prezența în aer indică un risc crescut de cancer pulmonar.

Efecte cancerigene se atribuie și *insecticidelor organoclorurate precum* și unor *monomeri* folosiți la fabricarea maselor plastice.

✓ **SUBSTANȚELE NEUROTOXICE.** Neurotoxinele reprezintă o clasă specială de substanțe care atacă în mod specific celulele nervoase - neuronii. Sistemul nervos este atât de important în coordonarea și reglarea activității organelor încât **întreruperea acestor activități cauzează numeroase daune** (Katrin Franke Bader, 2012).

Modul de acțiune al neurotoxinelor poate diferi. Substanțele precum **plumbul și mercurul** omoară celulele nervoase și provoacă daune neurologice permanente.

Anestezicele (*eterul, cloroformul*) și pesticidele clorinate (*DDT, Dieldrin, Aldrin*) rup membrana celulei nervoase necesară pentru activitatea nervilor. Substanțele organofosforice (*malation, paration*) și carbamații (*carbaril, zeneb, maneb*) inhibă enzima acetilcolinesteraza care reglează transmiterea semnalului între celulele nevoase și țesuturi sau organe.

Majoritatea substanțelor neurotoxice prezintă toxicitate acută și foarte mare. În prezent mai mult de 850 de compuși sunt considerați neurotoxici.

Numărul de potențiali neurotoxici în mediul înconjurător este în continuă creștere și reprezintă un mare risc pentru oameni și mediu. Evaluarea neurotoxicității este în prezent efectuată în cea mai mare măsură pentru a

prezice și a preveni îmbolnăvirea populațiilor umane.

Cu toate acestea, cunoștințele privind potențialul neurotoxic al contaminanților de mediu din ecosisteme sunt foarte limitate, deoarece evaluarea neurotoxicității se concentrează în prezent în cea mai mare parte pe expunerea umană la substanțele chimice individuale.

Cunoscute compuși neurotoxici sau neuroactivi umani, cum ar fi pesticidele, produsele farmaceutice și metalele grele, apar în mediul înconjurător împreună cu mii de substanțe chimice cu potențial neurotoxic necunoscut pentru diferite specii și stadii de viață. S-a estimat că până la 30% din totalul substanțelor chimice utilizate în comerț (~30.000 de substanțe chimice) pot avea potențial neurotoxic.

În plus, în majoritatea ecosistemelor acvatice sunt înregistrate contaminanților organici din pesticide (*DDT, Dieldrin, Aldrin*), metale grele (Hg, Pb, Cd, As), ș.a. care se referă la cele neurotoxice, dar care pot fi determinate prin echipament și instrumente bioanalitice capabile să identifice aceste substanțe.

Cu regret nu cunoaștem niciun ghid de reglementare disponibil pentru identificarea riscurilor neurotoxice la vertebrate sau animale nevertebrate. În plus, până în prezent nu există un cadru de reglementare european pentru evaluarea eco-neurotoxicității.

În cadrul evaluării riscurilor și al gestionării riscurilor pentru substanțele eco-neurotoxice, pesticidele reprezintă o categorie de substanțe de interes special. Unele pesticideucid dăunătorii prin mecanisme neurotoxice.

Agenția Europeană pentru Siguranța Alimentară (EFSA) este responsabilă de înregistrarea pesticidelor și a tuturor altor substanțe care pot intra în contact sau apar în produsele alimentare și nu sunt evaluate în conformitate cu Legislația **REACH – Regulation for Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals No. 1907/2006**.

Directiva-cadru privind apa - Directiva Europeană Cadru a Apei ([Directive 2000/60/EC of the European Parliament and Council Establishing a Framework for Community Action in the Field of Water Policy; OJ:L327, Dec. 22, 2000](#)), vizează integrarea informațiilor biologice și chimice pentru a obține o imagine de ansamblu asupra calității corpurilor de apă individuale. Conform DCA, starea chimică a unui corp de apă este determinată prin analizarea concentrațiilor a 45 de substanțe prioritare.

O stare chimică bună este definită de concentrațiile tuturor acestor substanțe sub standardele medii și maxime admisibile de calitate a mediului, care sunt definite pentru a proteja mediul și sănătatea umană. Ca urmare, monitorizarea chimică regulată a calității apei se realizează aproape exclusiv prin analiza chimică țintită a unui set limitat de compuși (indicatori).

Cu toate acestea, există anumite limitări grave legate de utilizarea analizelor chimice țintă ale probelor de volum mare pentru monitorizarea stării chimice globale a unui corp de apă. În primul rând, deoarece se analizează doar un număr limitat de substanțe țintă, riscul altor substanțe necunoscute prezente în mediul acvatic rămâne neinvestigat. Mai mult, produsele de transformare a micropoluantilor formate în mediu sau prin metabolismul biologic nu sunt întotdeauna cunoscute sau înregistrate și pot fi mai toxice și mai persistente decât compușii de bază ([Katagi, 2010](#); [Katrin Franke Bader, 2012](#); [Vergeichik, 2009](#)).

Aceste limitări pot duce astfel la o evaluare incompletă a pericolelor și riscurilor chimice, solicitând explorarea unor abordări alternative. Există o necesitate urgentă de evaluări rapide ale substanțelor cu potențial toxicologic necunoscut pentru a preveni posibilele efecte negative asupra consumatorilor de către furnizorii de apă și departamentele de sănătate publică care supraveghează procesul.

ELIMINAREA TOXICELOR DIN ORGANISM

Din organism se elimină produșii metabolizați și fracțiunile netransformate. În general, substanțele toxice prezintă selectivitate pentru o cale de eliminare, însă se pot elimina și simultan pe mai multe căi.

Nu se poate stabili o legătură între calea de pătrundere a toxicului și organul de eliminare (de exemplu, atropina administrată subcutanat poate fi găsită în stomac; mercurul aplicat pe piele se regăsește în intestin).

Viteza de eliminare a toxicelor depinde de calea de administrare, de proprietățile fizico-chimice, de fixarea pe proteinele plasmatice și tisulare, de metabolizările suferite, de calea de eliminare și de starea funcțională a căii de administrare ([Chapman, 2002](#)).

Eliminarea reprezintă îndepărtarea toxicelor și/sau a metabolizilor polari și ionizați din sânge, limfă, lichid interstițial, celule sau țesuturi. Calea, viteza, durata și gradul eliminării variază în funcție de o serie de factori fizico-chimici și biologici.

Nocivitatea unui toxic este cu atât mai mare cu cât eliminarea sa este mai lentă.

În general, eliminarea se realizează prin procesele metabolice ale mai multor organe, pe cale renală, digestivă, pulmonară și transcutanată.

Calea digestivă prezintă importanță redusă. Trebuie să se facă diferență între expulzarea prin vomă și fecale a substanțelor insolubile sau mai puțin solubile sau a celor care nu au fost absorbite, și eliminarea substanțelor care au pătruns în circulația generală.

Eliminarea se poate face prin: salivă (alcaloizi: chinina, stricnina; metale: mercurul, plumbul, bismutul; iodul), suc gastric (morfină, halogenii), bilă (numai produșii cu greutate moleculară peste 400 kDa, sărurile metalelor grele: plumb, mercur, crom, nichel; arsenul; alcaloizii).

Calea renală este calea majoră pentru majoritatea toxicelor. Pe această cale se elimină substanțele toxice cu greutate moleculară mai mică de 150 kDa. Eliminarea se realizează prin filtrare glomerulară, resorbție tubulară sau secreție tubulară.

Filtrarea glomerulară este un proces de ultrafiltrare pasivă a unei cantități de apă și substanțe solvite, cu greutate moleculară mică, polare, nelegate la proteine. Depinde de presiunea hidrostatică a sângelui și de presiunea proteinelor sanguine.

Resorbția tubulară reprezintă reîntoarcerea în tubii renali din circulație, prin proces pasiv, a unor cantități mari de apă, substanțe anorganice ionizate, unele substanțe neionizate liposolubile, acizi și baze slabe nedisociate.

Secreția tubulară constă din transportul activ din capilarele sangvine în tubi împotriva gradientului de concentrație. Prezintă specificitate și se face cu consum de energie.

Prin rinichi se elimină majoritatea sărurilor metalice, iodurile, nitrații, nitriții, alcaloizii, pesticidele. Determinarea concentrațiilor din urină are valoare de diagnostic pentru unele toxice.

Calea pulmonară este cea mai rapidă cale de eliminare. Eliminarea se face prin epiteliul alveolar, prin secreție bronhică sau nazală. Viteza de eliminare depinde de gradul de volatilitate. Pe această cale se elimină substanțele gazoase (hidrogenul sulfurat, oxidul de carbon), metaboliții gazoși, substanțele volatile (alcoolul, eterul, cloroformul, esențele vegetale).

Pielea constituie o cale de eliminare pentru toxicele gazoase, volatile și pentru unele substanțe solide. Astfel, pe această cale se elimină alcaloizii, compușii de arsen, metalele grele, iodurile, bromurile, camforul.

Glanda mamară reprezintă o cale de eliminare pentru compuși volatili (alcool, eter), baze organice (alcaloizi: cafeină, morfină, chinină, antipirină), acizi (acid acetic, acid salicilic, acid barbituric), pesticide, aflatoxine, ioni minerali (plumb, mercur, arsen, iod, brom), cloralhidrat.

Activitatea societății umane provoacă schimbări multilaterale în mediul înconjurător. Înainte de dezvoltarea civilizației industriale, înainte de începutul secolului al XIX-lea, poluarea a fost extrem de limitată în natură, cantitate și distribuție. Acum s-au adăugat noi probleme la problemele vechi - prezența în mediu a unor compuși chimici nefirești, la care sistemele biologice nu se pot adapta.

Unele noțiuni terminologice privind examinarea și evaluarea toxicității

Toxicele (otrăvurile) sunt substanțe organice sau anorganice cu puternică activitate nocivă asupra organismului, capabile să producă tulburări chiar în cantități mici. **Otrava mai poate fi definită ca fiind o substanță chimică care, introdusă sau formată în organism, produce tulburări sau aduce la moarte.**

Toxic - este un cuvânt cu etimologie controversată; derivă de la grecescul "toxon" (arc cu săgeți cu vârfuri otrăvite), sau din cuvântul egiptean "tako" (distrugere, prăpăd, moarte). Cuvântul toxic derivă din latinescul "toxicus" (veninos, otrăvitor) care derivă prin alterare de la "taxicus" care, la rândul său, derivă de la numele plantei *Taxus bacata* (tisa), care conține un alcaloid foarte toxic. **Otravă** - derivă din verbul slavon "otrăviți" (a se mâhni profund), cuvânt care se referă la fondul psihic. Se pot utiliza ambii termeni. Și în alte limbi se folosesc doi termeni pentru aceeași noțiune - astfel francezii folosesc *toxique* și *poison*; germanii, *toxin* și *gift*; englezii, *toxic* și *poison*.

Intoxicația prezintă o stare morbidă produsă sub acțiunea unei substanțe organice sau anorganice de origine vegetală, minerală sau sintetică, ce provoacă tulburări profunde ale metabolismului celular și care are drept rezultat îmbolnăvirea organismului.

Toxinele sunt substanțe organice cu structură proteică, produse de organismele vegetale sau animale, care provoacă fenomene de intoxicație.

Toxicoza este o stare morbidă produsă de toxine.

Doza este unul dintre cei mai importanți indicatori de toxicitate.

- **doza maximă tolerată (DMT)** - cantitatea cea mai mare de substanță care este suportată de organisme fără fenomene toxice;
- **doza letală (DL)** - cantitatea minimă de substanță care provoacă moartea unui animal adult;
- **doza letală zero (DL0)** - cantitatea de substanță care determină fenomene toxice grave, dar nu letale;
- **doza letală 50 (DL50)** - cantitatea de substanță care produce efecte letale la 50 din 100 animale de experiență în decurs de 24-48 ore;
- **doza letală 100 (DL100)** - cantitatea de substanță care produce efecte letale la toate animalele folosite în experimentul acut de toxicitate;
- **doza minimă letală (DML)** - cantitatea minimă de substanță care omoară un singur animal din lot;
- **doza letală certă (DLC)** - cantitatea de substanță care produce moarte animalelor în orice situație.

Substanțele toxice care pătrund pe cale respiratorie sunt caracterizate prin:

- concentrația letală a toxicului în atmosferă (CL) - corespunde aproximativ dozei letale și se exprimă în ppm (mg/m^3);
- concentrația letală 50 (CL50) - cantitatea de toxic (mg/m^3 aer) care produce moartea a 50% din animalele de experiență în decurs de 4 ore;
- concentrația letală 100 (CL100) - cantitatea minimă de toxic (mg/m^3 aer) din aerul respirat de animalele de experiență care provoacă 100% mortalitate

În cazul medicamentelor se raportează **doza letală DL50** la **doza terapeutică efectivă DE50** și se obține **indicele terapeutic (IT)**. Dacă indicele terapeutic este mai mare sau

egal cu **10**, medicamentul respectiv nu prezintă pericol la doze uzuale, iar dacă este mai mic de **10**, este necesar să fie folosit cu precauție.

Datorită diferențelor mari ale dozelor toxice, **Hodge & Sterner (2005)** au realizat o clasificare prin care toate substanțele sunt divizate în 6 categorii după valoarea DL50 (exprimată în mg/kg), clasificare care este acceptată și în prezent:

- extrem de toxice (sub $1 \text{ mg}/\text{kg}$);
- foarte toxice ($1-50 \text{ mg}/\text{kg}$);
- moderat toxice ($50-100 \text{ mg}/\text{kg}$);
- puțin toxice ($500-5000 \text{ mg}/\text{kg}$);
- practic netoxice ($5000-15000 \text{ mg}/\text{kg}$);
- relativ lipsite de toxicitate (peste $15000 \text{ mg}/\text{kg}$).

În toxicologie spectrele procesului toxic sunt fondate pe proprietățile produsului toxic; substanțele toxice, substanțele biologice, radiațiile și alți factori nocivi se consideră agenți dăunători (**ECETOC, 2021**). Deoarece efectele pot fi considerate pe baza unei varietăți de semne, pentru a indica cantitatea de substanță care acționează asupra unui obiect biologic este utilizată doza conceptuală (doza care afectează). Doza de efect poate fi măsurată direct folosind mijloace tehnice și exprimată în unități adecvate (mg/kg , mg/m^3 , Gray, celule/kg etc.).

Relația doză-efect în majoritatea cazurilor, se va înregistra printr-un model general: odată cu creșterea dozei crește gradul de deteriorare a sistemului. În ecotoxicology, în determinarea relației doză-efect, aspectul principal revine varietății intraspecifice a comunităților, organismelor și ecosistemelor. În această privință, doza unei substanțe particulare care provoacă daune, deseori diferă semnificativ (**Hughes, 1996**).

În consecință, relația doză-efect reflectă proprietățile nu numai ale substanței toxice, ci și a organismului pe care acționează. În practică, aceasta înseamnă că evaluarea cantitativă a toxicității, bazată pe studiul relației doză-efect, trebuie efectuată prin di-

ferite modelări cu diverse obiecte biologice și prin corectitudinea utilizării metodelor de prelucrare a datelor obținute. În general, graficul este o curbă în formă de S a distribuției log-normale, simetrică față de punctul central, utilizată în toxicologia experimentală. Problema estimării gamei de doze eficiente pentru sistemele biologice este complexă și legată inextricabil de conceptul de normă. Teoria normei cu privire la sistemele biologice nu este suficient dezvoltată în prezent. Cel mai caracteristic indicator al normei sistemelor biologice este abilitatea de a-și schimba astfel parametrii funcționali în schimbarea condițiilor de existență pentru a menține sistemul în condiții optime. Populația ca sistem de indivizi interconectați, datorită eterogenității inițiale a grupurilor sale individuale ecologic-funcționale, se caracterizează prin diversitatea răspunsului lor la orice influență externă (Ostroumov, 2004).

Pentru reglementarea ecotoxicologică este necesar să se optimizeze interacțiunea prin limitarea impactului antropic asupra capacităților mediului și vizează optimizarea utilizării resurselor regenerabile. Principala criteriu pentru determinarea sarcinii de mediu admisibile este absența unei scăderi a productivității, stabilității și diversității ecosistemului. Moartea unor organisme în acest caz nu este estimată ca și critică.

Pentru fiecare ecosistem, ar trebui să fie identificate propriile criterii de calitate a mediului, în funcție de potențialul ecologic al ecosistemului și de capacitățile ecologice ale regiunii. Baza dezvoltării standardelor de mediu este conceptul teoretic al unei abordări sistematice a reglementării calității mediului natural.

Yurie Israel (Israel, 1984) a dezvoltat idei despre capacitatea maximă admisibilă pentru mediu (CMA) pe acest ecosistem. Semnificația CMA se bazează pe conceptul durabilității ecosistemelor, deoarece funcționarea lor normală în condițiile presiunii antropice, este posibilă numai dacă CMA nu este depășită,

care este derivată ținând cont de acțiunea combinată și complexă a tuturor factorilor de impact asupra unui anumit ecosistem. Până în prezent principiile generale pentru justificarea reglementărilor de mediu sunt puse în aplicare prin dezvoltarea conceptului de capacitate asimilativă a ecosistemelor.

O abordare comună în definirea punctelor critice se bazează pe presupunerea că criteriul pentru starea normală a unui ecosistem este distribuția normală a variabilelor sale. În acest caz, valorile critice maxime și minime se găsesc în legătură funcțională de distribuție statistică normală.

O realizare a acestei abordări pentru evaluarea biogeochimică CAM ale elementelor chimice (în special a metalelor), care sunt microcomponente ale apelor de proveniență atât naturală cât și antropogenă. Fiecare dintre aceste componente ale mediului trebuie să fie în limitele celor biologic tolerante pentru organismele, comunitățile și populațiile acvatice cu o capacitate de a realiza funcțiile sale fiziologice optime.

Pentru stabilitate funcționării ecosistemelor acvatice principal criteriu este capacitatea de autoepurare și echilibrul între calitatea mediului acvatic și diversitatea hidrobionților. Într-adevăr, între structura biologică a ecosistemului și capacitatea sa de autoepurare, există o relație funcțională interdependentă.

Prin urmare, reglementarea calității apei ar trebui să fie făcută prin determinarea măsurii capacității de autoepurare, toleranței hidrobiocenozelor, ale cărei valori ar trebui să servească drept standarde de calitate a apei (Zubcov et al., 2015; Moiseenko, 2008). Autoepurarea este un proces integrat al funcționării a trei componente - coloana de apă, sedimentele subacvatice, organismele acvatice - legate în mod organic de ecosistemele corpurilor de apă, astfel încât reprezintă un indicator nu numai al poluării chimice ci și al modificărilor fizico-geografice (hidrologice, climaterice).

1.5. EVALUAREA RISCULUI DE MEDIU

Riscul este o caracteristică probabilistică a amenințării care apare în cauză pentru mediul înconjurător sub aspectul unor posibile influențe antropice sau a altor fenomene. Într-un sistem de evaluare a riscului pentru mediu, orice impact (fie că este vorba de un factor chimic sau de un câmp energetic) care provoacă modificări ale sistemelor biologice (atât pozitive cât și negative) se numește *stressor* (Hoffman et al., 2003). În acest sens, orice agent ecotoxic este, fără îndoială, un factor de stress (Liess et al., 2016).

Conceptul de evaluare a riscurilor include două elemente: evaluarea riscului și managementul riscului (Negrei & Palarie, 2013; Oprea, 2007).

Evaluarea riscului este o analiză științifică a originii sale, inclusiv identificarea acesteia, determinarea gradului de pericol într-o anumită situație. În ecotoxicologie, conceptul de risc este asociat cu sursele de pericol pentru sistemele și procesele ecologice care apar în ele (Calow, 1998). Indicatorii de mediu ai daunelor (risc de mediu) în acest caz includ: distrugerea biotei, efectele dăunătoare, uneori ireversibile asupra ecosistemelor, deteriorarea calității mediului datorită poluării, creșterea probabilității unor boli specifice, eroziunea terenurilor, pierderea pădurilor și a corpurilor de apă (de exemplu, Marea Aral), etc.

Gestionarea riscului este o analiză a situației riscului în sine, dezvoltarea și justificarea unei decizii de management, de obicei sub forma unui act de reglementare care vizează reducerea riscului, găsirea unor modalități de reducere a riscului.

Dezvoltarea teoriei riscurilor a condus la formarea consecventă a principiilor care caracterizează atitudinea societății față de asigurarea funcționării fără accident a obiectelor antropice - surse de pericol pentru mediu:

- principiul riscului *zero*, care reflectă încrederea că riscul nu va fi aplicat; este

principiul aproximării succesive a securității absolute, adică la risc zero, implicând studiul anumitor combinații de structuri, tehnologii alternative etc.;

- principiul riscului *minim*, conform căruia nivelul de pericol este stabilit la un nivel cât mai scăzut posibil, pe baza justificării eventualelor costuri pentru protecția unei persoane;
- principiul riscului *echilibrat*, conform căruia sunt luate în considerare diferitele riscuri naturale și impactul antropic, se studiază gradul de risc al fiecărui eveniment și condițiile în care oamenii sunt expuși riscului;
- principiul riscului *acceptabil*, pe baza analizei raportului “cost-risc”, “beneficiu-risc”, “cost-beneficiu”.

Conceptul de risc acceptabil presupune că eliminarea completă a riscului este practic imposibilă sau nu este viabilă din punct de vedere economic. În concordanță cu aceasta se stabilește o limită de siguranță rațională care optimizează costurile de prevenire a riscurilor și amplexarea daunelor în caz de urgență.

Primul pas (etapă) de evaluare a riscurilor este identificarea pericolelor - definirea unui pericol real pentru o persoană sau pentru mediu. Aici este atribuit un rol important cercetării științifice. Încercările de identificare a pericolului sunt reduse la căutarea semnalelor de pericol, selectarea unui astfel de semnal pe fondul existent.

Metodele de aprobare, selecție (de exemplu, diverse medicamente), modelarea comportamentului diferitelor substanțe în mediul înconjurător, monitorizarea și diagnosticarea (evaluarea simptomelor, efectele expunerii) sunt importante pentru identificarea pericolelor. De reținut că toate problemele de evaluare, diagnosticare și prognoză ar trebui să fie atribuite sistemului de monitorizare.

Diagnosticul începe cu observația abaterilor - pentru aceste deviații este necesar să se identifice corect “boala”. Aproape toate da-

tele obținute prin monitorizare necesită evaluări, mai ales cele de diagnosticare.

Atunci când se identifică un pericol, prima întrebare este despre ce anume reprezintă un pericol iar atunci când se calculează un risc, care este amploarea acestuia. Este necesar să se determine probabilitatea apariției acestui pericol și probabilitatea efectelor adverse. Perspectiva, intuiția și extrapolarea pot fi folosite pentru a determina calculul riscului (Calow, 1998).

În etapa de examinare a procedurii de evaluare a riscurilor, analiza este efectuată la un nivel calitativ.

A doua etapă - evaluarea expunerii - este o evaluare a modului și a mediului în care, la ce nivel cantitativ, la ce moment și pe ce perioadă de expunere are loc expunerea reală și cea așteptată; este, de asemenea, o estimare a dozelor primite, dacă acestea sunt disponibile, precum și o estimare a numărului de persoane care sunt expuse la o astfel de expunere și pentru care pare a fi probabilă.

Dimensiunea populației expuse este unul dintre cei mai importanți factori pentru a decide cu privire la prioritatea măsurilor de protecție care apar atunci când se utilizează rezultatele evaluării riscurilor în scopul “gestionării riscurilor”.

În mod ideal, evaluarea expunerii se bazează pe datele efective de monitorizare a poluării diferitelor componente de mediu (aer ambiental, aer de interior, sol, apă de suprafață, apă potabilă, alimente).

Cu toate acestea, această abordare este deseori imposibilă din cauza costurilor ridicate. În plus, nu este întotdeauna posibil să se evalueze relația dintre poluare și sursa acesteia și este insuficientă pentru a prezice expunerea viitoare. Prin urmare, în multe cazuri, diferite modele matematice sunt utilizate pentru a evalua dispersia emisiilor atmosferice, sedimentarea lor pe sol, difuzarea și diluarea poluanților în apele subterane și / sau în corpurile de apă deschise.

A treia etapă - evaluarea relației doză-efect - este căutarea unor modele cantitative care asociază doza primită a unei substanțe cu prevalența unui efect advers (pentru sănătate), adică cu probabilitatea dezvoltării sale.

Modele similare, ca regulă, sunt revelate în experimentele toxicologice. Cu toate acestea, extrapolarea lor dintr-un grup de animale la o populație umană este asociată cu prea multe incertitudini.

Întrucât **procedura de evaluare a riscurilor este complexă și suferă în mare măsură de incertitudinea cunoscută**, Agenția pentru Protecția Mediului a Statelor Unite (EPA U.S.) a elaborat și aprobat un plan pentru o astfel de activitate de standardizare a cercetării ([Measurement Methods Standardization Strategy Document](#); [Science Models and Research Tools \(SMaRT\) Search](#)). Acestea conțin o descriere a secvenței de rezolvare a problemei, luând în considerare incertitudinile și ipotezele pentru a obține, într-o oarecare măsură, informații unificate, aproximative despre probabilitatea unor efecte adverse asupra mediului.

Conform acestui plan, evaluarea riscului de mediu include următorii pași:

1. Formularea problemei și elaborarea unui plan de analiză situației.
2. Analiza situației de mediu.
3. Prelucrarea datelor, formarea constatărilor și prezentarea materialelor către client.

De regulă, evaluarea riscului de mediu se realizează sub forma unei cercetări comandate, realizate pentru a obține informații de natură promițătoare sau retrospectivă și necesare pentru client (legislație, structuri de conducere etc.) pentru a lua decizii administrative.

Prin urmare, spre deosebire de studiile ecotoxicologice științifice, în care sunt luate în considerare regulile obiective ale reacțiilor biocenozelor la acțiunea unui factor de stres, atunci când se definește riscul ecoto-

xic, caracteristicile de mediu care trebuie studiate și “protejate” pot fi caracteristicile unui biosistem care are o valoare în opinia publică ca fiind foarte semnificative (Bezel et al., 1994).

Metodologia pentru evaluarea riscului de mediu nu este pe deplin dezvoltată. În majoritatea cazurilor, concluziile sale sunt calitative, descriptive. Încercările de a introduce metode de evaluare cantitative se confruntă cu dificultăți serioase.

Acest lucru se datorează complexității ecosistemelor, impactului complex al stresorilor asupra mediului (nu numai chimic, ci și fizic și biologic), cunoașterea insuficientă a caracteristicilor pericolului ecotoxic al unei cantități uriașe de xenobiotice utilizate de oameni etc. În acest sens, în opinia ecologiștilor înșiși, evaluarea riscurilor de mediu este în mare parte o artă care necesită o permanentă dezvoltare.

Bibliografie

- Agency of Environmental Protection of United States (2011). “Office of Chemical Safety and Pollution Prevention.” 5 October 2011. U.S Environmental Protection Agency. 9 December 2011.
- Ballschmiter, K. and Zell, M. (1980) ‘Baseline studies of the global pollution’, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. Taylor & Francis Group , 8(1), pp. 15-35. doi: 10.1080/03067318008071876.
- Bazerman, Charles and René Agustin De los Santos (2006). “Measuring Incommensurability: Are toxicology and ecotoxicology blind to what the other sees?” 9 January 2006.
- Bezel V.S., Bolshakov E.L., Vorobeychik E.L., (1994) Population ecotoxicology, M. B.C. Безель, Е.Л. Большаков, Е.Л. Воробейчик. Популяционная экотоксикология, М.: Наука, 1994. - 80 с.
- Bogdanovsky G.A. (1994) Chemical ecology: Textbook (in RU) -Богдановский Г.А.Химическая экология: Учебное пособие / Москва: Изд-во МГУ, 1994. 237с. с. Butler, G. C.(1978) Principles of Ecotoxicology; Wiley & Sons: New York, 1978.
- Butler G. C. (1984) Developments in Ecotoxicology.
- Calow Peter P. (Ed.) (1998) Handbook of Environmental Risk Assessment and Management, 600 p., 1998.
- Carson R. (1962) *Silent Spring Houghton Mifflin*. Houghton Mifflin Company.
- Chapman P. M. (2002). “Integrating toxicology and ecology: putting the “eco” into ecotoxicology”. *Marine Pollution Bulletin*. 44 (1): 7-15.
- Connell Des et al. (1999). *Introduction to Ecotoxicology*. Blackwell Science. ISBN 978-0-632-03852-7.
- Ciubotaru, V. (2003) *Inventarul național al Poluanților Organici Persistenți al Republicii Moldova*. Chișinău.
- Directive 2000/60/EC of the European Parliament and Council Establishing a Framework for Community Action in the Field of Water Policy; OJ:L327, Dec 22, 2000, 1–73.
- Ecological Bulletins No. 36 (1984), *Ecotoxicology: Proceedings of the Third Oikos Conference Held 30 November: 2 December, 1982, in Copenhagen, Denmark (1984)*, pp. 9-12
- ECETOC (2021), *Guidance on Dose Selection ECETOC TR No. 138*
- Brussels, March 2021 <https://moldova.europalibera.org/a/dou%C4%83-decenii-de-la-decizia-nato-de-a-intervenii-militar-%C3%AEn-serbia/29508829.html>
- Egorov V.V. (2009) *Environmental Chemistry: Textbook (in RU)*. Егоров В. В. Экологическая химия: Учебное пособие. – СПб.: «Лань», 2009. – 192 с.
- EPA U.S. Clean Water Act Policy and Guidance Documents. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2018-10/documents/quality-criteria-water>.
- Forbes V.E., Forbes T.L. (1984) *Ecotoxicology in Theory and Practice*, 247 p.
- Forbes V.E., Forbes T.L. (1995) *Ecotoxicology in Theory and Practice*, INRA Paris, 35 p.
- Forbes, V. E.; Calow, P. (1999) *Environ. Toxicol. Chem.* 1999, 18, 1544–1556.
- Frumin G.T. (2013) *Environmental toxicology (ecotoxicology)*. Lecture course (in RU)-Фрумин Г.Т. Экологическая токсикология (экоотоксикология). Курс лекций. РГГМУ, 2013. - 179 с.
- Golikov S.N. (1972), *Guide to the toxicology of toxic substances (Ru) - Голиков С.Н., Руководство по токсикологии отравляющих веществ – 1972* Москва. Медицина.470 с.
- Gobas F. A. P. C. et al. (1999), ‘Mechanism of biomagnification in fish under laboratory and field conditions’, *Environmental Science and Technology*. ACS, 33(1), pp. 133-141. doi: 10.1021/es980681m.
- Harris Catherine A., Alexander P. Scott, Andrew C. Johnson, Grace H. Panter, Dave Sheahan, Mike Roberts, John P. Sumpter (2014): *Principles of Sound Ecotoxicology*. Environ. Sci. Technol., Article ASAP, doi: 10.1021/es4047507
- Hughes W.W .(1996). *Essentials of Environmental Toxicology*, Taylor & Francis, Washington, Bristol, London, 1996.
- Hodge A, Sterner B (2005). *Toxicity Classes In: Canadian Centre for Occupational Health and safety*.
- Hoffman David J., Barnett A. Rattner, G. Allen Burton, Jr., and John Cairns, Jr. (2003) *Handbook of Ecotoxicology*, 1290 p.

- Izrael Yu. A. (1984) (Ecology and control of the state of the natural environment (inRU) Израэль Ю. А. Экология и контроль состояния природной среды (рус.). — 2-е издание. — М.: Гидрометеиздат, 1984. — С. 560.
- Kaplin V.G. (2006) Fundamentals of ecotoxicology, textbook Каплин В.Г. Основы экотоксикологии, учебное пособие, Москва, Колос, 2006, 232 с.
- Katagi T. (2010) 'Bioconcentration, bioaccumulation, and metabolism of pesticides in aquatic organisms', *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Springer, New York, NY, 204, pp. 1-132. doi: 10.1007/978-1-4419-1440-8_1.
- Katrin Franke Bader (2012) List of Modules. Ecotoxicology (Master of Science) for the Master's Program at the University Koblenz-Landau, Campus Landau, 2012, 61 p.
- Korte F. (Ed.) (1997) Environmental Chemistry (in RU), Moscow: Mir, 1997, 96 p. Экологическая химия/ Под ред. Ф. Корте. М.: Мир, 1997. 396 с.
- Kutsenko S.A. (2002) Fundamentals of Toxicology. St. Petersburg (inRU) Куценко С.А. Основы токсикологии. Санкт-Петербург, 2002 г. Том 4, 119 с.
- Liess Matthias; Foit Kaarina; Knillmann Saskia; Schäfer Ralf B.; Liess, Hans-Dieter (2016). «Predicting the synergy of multiple stress effects». *Scientific Reports*. 6 (1): 32965.
- Lysenko N.N., Dogadina M.A. (2015), Fundamentals of ecotoxicology: textbook Н.Н. Лысенко, М.А. Догадина Основы экотоксикологии: учебное пособие - Орел: Изд-во Орел ГАУ, 2015. - 460 с.
- Moiseenko T. I. (2008) Aquatic ecotoxicology: theoretical principles and practical application (in RU) Т. И. Моисеенко Водная экотоксикология: теоретические принципы и практическое приложение ВОДНЫЕ РЕСУРСЫ, 2008, том 35, № 5, с. 554-565.
- Negrei Costel, Palarie Teodora-Alexandra (2013), Evaluarea riscurilor poluarii. Suport al managementului ecosistemelor acvatice, ASE București, 2019.
- Oprea Lucian (2007) Ecotoxicologie *Note de curs pentru studenții de la specializarea Ingineria și Protecția Mediului*, UDJG, România, 2007.
- Hamir S. Rathore and Leo M.L. Nollet (2012) (Ed.), PESTICIDES, Evaluation of Environmental Pollution, 644 p.
- Ostroumov S.A. (2004), The biological mechanism of self-purification in natural reservoirs and watercourses: theory and applications. *Advances in modern biology* (in RU) - Остроумов С.А. Биологический механизм самоочищения в природных водоемах и водотоках: теория и приложения. Успехи современной биологии. 2004. т.124. №5. с.429-442.
- Panin M.S., Bezel V.S. (2008) Ecotoxicology, textbook for universities (in RU) Панин М.С., Безель В.С. Экологическая химия, учебник для ВУЗов, Алматы, Паритет, 2008, 344 с.
- Perminova Irina V., Kirk Hatfield, Norbert Hertkorn (2020) Use of Humic Substances to Remediate Polluted Environments: From Theory to Practice. IV. Earth and Environmental Sciences - Vol. 52
- REACH – Regulation for Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals No 1907/2006
- Ramade François (1977), *Écotoxicologie*, Ed. Masson (1^{re} édition).
- Relyea, Rick; Hoverman, Jason (2006). "Assessing the ecology in ecotoxicology: a review and synthesis in freshwater systems". *Ecology Letters*. 9 (10): 1157-1171.
- Robinson L, Thorn I. (2005). Toxicology and ecotoxicology in chemical safety assessment. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK. 157 p.
- Schueuermann G, Markert B. (1997), *Ecotoxicology*, Wiley, NY, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto.
- Straalen, Nico M. Van (September 2003). "Peer Reviewed: Ecotoxicology Becomes Stress Ecology". *Environmental Science & Technology*. 37 (17): 324A-330A.
- Straalen, N. M. Van, *Biodegradation* 2002, 13, 41–52. Sci Finder Chemical Abstracts Service (August 2018).
- Truhaut, René (September 1977). „Ecotoxicology: Objectives, principles and perspectives”. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 1 (2): 151-173.
- Vergeichik T. Kh. (2009) Toxicological chemistry, textbook, (in RU)-Вергейчук Т.Х, Токсикологическая химия, учебник, Медпрессинформ, 2009, 400с.
- Walker C.H., Sibly RM, Hopkin SP and Peakall DB (1998) Principles of Ecotoxicology, 360 pages.
- Walker, C. H.; Hopkin, S. P.; Sibly, R. M.; Peakall, D. B. Principles of Ecotoxicology; 2nd ed.; Taylor & Francis: London, 2001.
- World Health Organization (1992). Promotion of Chemical Safety Unit & International Programme on Chemical Safety.
- Yufit S.S. (2002) Poisons around us. A challenge to humanity. M. (in RU): Classics Style, 2002. 368 p Юфит С.С. Яды вокруг нас. Вызов человечеству. М.: Классикс Стиль, 2002. 368 с.
- Zubcov E.I.; Zubcov, N.N.; Ene, A.; Bilețchi, L. (2012), Assessment of copper and zinc levels in fish from freshwater ecosystems of Moldova. *Environmental Science and Pollution Research* 19(6), 2238-2247.
- Zubcov E., Bilețchi, L.; Zubcov, N.; Philipenko, E.; Borodin, N. (2013a) The metal accumulation in aquatic plants of Dubăsari and Cuciurgan reservoirs. *Muzeul Olteniei Craiova. Oltenia. Studii și comunicări. Științele Naturii*, 2013, 2, Tom. 29, p. 216-219.
- Zubcov E.; Zubcov, N.; Bagrin, N.; Bilețchi, L. (2013b), Monitoring of trace metals in the Prut River. *Annals of "Dunarea de Jos" University of Galati, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics*, Fascicle II, Year V(XXXVI) 2013, 2, p. 232-236.
- Zubcov E.; Bilețchi, L.; Zubcov, N.; Bagrin, N. Evaluarea migrației metalelor și determinarea toleranței ecosistemelor acvatice prin cooperare transfrontalieră. *Akademos*, No.2, 2015, p. 42-48. <http://www.akademos.asm.md/taxonomy/term/81>.

INVESTIGAȚII ECOTOXICOLOGICE ALE ECOSISTEMELOR ACVATICE

(*studiul ecotoxicanților*)

Elena Zubcov^{1,2}, Laurenția Ungureanu^{1,2}, Ion Toderaș¹, Natalia Zubcov¹, Antoaneta Ene², Nina Bagrin¹, Lucia Bilețchi¹, Nadejda Andreev¹, Victor Ciornea, Olga Jurminscaia¹, Dumitru Bulat¹, Denis Bulat¹, Daria Tumanova¹, Petru Ciorbă¹, Liubovi Lebedenco¹, Liliana Teodorof^{2,3}, Thomas Spanos^{2,4}

¹ Institutul de Zoologie, Str. Academiei nr.1, Chișinău, R. Moldova

² Universitatea Dunărea de Jos din Galați, Centrul de cercetare internațional interdisciplinar INPOLDE, Facultatea de Științe și Mediu, Str. Domnească nr.47, 800008 Galați, România

³ Institutul Național Delta Dunării, Strada Babadag nr.135, Tulcea, Romania

⁴ International Hellenic University, Kavala, Greece

2.1. INTRODUCERE

Ecotoxicologia acvatică presupune soluționarea unei game largi de probleme care țin de studiul biodiversității, cu precondiție funcționării durabile a hidrobiocenozelor în vederea determinării capacității de suport a ecosistemelor acvatice cu diferit rang de antropizare, cuantificarea migrației ecotoxicanților și elaborarea proceselor de bioremediere a ecosistemelor acvatice. Descifrarea proceselor de migrație, bioacumulare, bioamplificare și a rolului ecotoxicanților, în special a metalelor, în funcționarea ecosistemelor acvatice este o problemă foarte actuală de importanță mondială, un rol special având cuantificarea aportului comunităților de hidrobionți în procesele de autoepurare și poluare secundară a apelor continentale.

Cuantificarea rolului funcțional și ponderii principalelor grupuri de hidrobionți în migrația biogenă a metalelor, în procesele de autoepurare și poluare secundară a apelor continentale, cât și determinarea influenței substanțelor chimice asupra dezvoltării peștilor în etapele de ontogeneză timpurie, în metabolismul și dezvoltarea organismelor acvatice, decurgerea proceselor producțio-

nal-destrucționale, au stat la baza formării conceptului evaluării capacității de tampon sau de rezistență a ecosistemelor acvatice din Moldova, determinarea limitei toleranței unor organisme acvatice la substanțe chimice (Zubcov 1997, 2000).

Aceste investigații ecotoxicologice multianuale complexe realizate în cadrul mai multor proiecte naționale (AQUYSYS, 2014-2019; AQUABIO 2020-2023) și internaționale (MIS ETC 1150, 2012-2015; MIS ETC 1676 - INPOLDE, 2013-2015; BSB27 MONITOX și BSB165 HydroEcoNex, 2018-2021 ș.a.).

Investigațiile ecotoxicologice ale ecosistemelor acvatice curgătoare și lacustre, cât și aprecierea calității apei, produselor piscicole, estimarea riscurilor și elaborarea bazelor științifice privind valorificarea durabilă a resurselor acvatice pot fi divizate în 2 compartimente - cele cu aspectul pur ecologic, și celor ecotoxicologice (Figura 2.1)

Sursele de bază ale metalelor în apele continentale sunt rocile mamă, solurile, și, de asemenea, poluarea tehnogenă. Metalele reprezintă una din cele mai numeroase substanțe ecotoxice persistente care, pătrunzând în apele de suprafață, joacă un rol foarte important fiind, în dependență de concentra-

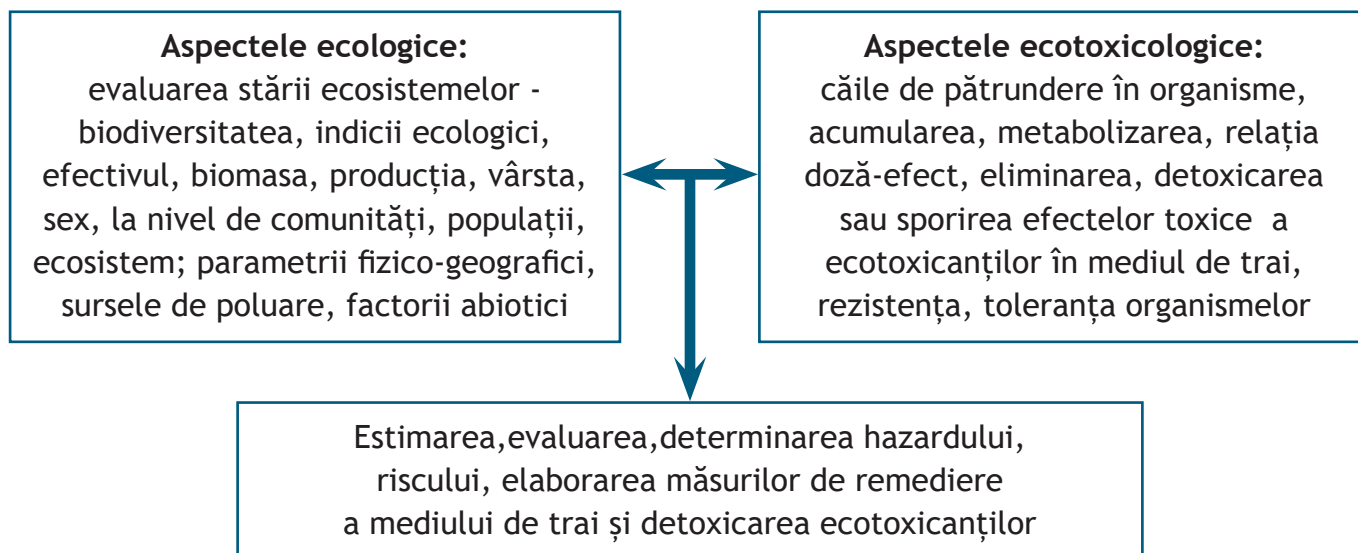


Figura 2.1. Compartimentele principale ale investigațiilor ecotoxicologice

ții și forme de migrație, elemente esențiale biocatalizatoare a proceselor biochimice sau, invers, elemente toxice și periculoase.

Numărul mare de metale, varietățile formelor de migrație acestora, cât și diapazonul larg a concentrațiilor stau la baza mai multor clasificări ale acestui grup de substanțe ecotoxice, de la “elemente ale vieții”, “biometale”, până la “toxicanți”, “metale grele”, după influența lor asupra organismelor vii. Dar mai există și clasificări după proprietățile chimice, conform repartizării în mediul înconjurător ș.a. (Strakhov, 1979; Linnik, Nabivanets, 1986; Szyzewski et al. 2009).

Strakhov (1979) în premieră a introdus noțiunea de **formă de migrație**, și a stabilit că o parte considerabilă a metalelor migrează în apele râurilor în formă de suspensii, accentuând importanța cercetării raportului între formele solubile și ale celor în suspensie de migrație, în calitate de indicator al proceselor geologice și fizico-geografice ale regiunilor.

Capacitatea de migrație a metalelor în apele de suprafață și formele lor de migrație sunt condiționate atât de înseși proprietățile metalelor, cât și de particularitățile fizico-chimice ale mediului, adică de mărimea pH-ului, a temperaturii, condițiile de oxido-reduce-

re, regimul hidrologic, prezența agenților de complexare, a substanțelor în suspensie, de activitatea vitală a hidrobionților (Strakhov, 1979; Linnik, Nabivanets, 1986).

Activitatea umană introduce rectificări substanțiale în repartizarea și migrația metalelor în mediul acvatic. Starea celor mai mari râuri, lacuri și lacuri de acumulare de pe glob demonstrează că dinamica metalelor, formele lor de migrație, depind în mare măsură de complexul factorilor antropici (ape reziduale industriale, scurgerile de suprafață de pe terenurile agricole, teritoriile urbanizate și autostrăzi).

Poluarea apelor de suprafață a dat imbold unei noi direcții de cercetare - celei toxicologice, și astfel au apărut o serie de lucrări de sinteză asupra poluării mediului, inclusiv a apelor de suprafață. Pătrunzând în ecosistemele acvatice, metalele pot deveni cauza intoxicării hidrobionților și, în ultimă instanță, a omului (Moore, Ramamoorthy, 1984).

Dificultatea determinării limitelor de rezistență constă în faptul că, spre deosebire de compușii organici inclusiv celor persistenti, metalele nu se descompun, ci trec doar dintr-o stare în alta, ceea ce complică mult evaluarea influenței metalelor asupra animalelor și plantelor acvatice.

În acest context investigarea migrației metalelor în apele de suprafață reprezintă astăzi una dintre cele actuale direcții științifice de cercetare în domeniul ecotoxicologiei. Cercetările ecotoxicologice, orientate spre clarificarea importanței biologice a metalelor, acțiunii lor toxice asupra hidrobionților și calității apei corespund cerințelor mai multor Directive și Regulamentelor în domeniul conservării mediului de trai ([Directive 2000/60/EC](#); [SETAC Europe 29th Annual Meeting 26–30 May 2019](#); [REACH – Regulation No 1907/2006](#); [WHO Promotion of Chemical Safety Unit & International Programme on Chemical Safety, 1992](#); [Philip et al. 2018](#)).

Toate direcțiile sus-menționate de cercetare sunt actuale pentru Republica Moldova, unde se resimte acut deficitul de apă de calitate bună, iar acțiunea antropică asupra mediului crește în continuu.

2.2. GENERALIZĂRI METODOLOGICE

Investigațiile ecotoxicologice ale metalelor au fost realizate pe fluviul Nistru și râul Prut - principalele artere acvatice ale Republicii Moldova, care sunt corpuri de apă limitrofe, deoarece își au originea pe teritoriul Ucrainei în munții Carpați și își duc apele prin regiunile cu populație densă ale Ucrainei, Moldovei și României (Figura 2.2).

Lacul de acumulare-refrigerent Cuciurgan și lacul de baraj Costești-Stânca reprezintă, de asemenea, ecosisteme de graniță cu destinație complexă. Pe ambele râuri au fost construite lacuri de baraje cu destinații hidroenergetice. În bazinele hidrografice ale ambelor ecosisteme sunt concentrate mari centre industriale principale ale țărilor nominalizate, prin urmare, calitatea apelor lor în mare parte depinde de influența antropică în aceste regiuni și de realizarea măsurilor de

protecție a naturii, bazate pe elaborări științifice și cunoașterea legităților proceselor intrabazinice de repartizare și migrație a elementelor chimice.

Pentru stabilirea legităților repartizării și migrației metalelor în sistemul “apă-substanțe în suspensie-depuneri subacvatice-hidrobionți” și determinarea rolului factorilor principali naturali și antropici care influențează direcția și formele lor de migrație materialul sa colectat sistematizat din 10-12 puncte ale ecosistemelor curgătoare (fl. Nistru de la Naslavcea - până la Palanca, pe r. Prut de la Costești- Stânca până la Giurgiulești; în ultimii ani și de la Criva - până la Costești) lunar sau trimestrial în conformitate cu regulamentele standardizate și reflectate în ghidul editat recent ([Hydrochemical and hydrobiological sampling guidance, 2015](#)). Analiza și monitoringul complex al stării ecosistemelor acvatice, inclusiv determinarea metalelor, s-au realizat prin metode clasice și conform standardelor ISO ([Guidance on the Monitoring of Water Quality and Assessment of the Ecological Status of Aquatic Ecosystems, 2020](#)).



Figura 2.2. Bazinul hidrografic al râurilor transfrontaliere ale Republicii Moldova

Paralel s-a creat o bază de date hidrologice (debitul apelor curgătoare, viteza apei, cantitatea suspensiilor, transparența); hidrochimice (mineralizarea, procesele de oxido-reducere, valoarea pH, regimul gazos, conținutul substanțelor organice în apă, suspensii, mîluri); climaterice (temperatura, cantitatea precipitațiilor atmosferice) materiale despre volumul apelor reziduale și cantitatea utilizării îngrășemintelor și pesticidelor care conțin metale (țeneb, cuprozan etc.); date geologice (componenta chimică a solurilor și rocilor, parametrii hidrogeologici) din bazinele hidrografice.

În plus, s-a determinat cantitatea metalelor în apele reziduale revărsate în ecosistemele acvatice investigate, în precipitații atmosferice (ploi și zapadă), în scurgerile de pe teritoriile industriale (termocentrala, municipiul Chișinău) sau de pe câmpurile agrare (viță de vie, livezi).

Probele de apă, supuse analizei conținutului de metale, imediat *in situ*, au fost filtrate prin filtre membrane cu diametrul porilor de 45 microni, pentru separarea metalelor dizolvate de formele suspendate. Probele de mîluri și cele biologice erau puse în proces de prelucrare nu mai târziu de 12-24 h după colectare. În mîluri s-a determinat conținutul metalelor în total, în 5 fracții granulometrice, în soluții nămolose, obținute prin centrifugarea timp de 30-45 minute cu viteza de 2500-3000 rotații/min.

În substanțele suspendate și depunerile subacvatice, în afară de determinarea conținutului total de microelemente și a cantității totale de substanțe organice, s-au determinat și formele mobile ale metalelor: Me_1 - carbonații ușor solubili și ușor interșanjabili adsorbiți, Me_2 - forma organominerală și Me_3 - metalele ce se află în asociație cu hidroxizii amorfi de fier și mangan. Formele indicate au fost separate prin metoda extragerii treptate, conform unei scheme descrisă anterior în detaliu (Zubkova, 1996).

Pentru stabilirea nivelului și legităților de bioacumulare a metalelor în plantele și animalele acvatice și evaluarea contribuției principalelor grupuri de hidrobionți în migrația biogenă a elementelor chimice pentru elucidarea rolului metalelor în funcționarea ecosistemelor acvatice, s-au colectat trimestrial probe de alge superioare (macrofite) nevertebrate planctonice și bentonice. Probele de hidrobionți au fost divizate după mărimea corpului, cântărite și supuse analizei metalelor și valorii umidității. În paralel s-au realizat cercetări hidrobiologice: diversitatea, efectivul, biomasa, producția).

Pentru evaluarea influenței și stabilirea nivelului de acumulare a metalelor în etapele timpurii ale ontogenezei ale peștilor, a fost cercetat conținutul de microelemente în icre și larve la diferite etape ale dezvoltării lor (morula, gastrula, organozeneză, după eclozarea larvelor, larve de 3, 6 și 12 zile). Au fost efectuate numeroase lucrări experimentale și modelări nemijlocit în condițiile întreprinderilor gospodăriilor piscicole cu larve, puiet, pești-marfă și pești reproducători (Zubkova N., 2011).

Pentru determinarea nivelului de acumulare a metalelor în pești s-au analizat mușchii corpului, pielea, branhii, ficatul, gonadele.

În scopul stabilirii influenței metalelor asupra mărimii producției primare a fitoplanctonului și a destrucției substanței organice, au fost efectuate lucrări experimentale nemijlocit în situ pe fl. Nistru și r. Prut, lacurile de acumulare Dubăsari, Cuciurgan și Costești-Stânca. Pentru experimente s-a colectat o cantitate de apă din care o parte s-a luat pentru analiza metalelor, iar în altele - s-au adăugat soluții de metale în concentrații acestora de la minim până la maxim posibil pentru ecosistemul dat (de la 5 până la 10 concentrații).

Cu probele de apă, obținute cu adaosul metalelor împreună cu apa de referință (fără adaos), s-au umplut sticle (transparente) pentru determinarea producției primare și a destrucției materiei organice (sticle opa-

ce), care au fost supuse expoziției timp de 24 ore, la adâncime de 30 cm de la suprafața apei, apoi utilizând metoda de determinare a oxigenului dizolvat, s-au calculat valorile producției și destrucția, prin metoda clasică ([Guidance on the Monitoring of Water Quality and Assessment of the Ecological Status of Aquatic Ecosystems, 2020](#)).

Pentru evaluarea capacității de tampon a ecosistemelor acvatice din Moldova și a calității apei după conținutul a metalelor, alături de investigațiile sus numite au fost realizate modelări *in situ* și mai multe experiențe de laborator.

Astfel, investigațiile au fost realizate conform schemei din Figura 2.3.

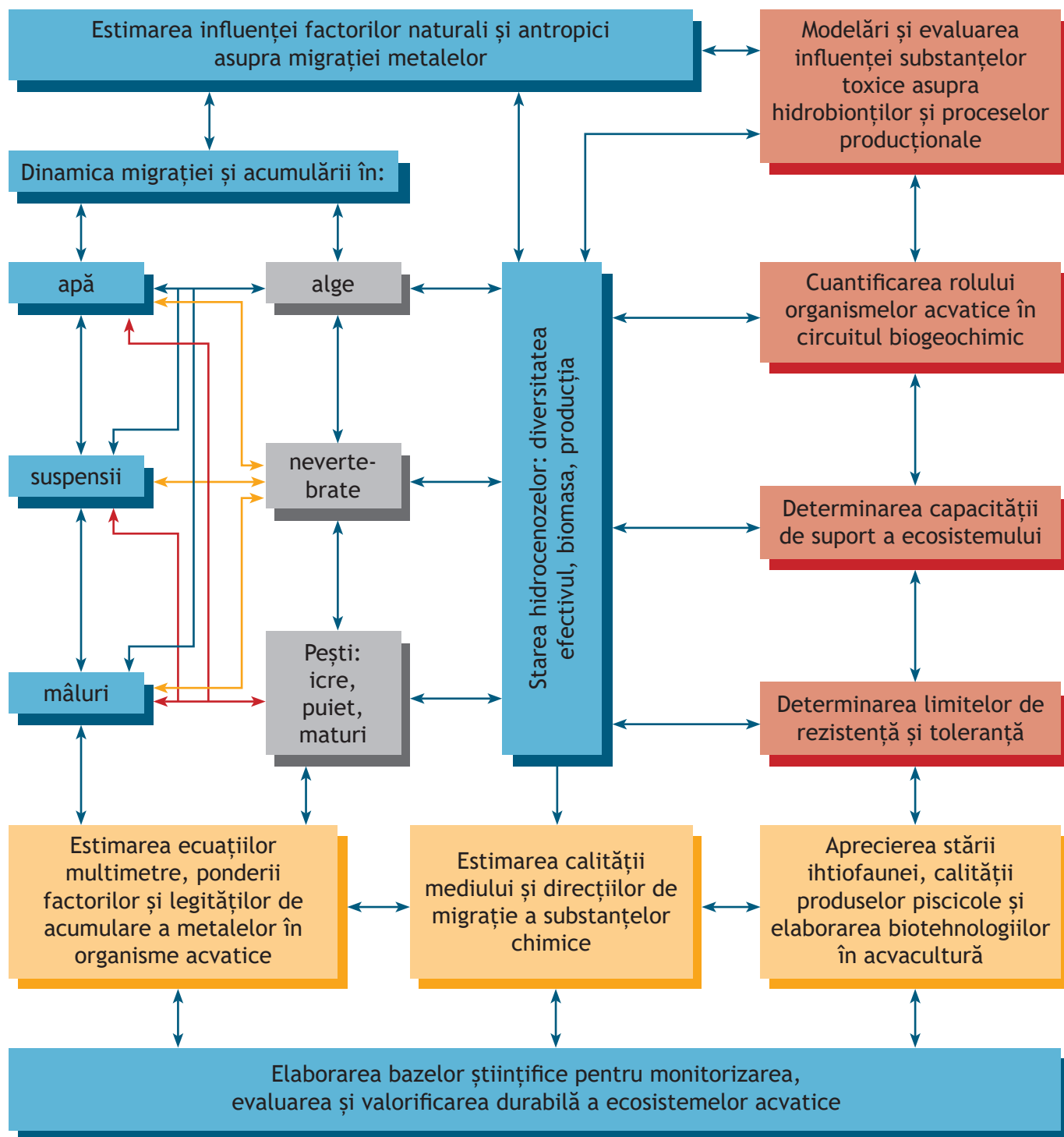


Figura 2.3. Schema investigațiilor ecotoxicologice a metalelor în ecosisteme acvatice

2.3. REZULTATELE INVESTIGAȚIILOR ECOTOXICOLOGICE

Ecotoxicologia și biomonitoringul metalelor în ecosistemele acvatice, cu scopul stabilirii limitelor de toleranță și evaluării rezistenței plantelor și animalelor acvatice în condițiile instabilității proprietăților fizico-chimice ale mediului acvatic, este o problemă majoră din mai multe considerente.

În primul rând, aceste investigații contribuie semnificativ la soluționarea problemelor cu caracter fundamental - stabilirea evoluției diversității specifice a hidrofaunei, descifrarea mecanismelor de reglare a efectivelor lor numerice, proceselor bioprodactivității, structurii trofice a comunităților, circuitului și fluxului elementelor chimice în lanțurile trofice ale ecosistemului. Aspectul aplicativ constă în protecția genofondului faunei și florei acvatice, elaborarea recomandărilor privind restaurarea și valorificarea durabilă a resurselor acvatice (Zubcov et al. 2016).

Importanța investigațiilor complexe multi- anuale realizate ne-au permis pentru prima dată, prin efectuarea analizei polifactoriale, să determinăm parametrii cantitativi ai ponderii factorilor principali (debitul apei, cantitatea de suspensii, volumul apelor reziduale deversate, cantitatea utilizată de agrochimicale și îngrășăminte) în dinamica migrației metalelor în apă, suspensii, mълuri ale Nistrului și Prutului.

Legitățile date sunt descrise de ecuațiile de tipul:

$$y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2... + a_nx_n$$

De exemplu, în cazul aluminiului și titanului factorii naturali, cum ar fi debitul apei (Q , m^3/s) și cantitatea de substanțe în suspensie din apă (S , mg/l) sunt determinanți, și pentru r. Răut (afluentul fl. Nistru) aceste metale se încadrează în următoarele ecuații:

$$Al = 0,330 \cdot Q + 0,012 \cdot S + 1,2; \quad R = 0,82$$

$$Ti = 0,159 \cdot Q + 0,011 \cdot S - 0,7; \quad R = 0,86.$$

Sursele principale de aluminiu în ecosistemele acvatice sunt rocile muntoase și solurile regiunii. Ponderea factorilor naturali în dinamica migrației acestor metale depășește 80% atât în fl. Nistru, cât și în r. Prut și afluenții lor. Nu a fost determinată o influență evidentă a factorilor antropici asupra dinamicii aluminiului și titanului.

În anii 80-90' ai secolului trecut, dinamica cuprului și zincului în apele investigate era într-o dependență pronunțată de cantitatea agrochimicelor cu conținut ridicat al acestor metale (vitriolul albastru și țeneb), utilizate împotriva bolilor viței de vie și livezilor, ponderea acestor agrochimicale în procesele de migrație a cuprului și zincului în bazinele hidrografice ale ecosistemelor acvatice oscilând în limitele 40-70 %.

Utilizarea preparatelor chimice și a îngrășămintelor pe terenurile agricole în perioada dezvoltării agriculturii intensive influențează puternic dinamica migrației Cu, Zn, Mn în ecosistemele acvatice a Republicii Moldova ($r=0,70-0,92$) la care contribuie caracterul abundent al precipitațiilor atmosferice, relieful puternic dezmembrat, procesele intense de erodare (Zubcov et al., 2013 a).

Apele reziduale ale orașelor și întreprinderilor industriale poluează ecosistemele acvatice cu Ni, Zn, Cu, Ag, Cd ($r>0,73$), modifică raportul formelor dizolvate și suspendate de migrație a metalelor, ceea ce în special se resimte mai jos de municipiul Chișinău, orașele Soroca, Râbnita, Tighina, Tiraspol, Iași, Cahul, îndeosebi în perioada de etiaj.

Au fost elucidate unele aspecte despre migrația metalelor în ecosisteme acvatice tehnogene, de exemplu lacul de acumulare - răcitor al termocentralei Cuciurgan. Pentru acest ecosistem au fost determinat trendul multianual al dinamicii metalelor - indicatori ai activității termocentralelor (Mo, V, Cd, Pb,

ș.a.) A fost stabilită o dependență puternică de factorul de timp (A, an), cantitatea arsă de cărbune (C, t/an) și păcură (P, t/an), care pentru concentrațiile molibdenului în apă ($Mo, \mu g/l$) și vanadiului - în suspensii ($V_s, \mu g/l$) este descrisă prin următoarele ecuații:

$$Mo = 0,91 \cdot A + 4,33 \cdot C + 3,65 \cdot P - 1809; R = 0,81$$

$$V_s = 1,04 \cdot A + 6,97 \cdot C + 0,1 \cdot P - 2068; R = 0,82.$$

Funcționarea termocentralei a demarat poluarea apei bazinului-refrigerent cu V, Mo, Ni, Cd, Mn, iar a depunerilor subacvatice - și cu Pb, Zn, Cu, concentrațiile cărora aflându-se într-o dependență corelațională directă de cantitatea de combustibil arsă la stație ($r=0,76-0,97$). Temperaturile sporite se reflectă asupra proceselor de oxido-reducere ce schimbă migrația metalelor în sistemul "apă-suspensii-mâluri". În acest ecosistem sunt înregistrate procesele de poluare secundare, când metalele din mâluri nimeresc în stratul de apă. În zona termocentralei și în precipitațiile atmosferice, concentrația metalelor este de 3-15 ori mai mare comparativ cu cea din afara zonei.

Depunerile subacvatice ale fl.Nistru și r.Prut se referă la nămoluri nisipoase, ale lacului de baraj Dubăsari, la nămoluri și nămoluri argiloase ale bazinului Cuciurgan. Substanțele suspendate și depunerile subacvatice ale lacurilor de acumulare și râurilor reprezintă acumulatori puternici; pentru mai multe metale, conținutul acestora în mâluri este vizibil mai ridicat decât în rocile parentale și solurile regiunii.

S-a stabilit că în complexul adsorbit, împreună cu carbonații ușor solubili și în asociațiile hidroxizilor amorfi de fier și mangan ai depunerilor subacvatice sunt concentrate 56-78 % de metale în forme mobile de migrație și accesibile pentru hidrobionți. A fost determinată dependența conținutului diferitelor forme de migrație a metalelor și a repartizării lor în fracțiile granulometrice a depunerilor subacvatice de cantitatea particulelor argi-

loase (G, %) fin dispersate și cea a substanțelor organice din ele (B, %) , care sunt descrise de ecuațiile regresionale, ca de exemplu, pentru acumularea conținutul unor metale din mâlurile acumulării Dubăsari:

$$Cu = 0,29 \cdot G + 42,23 \cdot B - 49,5; R = 0,94$$

$$Mn = 0,90 \cdot G + 0,08 \cdot B + 68,5; R = 0,99$$

$$Ni = 0,75 \cdot G + 1,56 \cdot B + 117,7; R = 0,99.$$

Conform uneia din principalele concepții ale biogeochimiei și toxicologiei (Filenko, 1986), organismele și biocenozele nu numai că se adaptează la factorii chimici ai mediului, dar, la rândul lor, modifică real componența mediului în concordanță cu necesitățile viului în procesul dezvoltării și reproducerii. În legătură cu aceasta, unul din criteriile stabilirii nivelului admisibil al conținutului de metale în obiectele biologice este determinarea dependențelor între concentrația lor și intensitatea bioproducerii hidrobionților în ecosistem. În cazul în care nu se ține cont de influența poli-factorială a condițiilor naturale asupra proceselor intrabazinice și, de asemenea, de caracteristicile fiziologo-chimice ale hidrobionților, poate fi obținută o imagine neobiectivă a situației, deoarece metalele reprezintă simultan atât elemente vital necesare, cât și elemente toxice (Zubcov et al., 2016).

Am considerat că este necesar să determinăm limitele concentrațiilor metalelor în apa fl.Nistru, r.Prut, a lacurilor de acumulare Dubăsari, Costești-Stânca și Cuciurgan, de a elucida concentrațiile optime și acele care pot avea o acțiune inhibitoare asupra proceselor producțional-destrucționale (Zubcov, 1997,2000). Analiza rezultatelor obținute demonstrează că pentru toate ecosistemele acvatice investigate se urmăresc legități comune ale influenței unor sau altor metale asupra producției fitoplanctonului și destrucției substanțelor organice, majoritatea fiind descrise de ecuații polinomiale de ordinul 2-4 (Figura 2.4).

Astfel, au fost stabilite concentrațiile optime sau favorabile pentru funcționarea eco-

sistemelor (care nu influențează procesele producțional-destrucționale), concentrațiile admisibile (treptat micșorează producția primară) și concentrațiile extreme sau critice pentru ecosistemele acvatice (mări-

mea producției primare scade brusc și atinge valoarea zero) care permit să atribuim ecosistemele acvatice în categoria nepoluante, poluate și puternic poluate sau murdare (Zubcov, 1997, 2000).

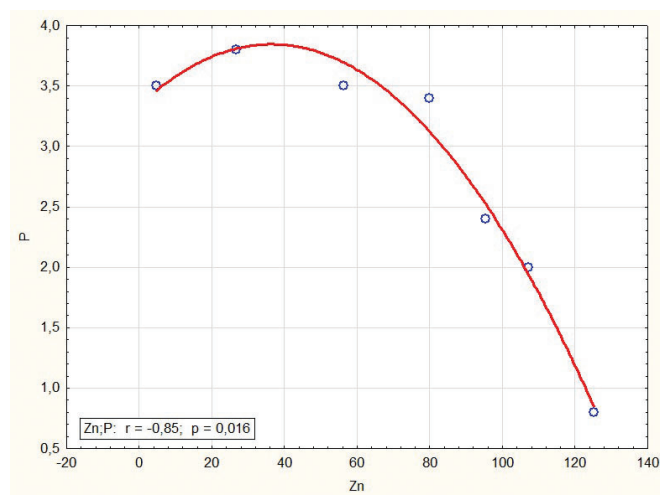
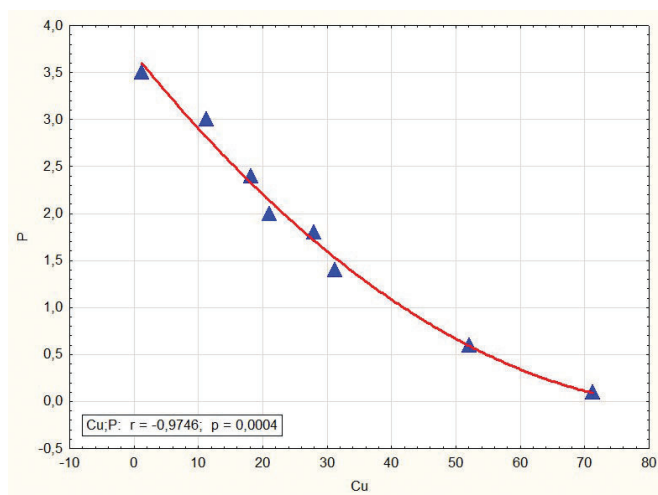


Figura 2.4. Dependența valorilor producției primare a fitoplanctonului (P, mg O₂ / l) de concentrațiile unor metale (Cu, Zn)

În anul curent s-a dovedit că elementele Cd și Bi deja la concentrații de 1,5-2,0 μg/l inhibă procesele producționale ale fitoplanctonului. Co sporește aceste procese până la concentrațiile de 4,5-5,0 μg/l iar Se - până la 46-50 μg/l. Capacitatea de suport la concentrații sporite în r. Prut este mai mare decât în fl. Nistru, ceea ce este direct provocat de dezechilibrul regimului hidrologic ale fl. Nistru.

Stabilirea fluxurilor și dezvăluirea legităților de acumulare a metalelor în plantele și animalele acvatice, alături de cele ale proceselor producțional-destrucționale, au stat la baza formării conceptului evaluării capacității de tampon a ecosistemelor acvatice din Moldova în dependență de dinamica conținutului metalelor. Astfel este fundamentată teoretic și propusă o nouă metodologie a evaluării stării ecosistemelor acvatice, conform căreia apele Nistrului, Prutului, lacurilor de acumulare Dubăsari și Costești-Stânca în 85-94% de cazuri au fost favorabile și doar în 2-6% de cazuri critice pentru procesele producțional-destrucționale, în lacul de acumu-

lare Cuciurgan, respectiv, în 68-84% și 8-17% de cazuri (Zubcov et al., 2013a,b).

Diapazonul oscilațiilor concentrației metalelor în plantele acvatice cercetate este destul de mare și este condiționat de particularitățile taxonomice ale plantelor, conținutul de metale în apă și depunerile nămoase, proprietățile chimice și importanța biologică a microelementelor și, de asemenea, de anotimp (Zubcov et al., 2013a,b). Însă, investigațiile multianuale ne-au permis să stabilim dependența conținutului unui șir de microelemente în plantele acvatice de concentrațiile lor în apă, care se încadrează în cea liniară (Figura 2.5).

Prin modelări de laborator s-a stabilit acumularea metalelor în fitoplancton (Figura 2.6).

Diapazonul oscilațiilor concentrațiilor metalelor în nevertebratele bentonice din ecosistemele acvatice ale Moldovei este foarte mare și este condiționat atât de variația condițiilor naturale ale mediului ambiant, importanța biologică a metalelor, cât și de particularitățile taxonomice și de vârstă a hidrobionților.

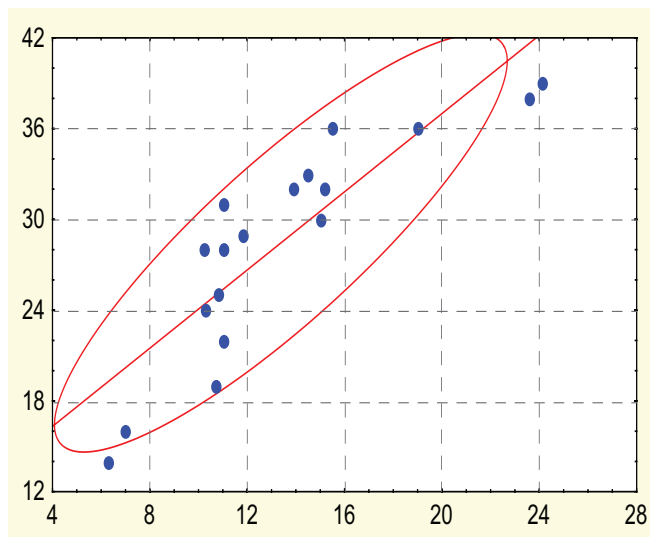
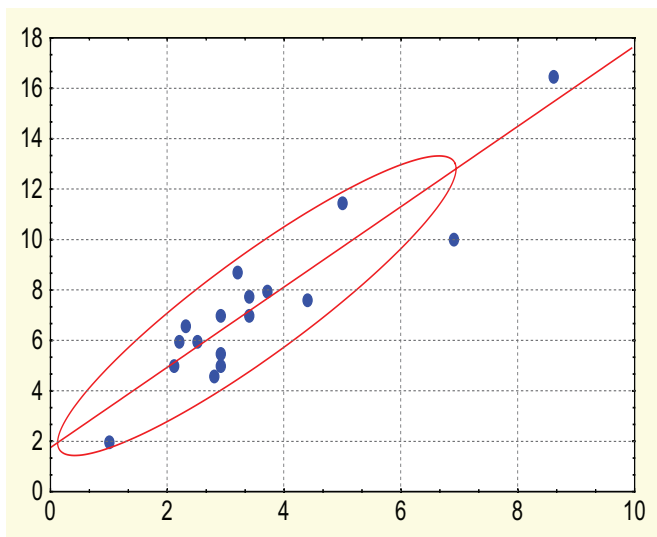


Figura 2.5. Dependența concentrațiilor metalelor (Pb, Mo) în plantele acvatice de cele din apa lacul de acumulare Cuciurgan

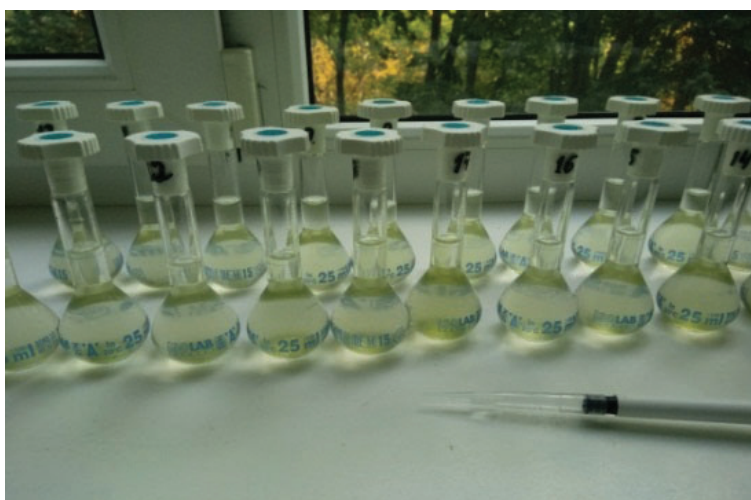
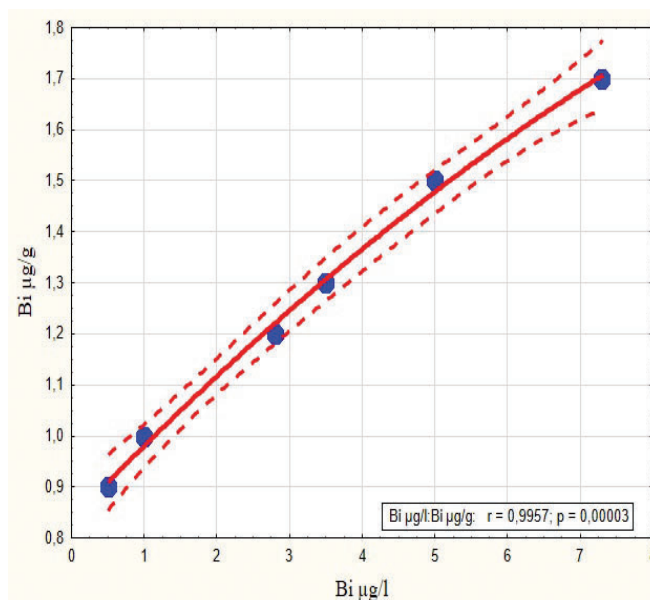
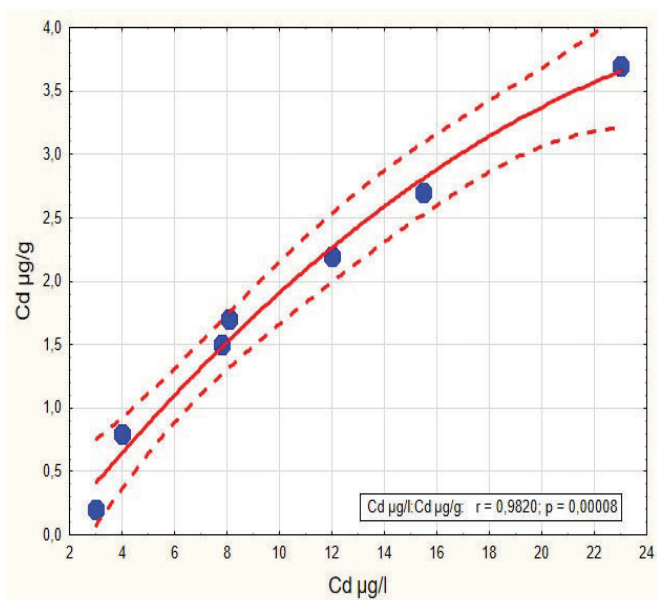


Figura 2.6. Dependența concentrațiilor metalelor (Bi, Co) în *Chlorella vulgaris* în condiții de experiențe de laborator

Pentru toate grupurile de animale bentonice a fost stabilită dependența funcțională a acumulării metalelor de de masa corpului lor (Toderăș et al., 1999). Această dependență este descrisă destul de veridic de ecuația dependenței liniare de tipul:

$$\lg y = \lg a + b \lg W,$$

unde:

y - concentrația microelementului în $\mu\text{g}/\text{exp.}$,

W - masa individului în mg ,

a - coeficientul ce arată mărimea concentrației elementului chimic în $\mu\text{g}/\text{exp.}$, când masa corpului este egală cu 1 mg ,

b - coeficientul unghiular ce determină schimbarea concentrației microelementului la mărirea masei corpului.

Exemple de dependențe liniare sunt următoarele:

Gammarus balcanicus ($n = 27$):

$$\lg Mn = \lg(-1,361 \pm 0,040) + (1,134 \pm 0,064) \lg W, r = 0,98,$$

Limnomysis benedeni ($n = 15$):

$$\lg Ni = \lg(-1,692 \pm 0,020) + (1,013 \pm 0,044) \lg W, r = 0,99,$$

Dreissena polymorpha ($n = 39$)

$$\lg Pb = \lg(-2,291 \pm 0,032) + (0,783 \pm 0,015) \lg W, r = 0,99,$$

Rezultatele obținute ale cercetărilor permit a constata că masa corpului nevertebratelor bentonice, alături de condițiile de mediu, reprezintă unul din factorii principali ce determină nivelul de acumulare a metalelor.

Este foarte important să se țină cont de acest lucru la compararea nivelului de acumulare a metalelor în hidrobionții din diferite ecosisteme acvatice deoarece, în caz contrar, pot fi trase concluzii neobiective. De exemplu, în *Dreissena polymorpha* din fl.Nistru, cu masa corpului în limitele 2-800 mg , conținutul mediu al unor microelemente pare a fi mai înalt decât cel din *Dreissena polymorpha* din lacul de acumulare Cuciurgan, cu masa corpului 2-4000 mg . Totodată, în indivizii cu valori de masă apropiate, conținutul de microelemente în moluștele din fluviu este considerabil mai mic, în comparație cu cel din lacul-refrigerent.

A fost determinat faptul că, printre nevertebratele bentonice, anume moluștelor le revine ponderea principală în procesul de antrenare a metalelor în circuit. În Figura 2.7 dăm câteva exemple ale dependenței și

gradului de acumulare a metalelor (27) în 2 specii de moluște (*Crassiana crassa*, *Unio tumidus*) de concentrațiile lor în apă (modelări de laborator).

Astfel a fost cuantificat rolul funcțional și, pentru prima dată, au fost obținuți indicii cantitativi ai contribuției principalelor grupuri de hidrobionți la migrația biogenă a microelementelor. A fost evaluată posibilitatea utilizării plantelor acvatice, a speciilor de masă de hidrobionți, în special a dafniilor, chironomidelor, mizidelor, moluștelor și a icrelor și puietului de pește în calitate de monitori și bioindicatori la implementarea monitoringului ecologic integrat în ecosistemele acvatice.

Conținutul metalelor în pești constituie una din verigile monitoringului biologic al metalelor și evaluării direcției circuitului substanței și energiei în ecosistemele acvatice. Cercetarea fenomenului de acumulare a metalelor în pește are atât o importanță ecologică, cât și igienică. În condițiile influenței antropice crescânde asupra ecosistemelor acvatice, problemele acumulării, în speci-

al, a metalelor capătă o importanță majoră (Zubcov et.al., 2019 a,b). Aceste informații sunt deosebit de valoroase, deoarece microelementele, desigur, în cantități optime, sunt

necesare întotdeauna omului, însă în cazul concentrațiilor anormale pot deveni cauza disbalanței, a bolilor endemice și chiar a intoxicației.

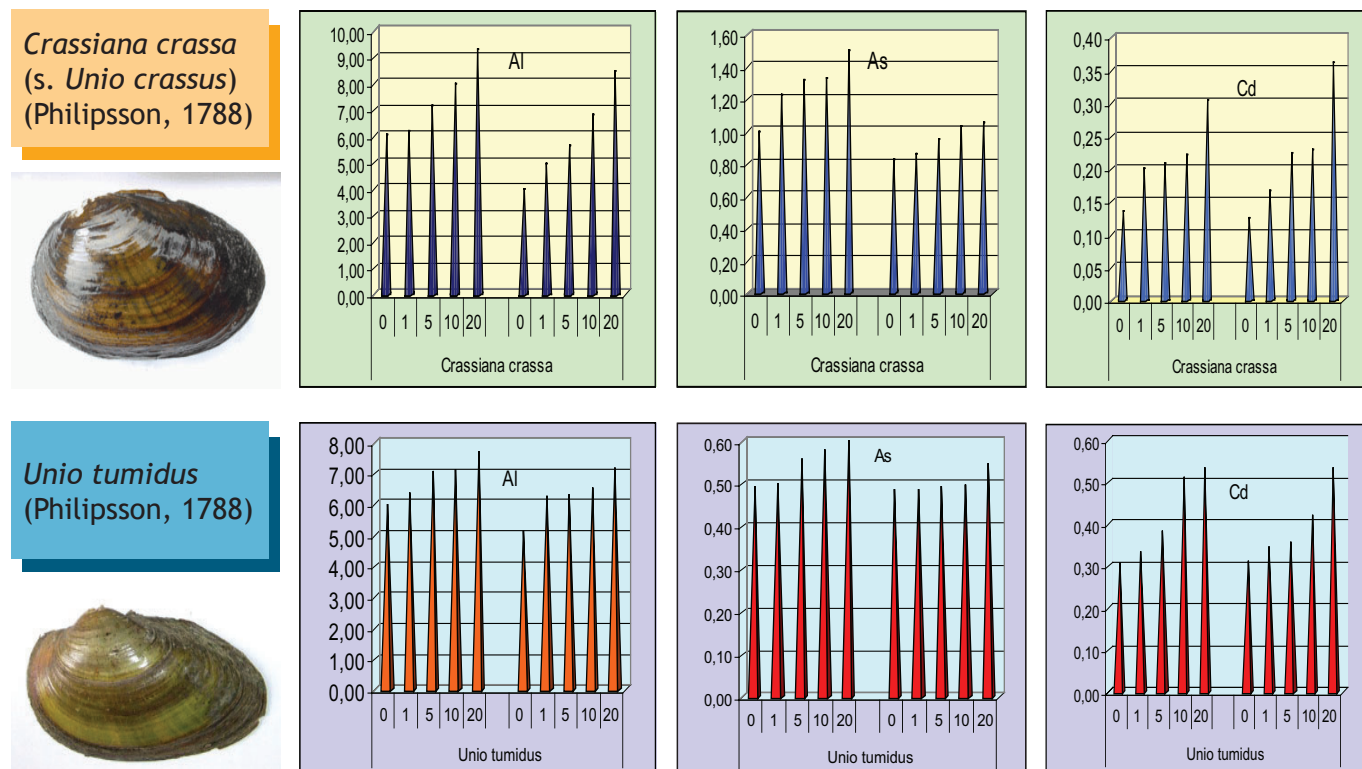


Figura 2.7 dependența și gradul de acumulare a metalelor în 2 specii de moluște (*Crassiana crassa*, *Unio tumidus*) de concentrațiile lor în apă (modelări de laborator cu 27 metale)

Unele metale se acumulează în lanțul trofic, fapt care, în cele din urmă, poate afecta nemijlocit sănătatea omului care se alimentează cu produse piscicole. Sunt bine cunoscute cazurile de intoxicare a oamenilor cu cadmiu, mercur ca rezultat al consumării peștelui poluat (Zubcov et.al., 2012).

A fost determinat faptul că în cazul icrelor și larvelor de pești, componența microelementară a acestora constituie o imagine exactă a dinamicii conținutului de microelemente în apă ($r=0,90-0,98$) și are particularități distinctive în dependență de specie (Figura 2.8).

Prin urmare, icrele și larvele peștilor pot servi drept test sigur la evaluarea calității apei după conținutul metalelor.

Este stabilit sinergismul și antagonismul metalelor în procesul acumulării metalelor

în icre, larve și puietul peștilor. Aici trebuie să menționăm că prezența în apă a zincului micșorează toxicitatea cadmiului, iar la rândul lor, zincul și manganul micșorează brusc toxicitatea cuprului și nichelului. Cu atât mai mult, la adaosul cuprului, zincului, manganului în apa nistreană, fiecare în concentrații de 40-50 $\mu\text{g/l}$, a fost obținut un efect invers. S-a stabilit că o acțiune stimulatorie asupra dezvoltării icrelor l-a avut complexul acestor microelemente și, ca rezultat, a crescut cota-parte a larvelor eclozate viabile (Zubcov et.al., 2016).

Dinamica acumulării microelementelor în alevinii peștilor depinde mai mult de baza nutritivă și mai puțin de concentrația microelementelor în apă, fiind condiționată de particularitățile taxonomice și de vârstă ale peștilor.

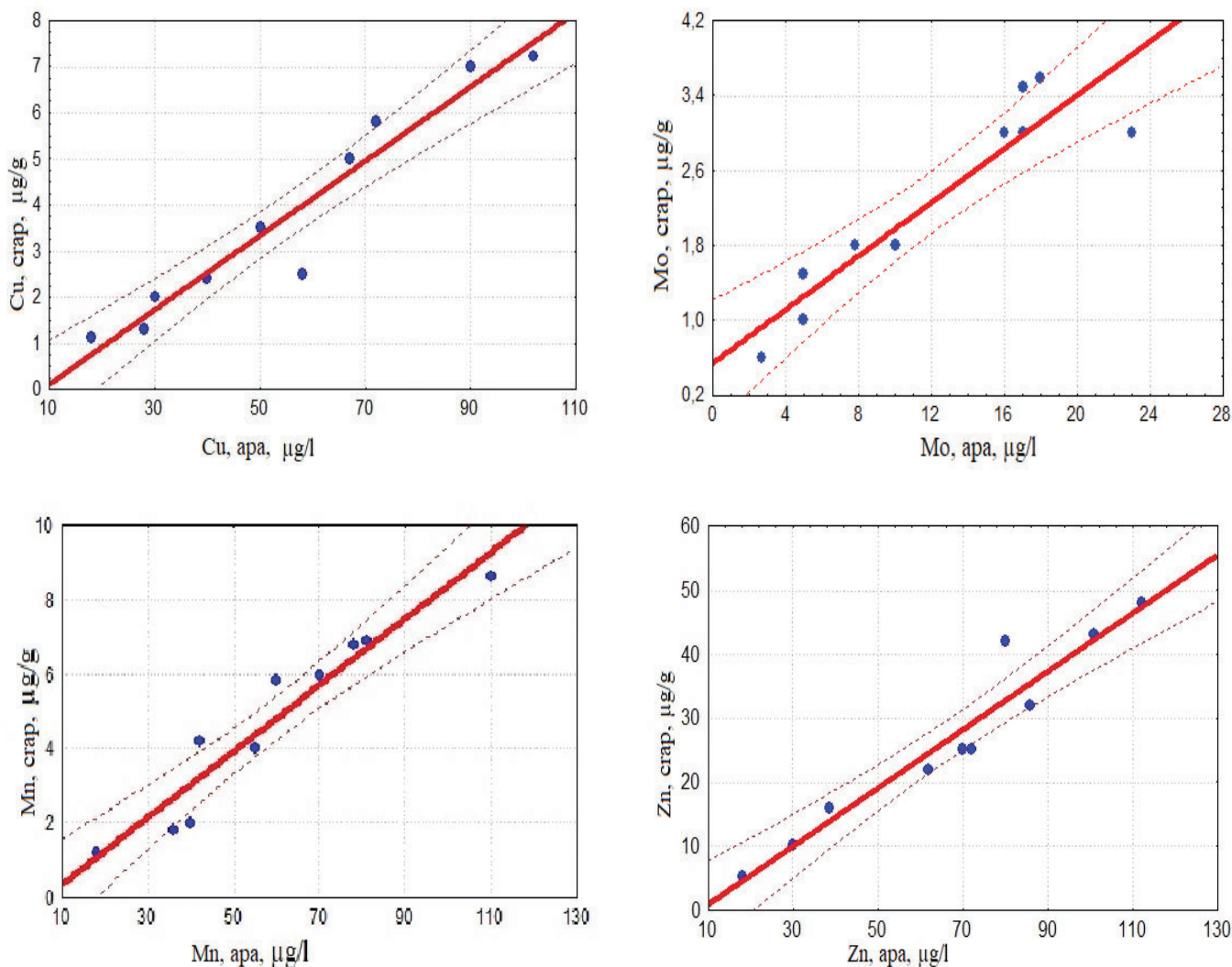


Figura 2.8. Dependența acumulării metalelor în larvele *Ciprinus carpio* ($r=0,88-0,98$) (modelări în condiții de producere).

Peștii posedă un mecanism homeostatic destul de dezvoltat, care reglează procesele de acumulare și redistribuire a microelementelor între diferite organe în dependență de metabolismul plastic și generativ al peștilor și necesitățile lor pentru un microelement sau altul. În perioada premergătoare depunerii icrelor, predomină procesele intense de acumulare a microelementelor biologic importante în gonade, însoțite de micșorarea concentrațiilor lor în mușchii scheletici, iar în perioada de creștere - invers. Cu toate acestea, componența microelementară a organelor și țesuturilor reprezintă o funcție de componența mediului.

Procesele de acumulare a metalelor în organele și țesuturile peștilor maturați sexual au un caracter destul de complicat și divers, condiționat de complexul factorilor mediului și statutul fiziologo-biochimic al organismelor. Prin urmare, legătura dintre nivelul de acumulare a metalelor în organele și țesuturile peștilor cercetați și mediu nu este pusă la îndoială, cu toate că la pești este destul de dezvoltat mecanismul homeostazei, care reglează procesele de acumulare a elementelor chimice (Zubcov et al., 2012).

La pătrunderea metalelor în organismul peștilor are loc repartizarea lor prin diferite organe - proces dependent de necesitatea biologică. În majoritatea cazurilor, concentrațiile

maxime ale Pb, Mo, V, Cu, Ni, Cd sunt depistate în ficat, ale Mn, Al, Zn - în gonade, iar concentrațiile minime ale Mn, Al, Ni, Mo, Cu, Zn - în mușchii scheletici și ale Pb, Cd, V, Ti - în gonade. A fost stabilită schimbarea permanentă a conținutului de microelemente de-a lungul ciclului vital al peștilor, de exemplu, acumularea în ficat a Fe, Cu, Zn și Mn în perioada nutriției intense, mărirea concentrațiilor de Fe, Zn, Mn, Co, Cu, Mo în gonade nemijlocit înainte de depunerea icrelor - proces însoțit de scăderea conținutului lor în mușchi (Zubkova N, 2011; Zubcov et al., 2016).

Metalele grele, conform hotărârii numeroaselor comisii internaționale pentru problemele protecției mediului înconjurător și a ocrotirii sănătății, sunt raportate ca substanțe poluante prioritare ([WHO Promotion of Chemical Safety Unit & International Programme on Chemical Safety, 1992](#); Philip et al. 2018). Se cunoaște faptul că în concentrații nu prea mari, practic toate metalele participă în procesele biochimice, care decurg în organismele vii și constituie o parte indispensabilă a multor vitamine, fermenți, metaloproteine și a altor compuși, fără de care procesele metabolice sunt imposibile. Însă, odată cu intensificarea acțiunii antropogene asupra ecosistemelor acvatice, de cele mai multe ori ne întâlnim cu problema influenței toxice a metalelor asupra hidrobionților, inclusiv asupra creșterii și dezvoltării peștilor.

Noi am efectuat experiențe pentru evaluarea impactului diferitor concentrații ale metalelor în apă asupra dezvoltării icrei, a creșterii larvelor și puietului de pește. Experiențele cu indivizii de un an, doi ani și cei maturați sexual, în scopul elucidării acțiunii metalelor - microelemente care sunt conținute în ape și furaje, au fost desfășurate în viviere, bazine de plastic și heleștee experimentale. În experiențe, concomitent cu aprecierea stării peștilor, parametrilor lor biometrici, a concentrației microelementelor acumulate, era înregistrat, de asemenea, un complex întreg

de indici, așa ca valorile temperaturii, pH-ul, duritatea apei, concentrațiile componentelor de bază ai compoziției ionice a apei, elementele biogene, substanțele organice ș.a (Zubkova N., 2011; Zubcov et al., 2017).

Rezultatele lucrărilor experimentale au arătat că icrele speciilor investigate de pești sunt mai sensibile la acțiunea concentrațiilor sporite ale metalelor la etapa de gastrulă și la începutul organogenezei. Creșterea concentrațiilor de cupru, nichel, plumb, mangan, zinc, cobalt în apă (chiar neînsemnată - în limitele 5-15 $\mu\text{g/l}$) în etapa eclozării embrionului și în primele 48 de ore poate duce la pieirea a până la 50-70 % larve de crap, sânger, novac, cosaș și tarancă. S-a dovedit că la utilizarea apei din fl.Nistru efectul de deprimare, în cazul peștilor cercetați, se manifestă deja la adăugarea în apă a 8-15 $\mu\text{g/l}$ de plumb și cadmiu, 20-30 $\mu\text{g/l}$ de cupru și nichel, 30-40 $\mu\text{g/l}$ de cobalt și peste 80-100 $\mu\text{g/l}$ de zinc și mangan.

S-a stabilit că la incubarea icrelor în apa ce conține 20-30 $\mu\text{g/l}$ de plumb și cadmiu deja la etapa de gastrulă se observă o dezvoltare patologică a icrelor (în celule se formează goluri de o formă nedeterminată) și, în final, la ecloziune prevalează formele monstruoase ale larvelor (peste 75-88%) asupra celor cu o dezvoltare normală. Introducerea acestor metale în apă la etapa inițială a gastrulației în concentrații de peste 30 $\mu\text{g/l}$ provoacă pierderea unui număr considerabil de icre, dezvoltarea lor este stopată și este observată o pieire în masă a embrionilor deja la etapa organogenezei (până la 85%) (Zubkova N, 2011).

În legătură cu faptul că larvele, în primele 48 ore, mai corect, până la umplerea vezicii înotătoare și trecerea la tipul mixt de nutriție, sunt foarte sensibile în cazul unui amestec din exterior, pentru efectuarea experiențelor în scopul evaluării influenței microelementelor noi, de cele mai multe ori, am utilizat larve de trei zile.

Drept criteriu de apreciere a influenței metalelor asupra larvelor au fost luați indicii lor

biometrici și numărul larvelor pierite. În toate acvariile era menținută aceeași densitate a larvelor și, dacă într-una dintre variante era înregistrată pierrea lor, atunci același număr de larve vii era extras din celelalte acvarii.

Din fiecare categorie de 3, 6, 12 și 24 zile erau aleși câte 40-50 indivizi, erau cântăriți, era măsurată lungimea lor totală, iar la sfârșitul experienței (peste 12 sau 24 zile), era determinat și conținutul lor total de proteine și cel al metalelor.

Rezultatele cercetărilor au demonstrat că plumbul, cadmiul, nichelul și cuprul în concentrații de 20-40 $\mu\text{g/l}$ frânează creșterea și dezvoltarea larvelor de crap și pești fitofagi (Figura 2.9).

De asemenea, e necesar să remarcăm că plumbul și cadmiul unul față de altul constituie sinergiști, deoarece la întrebuițarea lor concomitentă se dublează acțiunea lor negativă asupra creșterii larvelor.

După o expoziție de 12 zile, cota-parte a larvelor pierite în experiența cu adaos de cupru a constituit 22-30%, de cadmiu - 23-32 %, plumb - 21-24 %, nichel - 20-25 %, iar în lotul martor - 16-17%. Trebuie să remarcăm și faptul că în acvariile cu adaos de cadmiu, plumb, nichel și cupru larvele piereau, preponderent, în primele 6 zile, iar în cele de referință pierrea lor a avut un caracter uniform pe parcursul întregii perioade (Figura 2.10).

Prin urmare, conform rezultatelor cercetărilor experimentale, putem concluziona că cadmiul în concentrații de 20-25 $\mu\text{g/l}$, nichelul și plumbul în concentrații de 25-30 $\mu\text{g/l}$ și cuprul începând cu 30-40 $\mu\text{g/l}$, inhibă creșterea și dezvoltarea larvelor în vârstă de 3-6 zile de crap, sânger și novac.

Experiențele cu alevini de o lună au demonstrat rezistența mai înaltă a acestora față de metalele cercetate, în comparație cu icre și larve. Aceste experiențe, la fel, au fost efectuate în acvarii, alevinii erau hrăniți de 2 ori în 24 ore cu furaje combinate obișnuite și suspensie de clorelă.

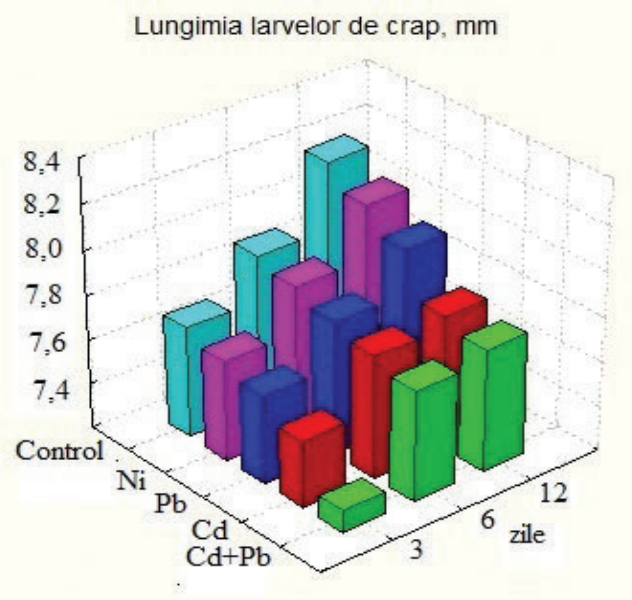


Figura 2.9. Modificarea lungimii larvelor de crap sub influența metalelor - după umplerea vezicii înotătoare

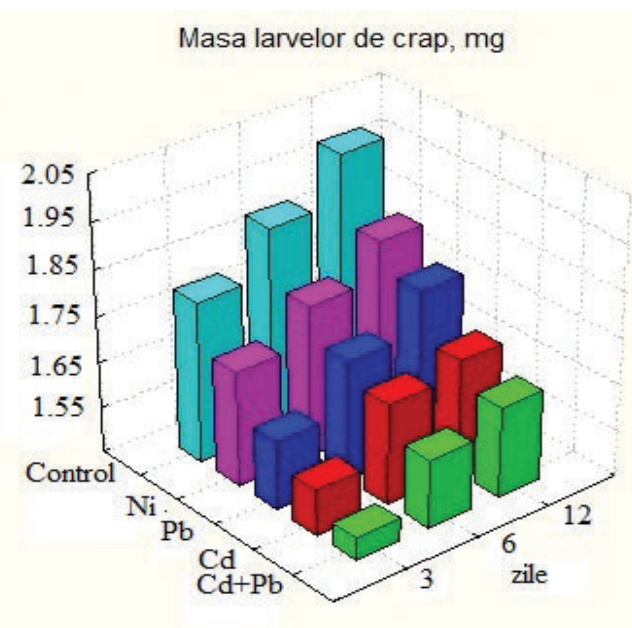


Figura 2.10. Modificarea masei larvelor de crap sub influența metalelor - microelemente după umplerea vezicii înotătoare

S-au realizat și investigații experimentale cu indivizii maturați sexual și anume cu reproducători de crap și sânger cu indivizi de aceeași vârstă, cu o greutate apropiată a corpului și gradul similar de maturitate a gonadelor (Zubkova N, 2011).

În experiența cu o durată de 15 zile au fost utilizate concentrații sporite ale unui complex

întreg de metale (cupru + zinc + plumb + cadmiu + nichel), care periodic, până la 5% cazuri, se întâlnesc în apele de suprafață ale Moldovei. Peștii erau hrăniți cu furaje combinate și suspensie de clorelă o dată în 24 ore, însă hrana era consumată lent, de aceea în ultimele 7 zile a fost întreruptă hrănirea peștilor.

Rezultatele obținute ne permit să concluzionăm că concentrațiile sporite ale metalelor, mai ales cele extrem de mari, chiar în cazul unui timp nu prea mare de acțiune în ultimele etape, nemijlocit înainte de depunerea icrelor, se pot reflecta esențial asupra eficacității depunerii ponteii; dacă icrele nimeresc în apă cu atare conținut de metale, atunci ele, la fel, pier în cea mai mare parte.

2.4. CONCLUZII

- Estimarea cantitativă a ponderii factorilor naturali (parametrii hidrologice, biologice) și antropici (poluare, barajarea râurilor...) în procesele de migrație și prognozarea fluxurilor metalelor în ecosistemele investigate;
- Determinarea coeficienților ale migrației și mobilității biogeochimice a metalelor în ecosistemele acvatice și în bazinele hidrologice ale acestora șupuse transformării prin activitatea umană;
- Stabilirea legităților de acumulare a substanțelor chimice în organismele acvatice, cuantificarea rolului funcțional și ponderii principalelor grupuri de hidrobionți în migrația biogeochimică, determinarea influenței substanțelor chimice asupra dezvoltării hidrobionților și proceselor producțional-destrucționale.
- Determinarea nivelului periculos al anumitor substanțe toxice pentru funcționarea ecosistemelor acvatice.
- Descifrarea proceselor de acumulare și a rolului metalelor și a altor substanțe chimi-

ce în dezvoltarea peștilor la diverse etape ale dezvoltării (icre, larve, puiet, indivizi nematurizați și reproducători), redistribuirii și schimbării raportului între diferite metale în organele peștilor în dependență de metabolismul plastic și cel generativ, cât și argumentarea importanței diferitor metale în aprecierea calității produselor piscicole au o importanță majoră, unele fiind de pionierat au o importanță pentru dezvoltarea investigațiilor ecologice și ecotoxicologice.

Bibliografie

- Directive 2000/60/EC of the European Parliament and Council Establishing a Framework for Community Action in the Field of Water Policy; OJ:L327, Dec 22, 2000, 1–73.
- REACH – Regulation for Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals No 1907/2006,
- Hydrochemical and hydrobiological sampling guidance. Chișinău: «Elan Poligraf», 2015.
- Guidance on the Monitoring of Water Quality and Assessment of the Ecological Status of Aquatic Ecosystems editors: Bilețchi Lucia, Zubcov Elena. „Tipografia Centrală”, 2021, 92 p.
- Linnik P. N., B. I. Nabivanets, Forms of metal migration in fresh surface waters.- Leningrad: Gidrometeoizdat, 1986.- 270 p. Линник П.Н., Набиванец Б.И. Формы миграции металлов в пресных поверхностных водах.- Л.:Гидрометеоиздат, 1986.- 270 с.
- Moore, J.W., Ramamoorthy, S. Heavy Metals in Natural Waters, Applied Monitoring and Impact Assessment, Springer-Verlag, 1984, 288h.
- Filenko O.F. (1988) Aquatic toxicology.-Chernogolovka: Publishing house of Moscow State University, 1988.- 156 ФИЛЕНКО О.Ф. Водная токсикология.-Черноголовка:Изд-во МГУ,1988.- 156
- Philip J. Landrigan, Richard Fuller, Howard Hu, Jack Caravanos, Maureen L. Cropper, David Hanrahan, Karti Sandilya, Thomas C. Chiles, Pushpam Kumar, and William A. Suk, Pollution and Global Health - An Agenda for Prevention, Environ Health Perspect. 2018 Aug; 126(8): 084501., doi: 10.1289/EHP31412.
- SETAC Europe 29th Annual Meeting 26–30 May 2019 | Helsinki, Finland, <https://helsinki.setac.org/AnneFairbrother>, Derek Muir, Keith R. Solomon, Gerald T. Ankley, Murray A. Rudd, Alistair B.A. Boxall Jennifer N. Apell, Kevin L. Armbrust, Bonnie J. Blalock, Sarah R. Bowman Toward Sustainable Environmental Quality: Priority Research Questions for

- North America, First published: 30 July 2019, <https://doi.org/10.1002/etc.45024>.
- Strakhov N.M. (1979) Forms of migration of elements in river runoff // Ocean Chemistry.- M., 1979.- Vol. 2.- P. 9-28. СТРАХОВ Н.М. Формы миграции элементов в речном стоке//Химия океана.- М., 1979.- Т.2.- С. 9-28.
- Szyczewski P., J. Siepak, P. Niedzielski, T. Sobczyński Research on Heavy Metals in Poland.Polish Journal of Environmental Studies 2009, 18(5):755-768
- Toderaș I., Zubcov E., Bilețchi L., Zubcov N. Rolul funcțional al populațiilor nevertebratelor bentonice în migrația biogenă a microelementelor. Anale științifice ale Universității de Stat din Moldova, Chisinau, 1999, p.137-140. ISBN: 9975-917-25-9,
- Zubcov, E.; Toderaș, I.; Zubcov, N.; Bilețchi, L.(2016) Cap. IV Repartizarea, migrația și rolulmetalele în apele de suprafață. In: *Microelementele în componentele biosferei și aplicarea lor în agricultură și medicină*. Monografie colectivă. Coordonator Simion Toma. Ed. Pontos, 2016, p.78-107. ISBN 978-9975-51-724-9.
- Zubcov E. Dinamica metalele și influența lor asupra producției primare în ecosistemele acvatice din Moldova. În: *Diversitatea și ecologia lumii animale în ecosisteme naturale și antropizate*. Chișinău, 1997, p.151-159
- Zubcov E. Coraportul proceselor producțional-destrucționale și a conținutului metalele ca indice al capacității de suport a ecosistemelor acvatice. Anale Științifice ale Universității de Stat din Moldova, Chișinău, 2000, p.189-192.
- Zubcov, E.I.; Zubcov, N.N.; Ene, A.; Bilețchi, L. Assessment of copper and zinc levels in fish from freshwater ecosystems of Moldova. Environmental Science and Pollution Research. 2012, 19(6), 2238-2247. ISSN: 0944-1344 (Print), 1614-7499
- Zubcov E., Zubcov N. The dynamics of the content and migration of trace metals in aquatic ecosystems of Moldova. E3S Web of Conferences, 1, 32009. In: Proceedings of the 16th International Conference on Heavy Metals in the Environment, Rome, Italy. Published online: 23 April 2013a. DOI: 10.1051/e3s-conf/201301320097.
- Zubcov E., Bilețchi L., Philipenko E., Ungureanu L. Study on metal accumulation in aquatic plants of Cu-ciurgan cooling reservoir. E3S Web of Conferences, 1, 29008. In: Proceedings of the 16th International Conference on Heavy Metals in the Environment, Rome, Italy. Published online: 23 April 2013b . DOI:10.1051/e3sconf/20130129008.
- Zubcov, E.; Toderas, I.; Ungureanu, L.; Ene, A.; Spanos, T.; Teodorof, L.; Bogdevici, O.; Bagrin, N.; Zubcov, N.; Bilețchi, L.; Andreev, N.; Ciornea, V.; Grosu, N.; Ciorba, P. Ecotoxicological Investigations on Water Ecosystems. In: *Deltas and Wetlands*. Abstract Book of the MONITOX International Symposium, Tulcea, 2019a, pp. 20-21.
- Zubcov, E.; Zubcov, N.; Ungureanu, L.; Bagrin, N.; Jurminskaia, O.; Bilețchi, L.; Andreev, N.; Tumanova, D. Influence of Trace Metals and Biogenic Elements on the Production Processes and Biochemical Oxygen Consumption - CBO5 (in situ and Laboratory Modelling). In: *Deltas and Wetlands*. Abstract Book of the MONITOX International Symposium, Tulcea, 2019b, pp. 45.
- Zubkova E. I. (1996) Heavy metals in bottom sediments of the Dniester and Dubossary reservoir. Hydrobiological journal, N4, 1996, pp.94-102 (in RU) - ЗУБКОВА Е.И. Тяжелые металлы в донных отложениях Днестра и Дубоссарского водохранилища. Гидробиологический журнал, N4, 1996, с.94-102
- Zubkova N (2011). Patterns of accumulation and the role of trace elements in fish ontogeny. 2011.88 p. Зубкова Н. Закономерности накопления и роль микроэлементов в онтогенезе рыб. Кишинев: Штиинца, 2011. 88 с.
- World Health Organization (1992). Promotion of Chemical Safety Unit & International Programme on Chemical Safety.

EVALUAREA CONTAMINANȚILOR MICROBIENI EMERGENȚI DIN APĂ

Aida Mihaela Vasile¹, Antoaneta Ene², Gabriela Elena Bahrim¹

¹ Universitatea Dunărea de Jos din Galați, Centrul de cercetare BioAliment, Facultatea de Știința și Ingineria Alimentelor, Str. Domnească nr.47, 800008 Galați, România

² Universitatea Dunărea de Jos din Galați, Centrul de cercetare internațional interdisciplinar INPOLDE, Facultatea de Științe și Mediu, Str. Domnească nr.47, 800008 Galați, România

3.1. CONSIDERENTE GENERALE

Comunitățile microbiene reprezintă o parte fundamentală a ecosistemelor acvatice și sunt de mare importanță pentru circuitul materiei și energiei. Bacteriile heterotrofe joacă un rol decisiv în ecosistemele fluviale, în degradarea materiei organice care provine în primul rând din surse alohtone și mai puțin din surse autohtone. Contribuția acestora la procesele de autopurare a râurilor este de mare interes în cadrul evaluării calității apei. Astfel, bacteriile sunt senzori ideali datorită răspunsului rapid la condițiile de mediu în schimbare (Kavka et al., 1996; Findlay, 1991).

Mediile acvatice sunt puternic contaminate cu microorganisme periculoase, ca efect al poluării. Astfel, deversările de ape uzate în apele dulci și în apele de mare costiere, reprezintă principala sursă de microorganisme fecale, inclusiv de agenți patogeni.

Orice microorganisme sunt considerate contaminanți emergenți (CE) deoarece au potențialul de a provoca efecte negative cunoscute sau suspecte asupra ecosistemelor, sau asupra calității vieții umane și animale (Figura 3.1) (Rosenfeld & Feng, 2011; Gomes et. al, 2020).

Aceste microorganisme sunt de obicei răspândite în mediul înconjurător, în special prin fecale, urină sau ape reziduale. În această ca-

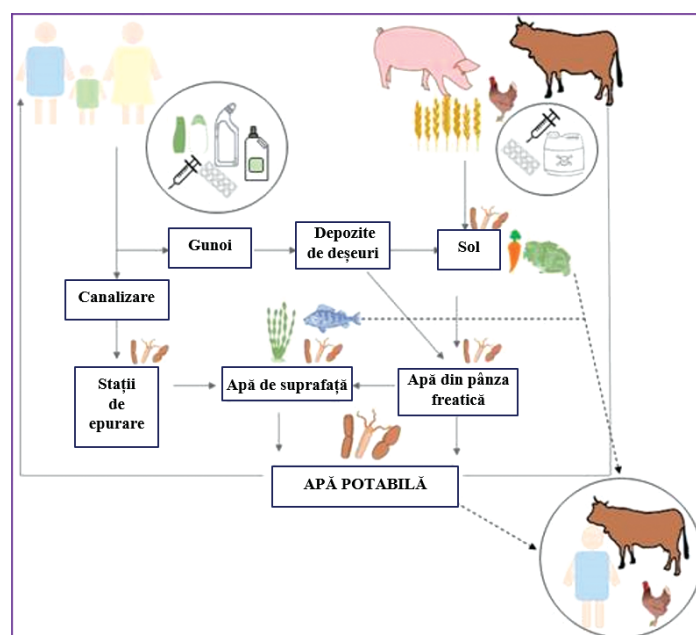


Figura 3.1. Dispersia CE microbieni în diferite ecosisteme și organisme expuse continuu la acestea (adaptare după Gomes et al., 2020)

tegorie de microorganisme sunt incluși, de obicei, unii viruși care se găsesc în apele naturale sau uzate, cum ar fi: poliomavirusurile umane, virusul hepatitei E și adenovirusurile umane.

Bacteriile rezistente la antibiotice (BRA) și genele lor (GRA) apar în natură și sunt de asemenea, considerate contaminanți emergenți (Gomes et al., 2020). Prezența GRA și BRA în diferite ecosisteme din întreaga lume este în corelație cu mulți factori cu influență antro-

pică asupra organismelor vii (oameni, animale și plante) (Figura 3.2) (Wang et al., 2020).

Deși prezența BRA și a GRA în diferite ecosisteme din întreaga lume este deosebit de îngrijorătoare, apa este recunoscută ca rezervor principal.

Răspândirea BRA și GRA prin contaminarea fecală și umană este determinată prin cele trei moduri diferite (Figura 3.3): (1) omul poate fi contaminat cu un agent patogen re-

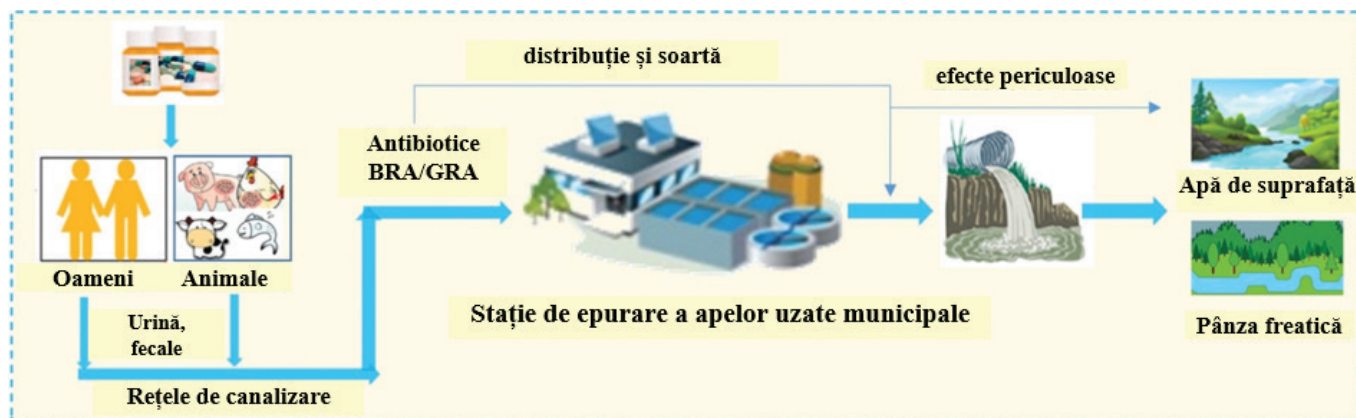


Figura 3.2. Traseul BRA și GRA în corelație cu dispersia antibioticelor în mediile acvatice (adaptare după Wang et al., 2020)

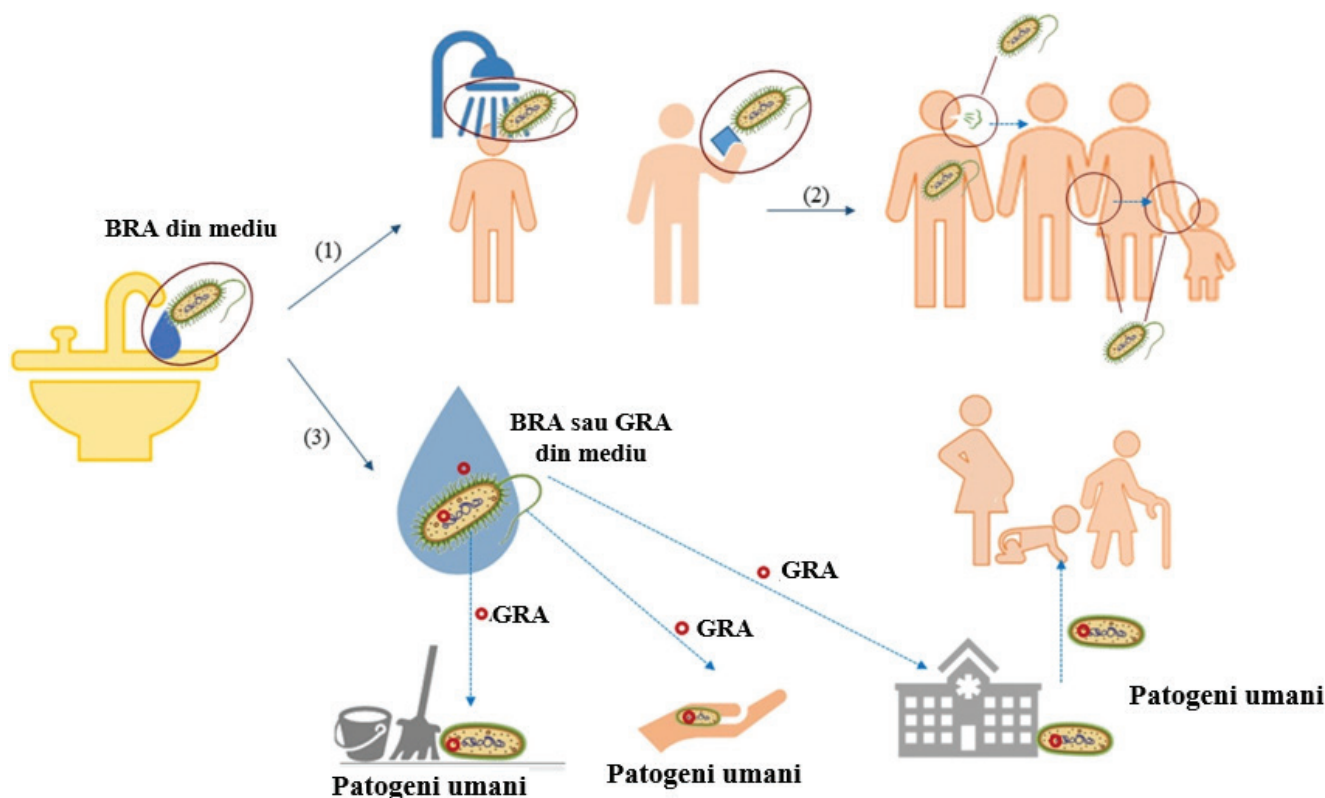


Figura 3.3. Răspândirea de BRA și de GRA prin transmisie fecală și umană (adaptare după Wang et al., 2020)

zistent la antibiotice prin ingestia directă de apă potabilă, deși nu are loc nici o transmisie de la om la om; (2) transmiterea de la om la om are loc după o infecție directă prin consumul de apă contaminată; și (3) transfer orizontal de GRA către agenții patogeni umani (Wang et al., 2020).

Cei mai mulți indicatori microbiologici utilizați pentru evaluarea calității microbiologice a apei sunt bacteriile indicatoare fecale (BIF), inclusiv *E. coli* și enterococii, care au fost acceptați pentru a indica poluarea fecală și pentru evaluarea riscurilor microbiene asociate cu direcționarea directă a agenților patogeni umani reali (Saingam & Yan, 2020).

Astfel de microorganisme sunt uneori denumite agenți patogeni „condiționali” sau „oportuniști”. De obicei, acești microorganisme nepatogene sau „saprofite” sunt frecvente în mediul acvatic și în alte medii, dar în unele condiții biologice sunt capabile să infecteze, să colonizeze și să provoace boli la oameni sau animale.

Tulpinile patogene oportuniste *Escherichia coli*, *Mycobacterium* spp., *Clostridium perfringens* și tulpinile grupului *Bacillus cereus* au fost detectate ca potențiale gazde ale GRA. Pe baza analizelor statistice cu multe variabile, s-a demonstrat că factorii care influențează gena rezistentă la antibiotic în ape, au fost multipli și interactivi.

Ecosistemele acvatice s-au dovedit a fi rezervoare de GRA, care pot fi găzduite de unii agenți patogeni bacterieni oportuniști. Au fost stabilite corelații între GRA, elemente genetice mobile (EGM), comunități bacteriene, antibiotice și agenți patogeni bacterieni oportuniști (Schets et al., 2015).

Monitorizarea contaminanților microbiologici emergenți în apă poate avea o serie de obiective:

- (1) Monitorizarea sursei de apă: pentru a stabili caracteristicile de calitate ale apei, respectiv pentru a putea determina riscurile pentru sănătate.

- (2) Monitorizarea operațională: pentru a evalua performanța proceselor de tratare a apei.
- (3) Validare pentru stabilirea performanței unui test de control.
- (4) Monitorizarea conformității: pentru a confirma obiectivele stabilite pentru calitatea apei, de exemplu, standardele pentru organismele indicator fecale.
- (5) Supraveghere: pentru a evalua continuu siguranța și acceptabilitatea calității apei.
- (6) Investigația focarului: pentru a investiga sursa focarului și eficacitatea măsurilor luate în scopul de a controla focarul prin testarea agenților patogeni de referință sau specifici.

În evaluarea calității microbiologice a apei, microorganismele țintă pot fi patogene sau pot fi microorganisme indicatoare inofensive. Indicatorii (microorganisme model) sunt utilizați în managementul calității apei și în evaluările riscurilor pentru sănătate, deoarece detectarea lor este de obicei mai rapidă și mai puțin costisitoare în comparație cu detectarea agenților patogeni. În acest context, analiza microbiologică a apei ține cont de trei indicatori principali după cum urmează:

- (1) Indicatori de contaminare: microorganisme care demonstrează tipul de contaminare, cum ar fi numărul de bacterii heterotrofe pentru a indica nivelul de contaminare organică, inclusiv contaminarea fecală.
- (2) Indicatori fecali: microorganisme care indică prezența contaminării fecale, cum ar fi *Escherichia coli* pentru a indica poluarea fecală și, prin urmare, ar putea fi prezentă o gamă largă de agenți patogeni potențiali.
- (3) Organisme index și model: microorganisme care indică prezența agentului patogen, cum ar fi bacteriofagii ARN

specifici F ca modele de viruși enterici umani și *E. coli* ca indice pentru *Salmonella* spp.

Uneori, indicatorii suplimentari trebuie evaluați în funcție de scopul examinării și de tipul de apă studiat. Acestea includ enterococii intestinali și *C. perfringens* (ai căror spori rezistă la dezinfecție mult mai bine decât celulele vegetative bacteriene). În plus, bacteriile indicatoare fecale nu reflectă prezența agenților patogeni care nu sunt de origine fecală și pot face parte din microbiota acvatică naturală, cum ar fi *Legionella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* și *Vibrio* spp. (Schets et al., 2015).

Cei mai relevanți indicatori microbiologici sunt cei care apar în număr mare în fecalele umane sau animale, deoarece fecalele reprezintă cea mai importantă sursă de agenți patogeni din apă. Astfel, indicatorii au avantajul că pot fi detectați și enumerați folosind metode simple, ieftine, care dau rezultate într-o perioadă de timp relativ scurtă.

În probele de apă poate fi detectată o gamă largă de microorganisme patogene. Cel mai frecvent, se efectuează teste cantitative care necesită mai multe etape: pre-îmbogățire (¼ reactivare), îmbogățire selectivă, izolare prin metode culturale, identificare prin teste biochimice, serologice și/sau moleculare și, eventual, tipare epidemiologice.

Pentru microorganismele patogene care sunt de origine fecală și care se pot înmulți în mod activ în mediul apei (de exemplu, *Legionella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio* spp.), este necesară detectarea directă deoarece nu există organisme model adecvate (Schets et al., 2015).

În general, analiza microbiologică a apei se referă la o mare varietate de microorganisme, inclusiv viruși, bacterii și protozoare, dar acest capitol analizează doar detectarea bacteriilor.

3.2. METODE PENTRU DETECTAREA CALITATIVĂ ȘI CANTITATIVĂ A BACTERIILOR DIN PROBELE DE APĂ

Sunt disponibile mai multe metode pentru detectarea bacteriilor în apă, cum ar fi: metode culturale, metode microscopice, metode moleculare și metode imunologice.

Prelevarea de probe și depozitarea probelor

O strategie adecvată de eșantionare specifică a site-ului de prelevare a probelor este esențială pentru a proiecta planul de monitorizare fiind în corelație cu parametrii de testat și metodele utilizate pentru testare. Selectarea unui design adecvat pentru eșantionare, frecvența acestuia sunt luate în considerare și într-o strategie de control (Schets et al., 2015).

Din mediile naturale, probele de apă sunt colectate aseptice, în sticle de sticlă borosilicată sterilizate de 250 ml, de la o adâncime a apei de 20-30 cm. Probele sunt apoi prelucrate imediat în laborator sau păstrate la 4°C, timp de maxim 24 de ore.

Metode culturale

Microorganismele din microbiota apei sunt cultivate în condiții de laborator atunci când sunt asigurate condiții optime de creștere (nutrienți, temperatură, aerobioză, anaerobioză). Se va ține cont de faptul că nu toate microorganismele prezente în microbiota apei de analizat pot fi cultivate și că numărul obținut nu reflectă numărul adevărat dintr-o probă, deoarece doar microorganismele care au fost viabile, adică capabile să crească pe mediul de cultură utilizat și în condițiile culturale aplicate, sunt numărate.

De obicei, metodele culturale pentru numărarea bacteriilor sunt împărțite în două categorii: (1) metoda de numărare indirectă și (2) metoda de îmbogățire.

În **metoda de numărare indirectă**, o probă test este inoculată pe suprafața unui mediu de cultură care a fost solidificat prin adăugarea de agar (metoda prin răspândire). Fiecare celulă individuală a microorganismului țintă se va înmulți în colonii care sunt vizibile cu ochiul liber. Rezultatele sunt prin urmare, exprimate ca „unități care formează colonii” (UFC). UFC reprezintă una sau mai multe celule ale organismului țintă.

În **metoda de îmbogățire**, o probă test este inoculată într-un mediu de cultură care a fost formulat pentru a stimula creșterea microorganismelor țintă și pentru a suprima creșterea tuturor celorlalte microorganisme („microbiota de fond”). Pentru cultivare, se utilizează o temperatură și un timp de incubare adecvate care măresc natura selectivă a mediului de creștere. Dacă organismul țintă este prezent în eșantionul testat, acest lucru va avea ca rezultat un semnal pozitiv. În analiza cea mai simplă, metodele de îmbogățire oferă informații calitative (prezență/absență) pentru microorganismul test. Pentru a obține informații semi-cantitative, de obicei se examinează o serie de volume diferite (de exemplu, 100, 10, 1 și 0,1 mL). Dacă o serie de volume diferite este examinată în replică, adică de trei sau de cinci ori, este posibil să se utilizeze o metodă statistică cunoscută ca tehnica „*numărul cel mai probabil*” (NMP) pentru a estima concentrația inițială a microorganismului țintă. Precizia acestei estimări este scăzută (de exemplu, intervalul de încredere de 95% al unei estimări al NMP în replică de cinci ori, este cuprins între o treime și de trei ori rezultatul analitic). Precizia acestei metode este determinată practic de distribuția microorganismelor țintă în eșantion (Schets et.al., 2015).

Numărarea indirectă a bacteriilor heterotrofe

Bacteriile heterotrofe sunt microorganisme care indică poluarea apei cu materii organice ușor degradabile. Microorganismele indicator sunt bacterii facultativ anaerobe și bacterii aerobe, care pot fi cultivate în și pe medii nutritive solidificate la 22°C timp de 48-72 de ore (Kohl, 1975).

Numărarea indirectă a bacteriilor heterotrofe, cunoscută anterior sub numele de *numărare indirectă standard*, este o procedură de estimare a viabilității bacteriilor heterotrofe din proba de apă prin metodă culturală. Metoda de numărare în plăci este o procedură de numărare relativ simplă, aplicabilă probelor de apă în care densitățile microorganismelor țintă sunt suficiente pentru a conține un număr adecvat de celule ce pot fi cultivate în scopul numărării (Standard Methods, 9215:2017).

În această metodă, un volum mic de probă (aproximativ 0,1-1 mL) sau diluție decimală a probei (proba originală de apă este diluată de mai multe ori pentru a reduce sau dilua suficient populația de microorganisme), este omogenizat cu agar fluidificat (Plate Count Agar) și temperat (aproximativ 15 mL de PCA fluidificat la temperatura de 100°C și temperat la 45°C) într-o cutie Petri.

Omogenizarea se realizează cu atenție pentru dispersarea probei în mod uniform în mediul de cultură și apoi se lasă să se solidifice. Cutiile Petri inoculate și solidificate sunt inversate cât mai repede posibil pentru a se evita formarea condensului pe capac. Incubarea plăcilor se realizează la 22°C timp de 48-72 de ore. Coloniile care vor crește atât pe suprafața mediului de cultură, cât și în interiorul acestuia, sunt numărate cu atenție pentru a obține un număr de celule cât mai exact pe unitatea de volum de probă. Fiecare colonie reprezintă o „unitate formatoare de colonii” (UFC) per mililitru de probă de apă. Celulele izolate formează colonii singulare ce pot fi folosite în ob-

ținerea culturilor pure (Figura 3.4.a. Tehnica de numărare indirectă) (Reasoner & Geldreich, 1985; Allen et al., 2004; Brown & Smith, 2015; Standard Methods, 9215:2017).

Numărul de microorganisme prezente în probă se determină utilizând formula:

$$UFC/mL = \frac{\text{colonii numărate}}{\text{volumul actual al probei inoculate, mL}} \quad (1)$$

Pentru o numărare exactă a microorganismelor, numărul optim de colonii ar trebui să se încadreze în intervalul 30 - 300 colonii/placă Petri (Figura 3.4.b. Numărare colonii prin

metoda indirectă de numărare a microorganismelor) (Cappuccino & Sherman, 2008).

Pentru a facilita interpretarea datelor privind calitatea apei din punct de vedere al poluării cu materie organică, rezultatele microbiologice au fost clasificate printr-un sistem de clasificare a poluării apei cu materii organice, prezentat în tabelul 1 (ICPDR, 2001). Funcție de numărul de bacterii heterotrofe per mililitru de apă analizată, poluarea apei cu materie organică este clasificată în 5 niveluri de poluare: scăzută, moderată, critică, puternică și excesivă.

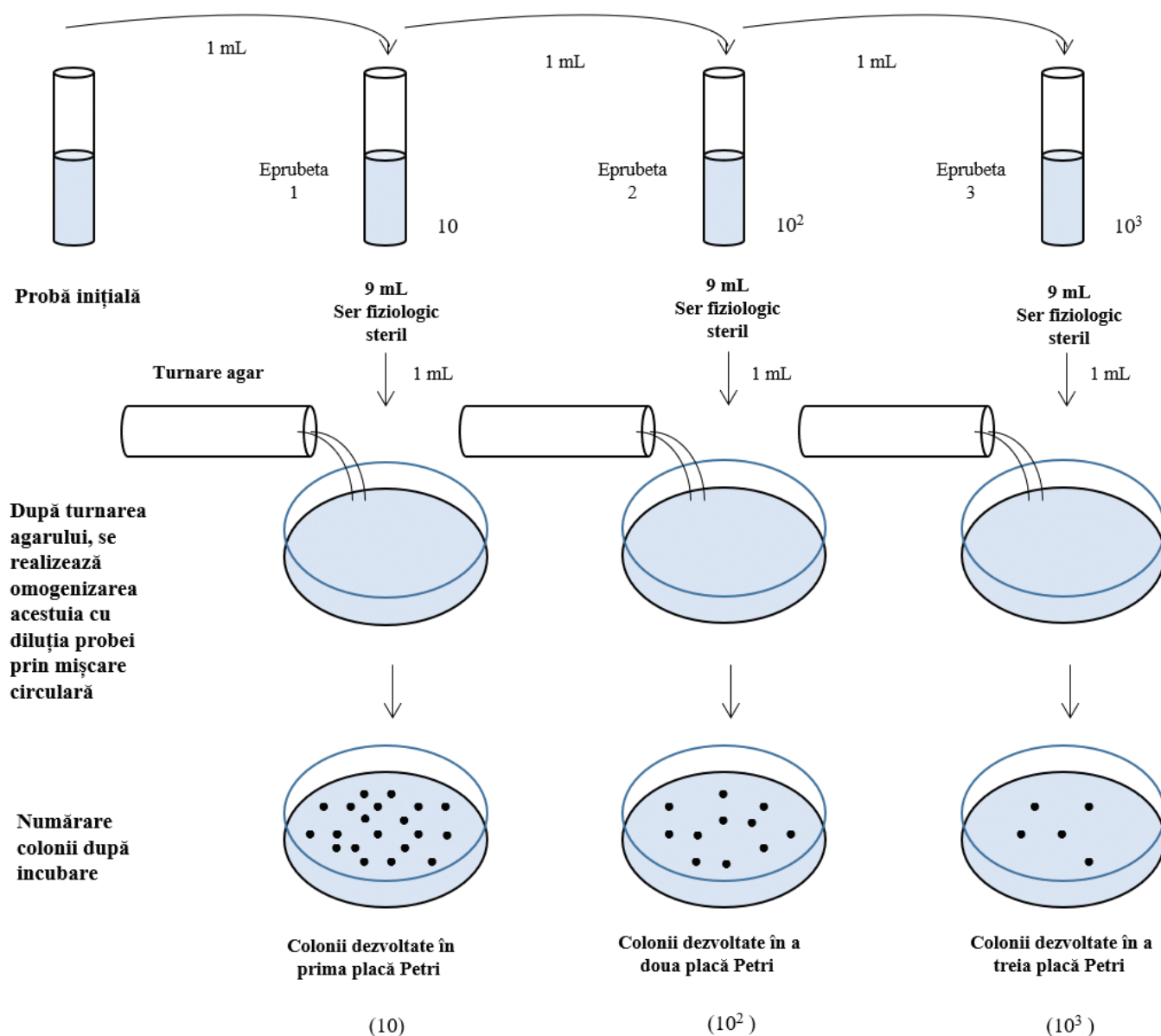
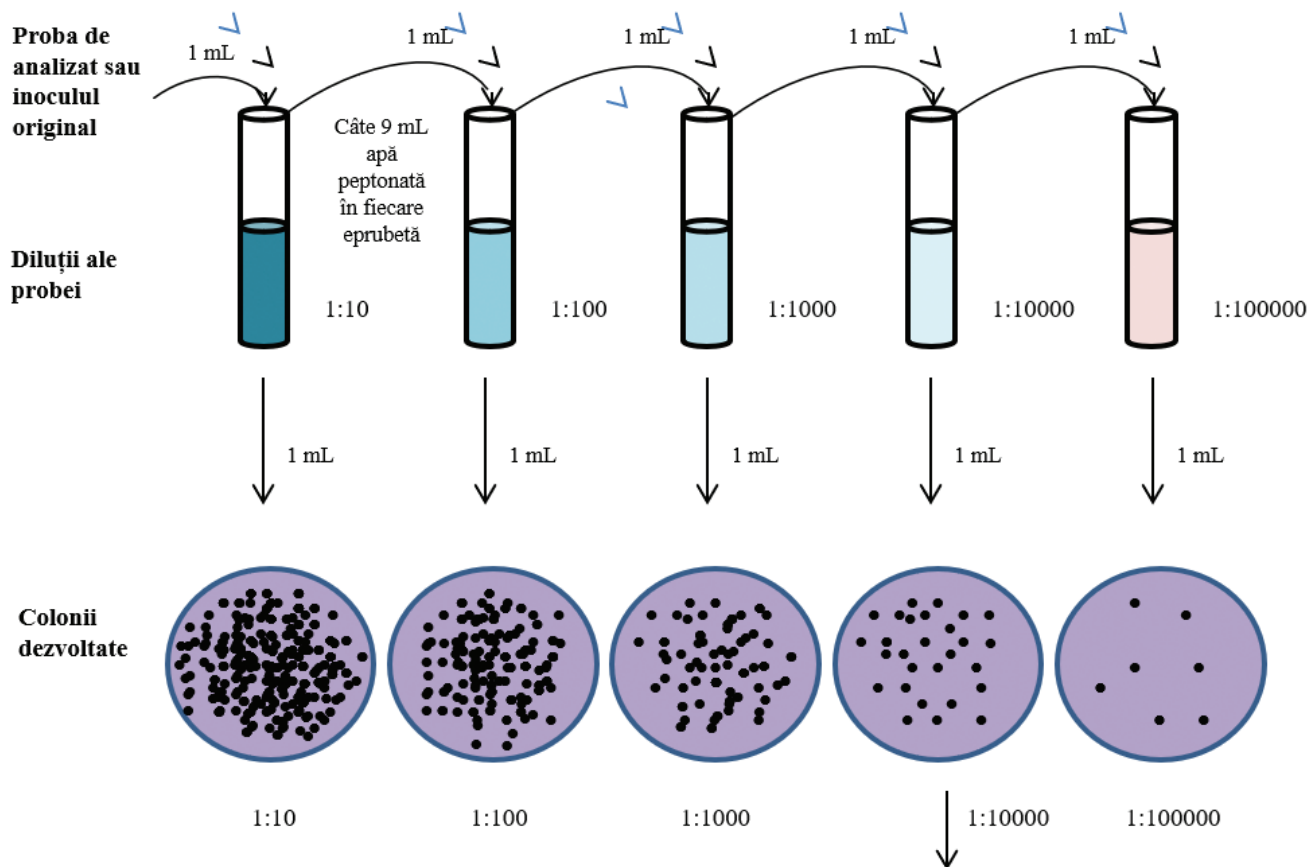


Figura 3.4.a. Tehnica de numărare indirectă a microorganismelor



Calcul: Numărul de colonii din plăci x coeficientul de diluție al probei = număr de bacterii/mL
 (De exemplu, dacă sunt 31 colonii în placa aferentă diluției 10000, atunci numărul este $31 \times 10000 = 310000$ bacterii/mL în probă).

Figura 3.4.b. Numărare colonii prin metoda indirectă de numărare a microorganismelor

Tabel 3.1. Sistem de clasificare a calității microbiologice a apei în funcție de poluarea cu materie organică

Evaluare microbiologică a calității apei		Clasa				
		I	II	III	IV	V
Parametru	Poluare cu materie organică/	scăzută	moderată	critică	puternică	excesivă
Bacterii heterotrofe (Numărare colonii dezvoltate la 22°C)	1 mL apă	< 500	> 500 - 10 000	> 10 000 - 100 000	> 100 000 - 750 000	> 750 000

Detectarea coliformilor din apă

Siguranța microbiologică a apei este realizată prin monitorizarea contaminării organice utilizând organisme indicatoare precum coliformii totali și *Escherichia coli*. Coliformii totali reprezintă un grup de bacterii frecvent întâlnite în mediul acvatic, în sol și vegetație, precum și în intestinalele mamiferelor, inclusiv ale oamenilor.

Bacteriile coliforme totale sunt utilizate în mod obișnuit pentru a evalua calitatea sanitară generală a apei, dar și în situații în care este prezentă contaminarea fecală, deoarece coliformele totale sunt mai numeroase decât *E. coli*, reprezentând astfel un indicator microbiologic mai sensibil (Feng et al., 2020).

Termenul de “coliform” descrie un grup de bacterii enterice. Acest termen nu reprezintă o clasificare taxonomică, ci reprezintă o definiție utilizată pentru a descrie un grup de bacterii anaerobe Gram-negative, facultative, în formă de bastonașe, care fermentează lactoza cu producere de acid și gaz în 48 de ore la 35°C.

Prezența coliformilor și a *Escherichie coli*, în special în microbiota apei, este acceptată ca predicție a unei contaminări fecale recente, fiind posibil să fie însoțită și de agenți patogeni. Astfel, conceptul de utilizare a coliformilor totali ca indicator indirect al riscului pentru sănătate este complicat de admis în practică, datorită prezenței și altor bacterii enterice precum *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp. și *Enterobacter* spp. cu comportamente metabolice și caracteristici fenotipice similare cu a *E. coli*, astfel încât să nu se poată diferenția ușor față de aceasta (Figura 3.5.) (USEPA, 2002; Duncan & Horan, 2003; WHO, 2017; Standard methods, 9221:2017).

Cele mai multe tulpini ale *E. coli* nu sunt considerate agenți patogeni, dar pot fi și patogeni provocând infecții la gazdele cu imunitate scăzută. *E. coli* face parte din familia *Enterobacteriaceae*, care include de altfel, multe genuri, inclusiv agenți patogeni cunos-

cuți precum *Salmonella* spp., *Shigella* spp. și *Yersinia* spp.

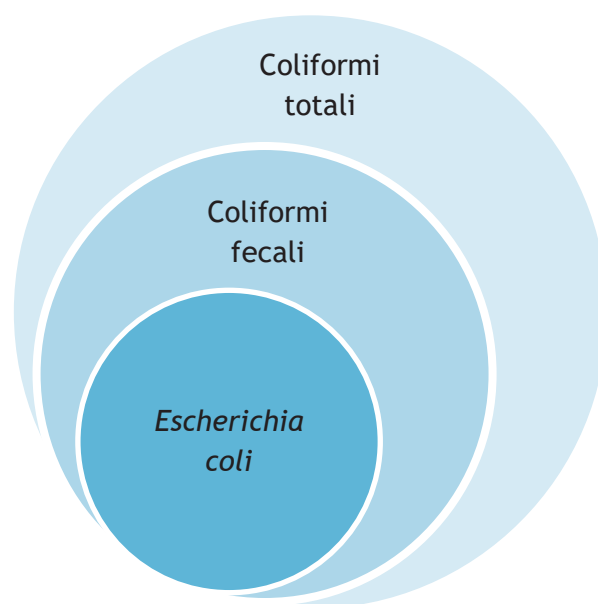


Figura 3.5. Reprezentarea schematică a grupului de bacterii coliforme

Cu toate acestea, există tulpini patogene de *E. coli* care cauzează boli gastro-intestinale la oamenii sănătoși atunci când sunt ingerate accidental (Feng et al., 2020).

Grupul coliform fecal este format în principal din *E. coli*. Unele bacterii enterice, cum ar fi *Klebsiella* spp. poate, de asemenea, fermenta lactoza și, prin urmare, poate fi considerată drept bacterie coliformă fecală. Includerea bacteriei *Klebsiella* spp. în grupul coliformilor fecali a scăzut factorul de corelație al acestui grup cu contaminarea fecală. Astfel, implementarea metodelor de detecție rapidă a *E. coli* este importantă în controlul microbiologic al apei (Directiva 7/CE, 2006; Wade et al., 2003).

Principiul metodei de determinare a numărului cel mai probabil de coliformi

Numărul cel mai probabil este o metodă importantă de enumerare utilizată pentru a estima coliformele totale și fecale în apele potabile și de suprafață, solurile și sedimentele. Garthright (1998) a arătat că testul NMP este o estimare statistică a unităților cultivabile și presupune că astfel de unități sunt

distribuite aleatoriu într-un eșantion. Funcțional, testul NMP se bazează pe diluarea unui microorganism țintă până la dispariție la o anumită diluare, de obicei cu factori de zece; un eșantion nu va conține o singură unitate cultivabilă. Diluțiile reale necesare ale probei se bazează pe experiență, iar tabelele NMP se bazează în mod obișnuit pe inocularea mediilor cu 3, 5, 10 sau 12 mL de probă din fiecare diluție. NMP este util atunci când celulele de microorganism din probe naturale sunt prezente în număr mic. Densitatea coliformilor este raportată ca număr de unități ce formează colonii (UFC) per 100 ml de apă (APHA, 2012; OMS, 2017).

Testul NMP se efectuează în următorii pași (Feng et al., 2020):

- Test prezumptiv pentru coliformi, coliformi fecali și *E. coli*
- Test de confirmare pentru coliformi
- Test de confirmare pentru coliformi fecali și *E. coli*
- Test complet pentru *E. coli*.

NMP - Test prezumptiv pentru coliformi, coliformi fecali și *E. coli*

Testul prezumptiv este un test de screening al probei de apă pentru a evidenția prezența coliformelor totale. Planul de lucru este următorul: Pregătirea diluțiilor zecimale cu diluant steril - soluție Buffer fosfat sau echivalent. Numărul de diluții care trebuie preparate depinde de concentrația coliformă anticipată. Suspensiile probelor se agită de câte 25 de ori cu ajutorul unui vortex timp de 7

secunde. Folosind cel puțin 3 diluții consecutive, din fiecare diluție se inoculează câte 1 ml în câte 3 eprubete cu bulion de lauril triptoză (BLT) pentru o analiză a NMP cu set de 3 eprubete (altă analiză poate necesita utilizarea a 5 eprubete pentru fiecare diluție). Se poate folosi și bulion lactoză (BL). Eprubetele cu BLT se incubează la $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Eprubetele incubate se examinează și se înregistrează apoi observațiile pentru reacțiile din mediul de cultură inoculat (eliberare de gaz în tubul Durham) după 24 ± 2 ore, adică deplasarea în flaconul de fermentare a tubului Durham sau efervescenta mediului inoculat, atunci când eprubetele sunt ușor agitate. Eprubetele negative se reincubează pentru încă 24 de ore, urmând examinarea și înregistrarea din nou a reacțiilor după 48 ± 3 ore. Dacă testul prezumptiv este negativ, nu se efectuează alte teste. Cu toate acestea, dacă vreo eprubetă din serie prezintă acid și gaz în tubul Durham, apa este considerată cu risc microbiologic și este necesar testul de confirmare. Testul de confirmare se realizează pentru toate eprubetele pozitive (gaz în tubul Durham) la testul prezumptiv (Figura 3.6).

NMP - Testul de confirmare pentru coliformi

Din fiecare eprubetă cu BLT sau cu bulion lactoză ce prezintă gaze, cu ajutorul unei anse se transferă un volum de suspensie și se inoculează în câte o eprubetă cu bulion bilă lactoză verde briliant (BBLBV). Eprubetele cu BBLVB inoculate, se incubează la $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$

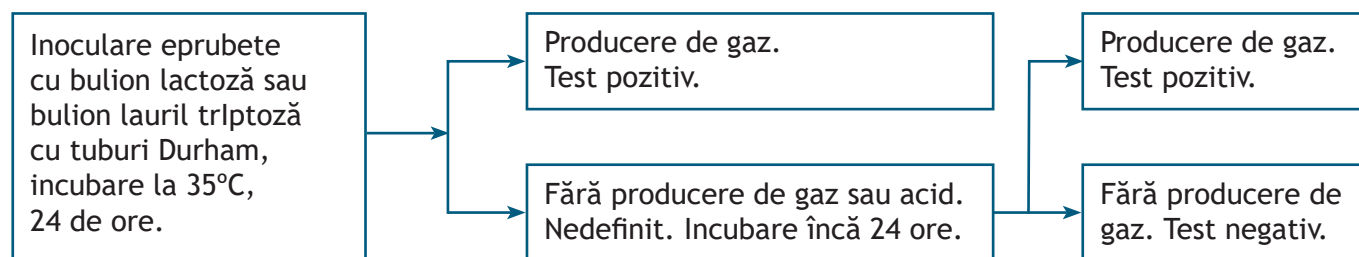


Figura 3.6. Prezentarea schematică a realizării testului prezumptiv

și se examinează producerea de gaz după 48 ± 3 ore. Numărul cel mai probabil (NMP) de coliformi se calculează pe baza proporției eprubetelor BBLVB pozitive (prezența gaze-

lor) confirmate pentru 3 diluții consecutive. Pentru a confirma prezența coliformelor, se recomandă aplicarea planului de lucru prezentat în Figura 3.7.

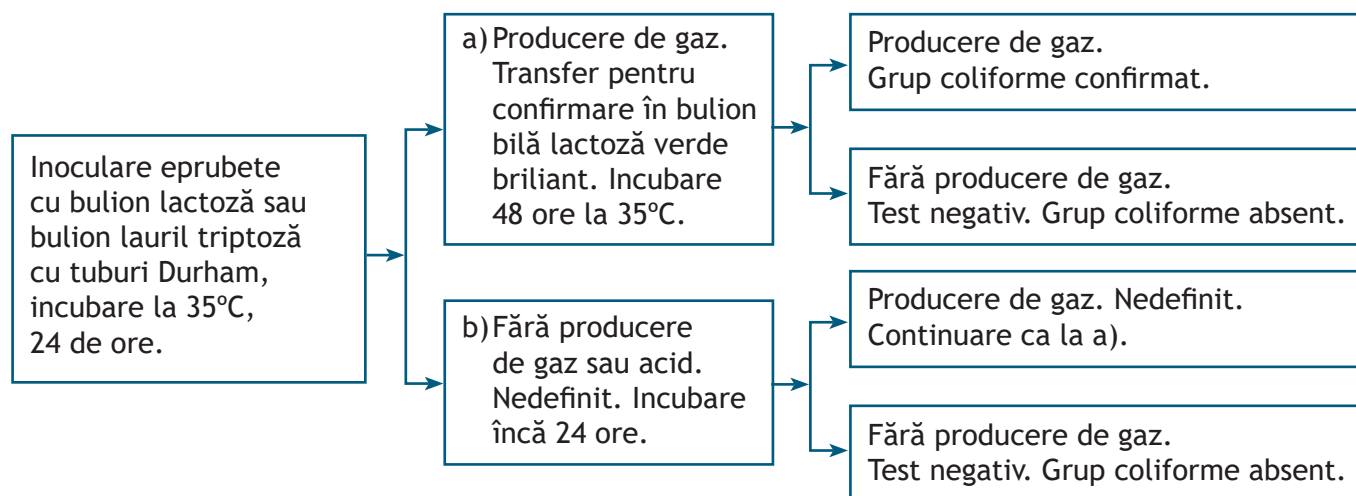


Figura 3.7. Prezentarea schematică a realizării testului de confirmare

NMP - Testul de confirmare pentru bacterii coliforme și *E. coli*

Din fiecare eprubetă pozitivă cu BLT sau BL (prezența gazelor în tubul Durham) de la testul prezumtiv, se transferă o ansă din fiecare suspensie în câte o eprubetă cu bulion EC. Eprubetele EC inoculate se incubează EC 24 ± 2 h la $44,5^\circ\text{C}$ și se examinează dacă există gaze. Eprubetele EC inoculate negative se reincubează și se examinează din nou după 48 ± 2 ore. Rezultatele acestui test sunt utilizate pentru a calcula NMP de coliformi fecali.

NMP - Testul complet pentru *E. coli*

Pentru a efectua testul complet pentru *E. coli* în vederea izolării, fiecare eprubetă pozitivă EC se agită ușor, iar suspensia recoltată din fiecare eprubetă cu ajutorul unei anse, este scarificată pe suprafața unui mediu de cultură Levine-eozină albastru metilen cu agar (L-EAM) aflat într-o cutie Petri și apoi incubată timp de 18-24 ore la $35^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Se examinează plăcile pentru a identifica colonii posibile de *E. coli*, negre în centru și

plate, cu sau fără luciu metallic. Se transferă până la 5 colonii din fiecare placă cu L-EAM pe Agar Plate Count (APC) înclinat, se incubează timp de 18-24 ore la $35^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$ și se utilizează apoi pentru testări suplimentare (Figura 3.8) (Metode standard, 9221:2017).

Testele de confirmare sunt următoarele (Feng et al., 2020):

- 1) Colorarea Gram - Toate culturile care apar ca Gram-negative cu celule sub formă bastonașe scurte ar trebui testate pentru reacțiile IVPMC (a se vedea mai jos punctele 2 ÷ 5) de mai jos și, de asemenea, re-inoculate înapoi în BLS pentru a confirma producerea de gaz.
- 2) Prezența de indol - Inoculați tubul cu bulion triptonă și incubați timp de 24 ± 2 h la $35^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$. Testați apoi pentru prezența indolului adăugând 0,2-0,3 ml de reactiv Kovacs. Aspectul unei culori roșii distincte în stratul superior indică un test pozitiv.
- 3) Compuși reactivi Voges-Proskauer (VP) - Inoculați eprubeta cu bulion roșu metil Voges-Proskauer (bulion RM-VP)

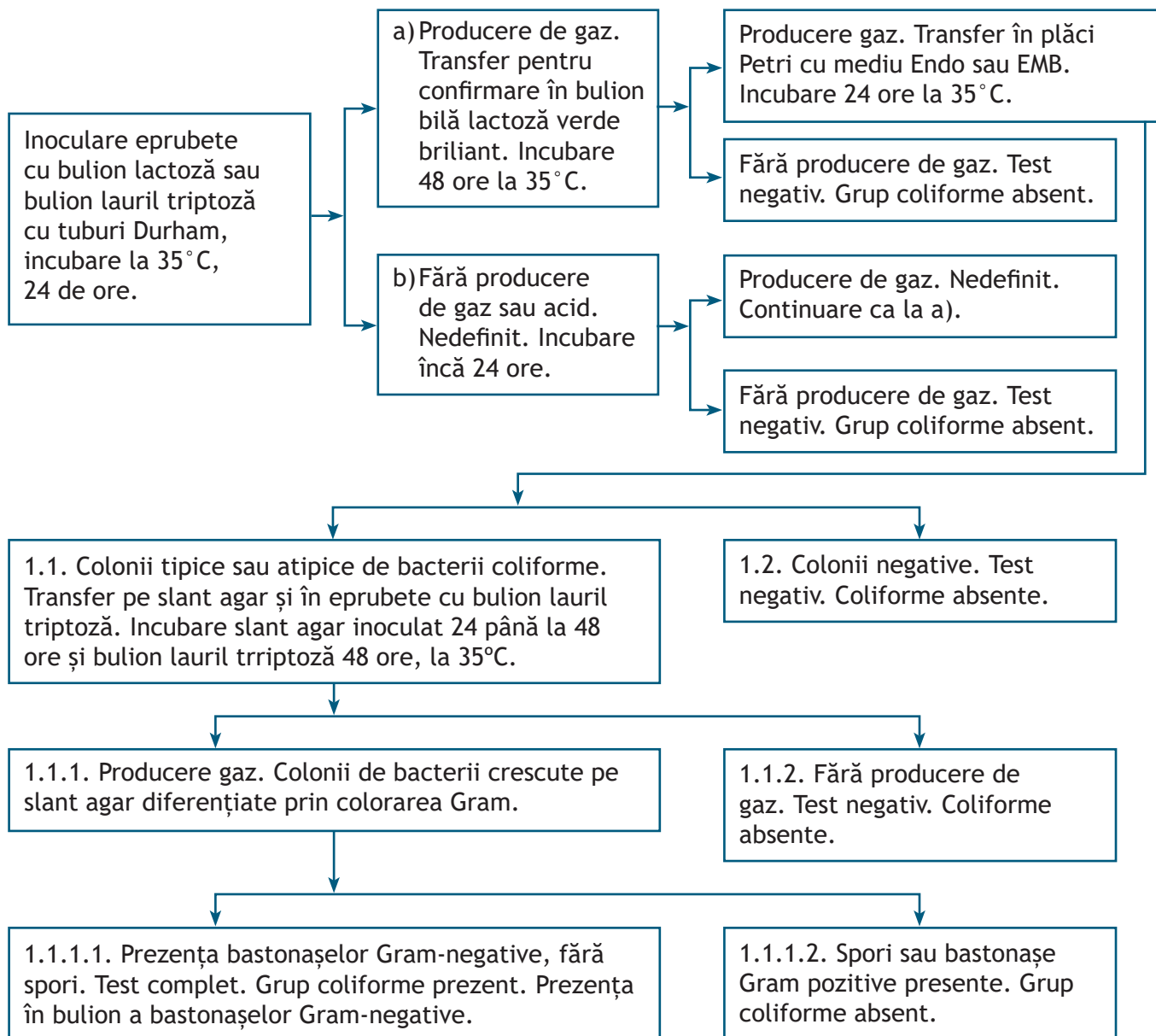


Figura 3.8. Prezentarea schematică a realizării testului complet

și incubati timp de 48 ± 2 h la $35^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$. Transferați 1 ml în eprubeta de 13×100 mm. Se adaugă 0,6 ml soluție de a-naftol și 0,2 ml 40% KOH și se agită. Adăugați câteva cristale de creatină. Se agită și se lasă să stea 2 ore. Testul este pozitiv dacă apare culoarea roz-eozină.

- 4) Compuși reactivi la metil roșu - După testul VP, incubati eprubeta cu RM-VP suplimentar timp de 48 ± 2 h la $35^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$. Adăugați 5 picături de soluție de roșu metil în fiecare tub. Apariția culorii roșu distinct este o reacție pozitivă.

Apariția culorii galben este o reacție negativă.

- 5) Metabolizarea citratului - Inoculați cu atenție eprubeta cu bulion citrat Koser; evitați agitarea. Se incubează timp de 96 ore la $35^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$. Dezvoltarea turbidității distincte este o reacție pozitivă.
- 6) Compuși reactivi la metil roșu - După testul VP, incubati eprubeta cu RM-VP suplimentar timp de 48 ± 2 h la $35^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$. Adăugați 5 picături de soluție de roșu metil în fiecare tub. Apariția culorii roșu distinct este o reacție pozitivă.

Apariția culorii galben este o reacție negativă.

- 7) Metabolizarea citratului - Inoculați cu atenție eprubeta cu bulion citrat Koser; evitați agitarea. Se incubează timp de 96 ore la $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Dezvoltarea turbidității distincte este o reacție pozitivă.
- 8) Producere de gaz din fermentarea lactozei - Inoculați un tub de bulion de lauril triptoză (BLT) și incubați timp de 48 ± 2 ore la $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Producția de gaz (deplasarea mediului din tubul Durham) sau efervescența după agitare ușoară este o reacție pozitivă.

Toate culturile care (a) fermentează lactoza cu producere de gaz în 48 de ore la 35°C ,

(b) apar ca bastonașe nesporulate Gram-negative și (c) dau reacții IVPNC de +++- (biotip 1) sau -+- (biotip 2) sunt considerate a fi *E. coli*. NMP de *E. coli* se calculează apoi pe baza rezultatelor obținute după inocularea eprubetelor cu EC din 3 diluții succesive care conțin *E. coli*.

Calcularea NMP

Pe baza numărului de eprubete pozitive rezultate din incubarea pe medii selective a celor trei seturi de diluții în corelație cu datele din Tabelul 3.2, se poate stabili NMP și apoi UFC/mL luând în considerare cel mai mic factor de diluare dintre cele trei diluții folosite pentru calcul.

Tabel 3.2. Tabel pentru stabilirea indicelui NMP

Număr de eprubete pozitive			Indice NMP	Număr de eprubete pozitive			Indice NMP
Grupul primei diluții	Grupul diluției 2	Grupul diluției 3		Grupul primei diluții	Grupul diluției 2	Grupul diluției 3	
0	0	0	< 2	4	2	1	26
0	0	1	2	4	3	0	27
0	1	0	2	4	3	1	33
0	2	0	4	4	4	0	34
1	0	0	2	5	0	0	23
1	0	1	4	5	0	1	30
1	1	0	4	5	0	2	40
1	1	1	6	5	1	0	30
1	2	0	6	5	1	1	50
2	0	0	4	5	1	2	60
2	0	1	7	5	2	0	50
2	1	0	7	5	2	1	70
2	1	1	9	5	2	2	90
2	2	0	9	5	3	0	80
2	3	0	12	5	3	1	110
3	0	0	8	5	3	2	140
3	0	1	11	5	3	3	170
3	1	0	11	5	4	0	130
3	1	1	14	5	4	1	170
3	2	0	14	5	4	2	220
3	2	1	17	5	4	3	280
4	0	0	13	5	4	4	350
4	0	1	17	5	5	0	240
4	1	0	17	5	5	1	300
4	1	1	21	5	5	2	500
4	1	1	26	5	5	3	900
4	2	0	22	5	5	4	1600
-	-	-	-	5	5	5	>1600

Pentru a transforma concentrațiile indicatorilor fecali în niveluri de poluare microbiologică fecală, s-a folosit un sistem de clasificare a calității apei pe cinci niveluri de poluare care integrează liniile directe pentru calitatea apei pentru scaldat cu Directiva cadru europeană a apei (UE-DCA). Sistemul definește cinci clase de poluare fecală a apei, clasele I și II sunt inferioare, iar clasele de calitate III, IV și V depășesc valorile limită de poluare fecală pentru o bună calitate a apei pentru scaldat.

Sistemul de clasificare a calității apei funcție de poluarea fecală este prezentat în Tabelul 3.3. (Directiva 60/EC, 2000; Kavka et al., 2006; Kirschner et al., 2015, 2017).

Exemplu (Tabelul 3.2.): O probă de apă a fost diluată prin realizare de 3 diluții decimale successive. Din fiecare diluție au fost inoculate câte 5 eprubete cu mediu selectiv, rezultând 15 eprubete inoculate în total. După incubare, primul grup de eprubete inoculate din prima diluție a prezentat 4 eprubete pozitive. Al doilea grup de eprubete inoculate din a doua diluție a prezentat 2 eprubete cu gaz, iar al treilea grup de eprubete inoculate cu diluția 3, a prezentat o eprubetă pozitivă. Indicele numărului probabil de coliformi din tabelul 3.2 pentru 4, 2 și 1 eprubetă pozitive este 26. Rezultatul pentru proba de apă analizată este: $26 \times 10 = 260$ coliformi per 100 mL de probă (Feng & Hartman, 1982).

Tabel 3.3. Sistem de clasificare microbiologică a calității apei în funcție de poluarea fecală

Evaluarea microbiologică a calității apei		Clasa				
		I	II	III	IV	V
Parameteri	Poluare fecală	scăzută	moderată	critică	puternică	Excesivă
Coliformi totali	în 100 mL apă	< 500	> 500 - 10 000	> 10 000 - 100 000	> 100 000 - 1 000 000	> 1 000 000
Coliformi fecali (Coliformi termotoleranți)		< 100	> 100 - 1 000	> 1 000 - 10 000	> 10 000 - 100 000	> 100 000
Streptococci fecali (Enterococci)		≤ 40	> 40 - 400	> 400 - 4 000	> 4 000 - 40 000	> 40 000
<i>Escherichia coli</i>		≤ 100	> 100 - 1 000	> 1 000 - 10 000	> 10 000 - 100 000	> 100 000

Metode microscopice

Metodele microscopice pentru numărarea directă a bacteriilor în apă au doar aplicații limitate în microbiologia apei în scopul asigurării calității apei, deoarece limita de detecție este relativ mare și imaginea microscopică nu oferă în mod clar informații pentru identificarea bacteriilor. Se consideră că metodele microscopice nu diferențiază în mod obișnuit celulele vii de celulele moarte, ceea ce face imposibilă interpretarea rezultatelor analitice în termeni de riscuri pentru sănăta-

te. Sunt disponibile câteva metode avansate, metode de imunofluorescență specifice, care utilizează preparate selective de anticorpi (Schets et al., 2015). Au fost dezvoltate mai multe metode pentru a evalua viabilitatea celulelor unice prin metode microscopice, cum ar fi excluderea anumitor coloranți (indicând integritatea peretelui celular), reducerea sărurilor de tetrazoliu (indicând metabolismul respirator activ) și alungirea celulelor în prezența acid nalidixic (indicând biosinteza activă). Aceste metode necesită mult timp și ne-

cesită expertiza unui laborator de cercetare. Limitările constau în faptul că într-o populație bacteriană stresată, detectabilitatea prin metode culturale se pierde mai ușor decât viabilitatea folosind metode microscopice. La reactivarea din această stare „viabilă, dar neculturable” (VBNC), celulele își recapătă culturabilitatea și reînnoirea capacității de a provoca infecții.

Metode moleculare

Detectarea unei secvențe specifice în ADN-ul sau ARN-ul microorganismului țintă este principiul metodelor moleculare. Comparativ cu metodele culturale și microscopice, metodele moleculare oferă în general rezultate mai rapide, deși uneori mai puțin cantitativ (Schets et al., 2015). Aceste metode nu au limitele pentru detectarea organismelor neculturable.

Detectarea ARNm, metode de viabilitate a reacției în lanț a polimerazei (PCR) permit diferențierea între organisme vii și cele moarte.

În ultimii ani, în multe laboratoare de cercetare au fost explorate metode moleculare pentru detectarea bacteriilor. Hibridizarea in situ a fluorescenței implică detectarea directă a ADN-ului sau ARN-ului bacteriilor specifice după concentrarea pe membrane filtrante cu sonde oligonucleotidice specifice secvenței marcate cu coloranți fluorescenți, fără a fi nevoie de cultură în prealabil.

PCR poate fi utilizat pentru detectarea directă a bacteriilor din probele de apă și poate fi aplicat pentru a identifica izolatele bacteriene. Deși PCR este o metodă sensibilă, concentrația probelor de apă este totuși necesară. PCR detectează bacteriile neculturable, dar poate detecta și organisme moarte sau contaminări din trecut, deoarece ADN-ul este foarte stabil în mediu. Moleculele de ARNm, dimpactivă, sunt foarte labile și au o rotație rapidă. Ciclul PCR constă din trei etape: denaturarea ADN-ului la temperatură ridicată, refacerea

primerilor specifici secvenței la secvența țintă la o temperatură mai mică și elongarea primerilor la o temperatură care este optimă pentru enzima polimerază termostabilă.

Transcriptaza inversă-PCR (TI-PCR) poate amplifica ARNm, ceea ce indică prezența bacteriilor vii sau recent moarte într-o probă.

Principiul TI-PCR este că etapa PCR este precedată de o etapă de transcriptază inversă în care ARNm este transcris într-o catenă de ADN copiat, care este utilizată ca țintă în reacția PCR. Diferențierea dintre celulele vii și cele moarte poate fi realizată și prin strategii de viabilitate-PCR în care ADN-ul celulelor deteriorate este exclus din amplificarea PCR prin legarea covalentă a unui intercalator la ADN-ul celulelor deteriorate. O alternativă pentru diferențierea dintre celulele vii și cele moarte este precedarea PCR printr-o etapă scurtă de îmbogățire care permite multiplicarea bacteriilor cultivabile.

PCR este o tehnică de prezență/absență a microorganismelor, dar au fost dezvoltate sisteme PCR cantitative în timp real (qPCR) care permit detectarea moleculară directă și cuantificarea microorganismelor din probele de apă. În metodele qPCR, ADN-ul amplificat este detectat în timpul reacției PCR în timp real. Pentru tipizarea izolatelor bacteriene, se utilizează adesea secvențierea ADN.

Secvențierea generației următoare permite producerea rapidă a mii sau milioane de secvențe, permițând detectarea genomului întreg.

Tehnici experimentale utilizate în cadrul proiectului BSB27-MONITOX

Cunoașterea detaliată a poluării fecale în mediile acvatice este crucială pentru activitățile de gestionare a bazinelor hidrografice, în scopul menținerii apelor sigure în scopuri recreative și economice. Evaluarea nivelului contaminării microbiologice a fluviului Dunărea și a apei Mării Negre din zonele țintă ale proiectului BSB27 MONITOX din partea SE

a României, a fost efectuată prin numărarea bacteriilor heterotrofe și a coliformilor totali.

Probele de apă colectate au fost testate pentru diferite populații de microorganisme în laboratoarele Platformei BioAliment din

Universitatea Dunarea de Jos din Galați, prin incubarea probelor de apă diluate pe medii specifice pentru creșterea bacteriilor coliforme și a bacteriilor aerobe mezofile (Figurile 3.9-3.16).



Figura 3.9. Pregătirea mediilor de cultură: cântărirea și dozarea mediilor de cultură; sterilizarea mediilor de cultură și a vârfulor de pipetă



Figura 3.10. Prelucrarea probelor. a, b - realizarea diluțiilor în ser steril fiziologic și distribuția lor în cutii Petri sterile



Figura 3.11. Omogenizarea diluțiilor probelor cu mediu de cultură în cutii Petri sterile



Figura 3.12. Metoda tuburilor multiple: Inocularea diluțiilor probelor în mediu specific pentru testul prezumtiv



Figura 3.13. Incubarea cutiilor Petri și a eprubetelor inoculate cu diluții ale probelor pe mediile specifice, la 37°C timp de 48 de ore



Figura 3.14. Metoda tuburilor multiple: Inocularea din eprubetele pozitive ale testului prezumtiv în mediu specific pentru testul de confirmare

Figura 3.15. Metoda tuburilor multiple: Eprubete pozitive ale testului de confirmare după incubare la 37°C timp de 48 de ore



a
b
Figura 3.16. Colonii de bacterii heterotrofe pe mediu PCA (a - prima și b - a doua diluție a probei de apă)

Determinarea numărului de bacterii aerobe mezofile totale a fost efectuată prin metoda numărării indirecte care presupune cultivarea bacteriilor din diluții ale probele de apă în cutii Petri pe mediu de cultură cu agar, urmată de incubare la 37°C timp de 48 de ore, metodă furnizată de standardul român STAS 3001-91. Mediul de cultură utilizat pentru cultivarea microorganismelor a fost Plate Count Agar (Sigma Aldrich, Suedia). Numărul de bacterii heterotrofe a fost exprimat ca unități formatoare de colonii (ufc) per ml de probă.

Coliformii totali la 37°C au fost determinați prin metoda numărului cel mai probabil de coliformi (NMP), cu set de câte trei eprubete pentru fiecare diluție a probei de apă, conform STAS ISO 4831-92. Această metodă a implicat două teste, testul prezumtiv și testul de confirmare. Pentru testul prezumtiv s-a folosit ca mediu de cultură bulion de carne cu lactoză și tuburi Durham.

Testul de confirmare a fost efectuat în mediu selectiv, bulion bilă verde briliant (Scharlau, Spania) cu tuburi Durham. După incubare, prezența gazului în tuburile Durham și schimbarea culorii mediului din verde în galben au indicat prezența bacteriilor coliforme

Bacteriile coliforme au fost prezente în toate probele de apă, iar numărul acestora a variat între 600 și 250 000 ufc/100 mL (Vasile et al., 2019). Numărul de bacterii aerobe mezofile totale este în strânsă corelație cu cantitatea de substanță organică din apă. Numărul de bacterii din probele de apă analizate a variat de la $1,55 \times 10^2$ la $6,08 \times 10^3$ ufc/mL. Aceste valori au fost mai mari decât valorile înregistrate de Ungureanu et. al (2014) în cadrul proiectului MIS ETC 1676 (INPOLDE) finanțat de UE prin Programul Operațional Comun România-Ucraina-Republica Moldova: bacteriile aerobe mezofile totale s-au încadrat în intervalul $1,8 \times 10$ ufc/mL și $4,6 \times 10$ ufc/mL, iar NMP de coliformi, între 60 ufc/mL și 600 ufc/mL.

Rezultatele obținute de echipa noastră în studiul comparativ al contaminării microbiologice a apei de suprafață din bazinul Dunării și al Mării Negre (Ene et al., 2020) demonstrează o scădere a contaminării microbiologice în 2020 în timpul pandemiei COVID-19, în toate eșantioanele colectate de pe coasta Mării Negre, brațurile Dunării, confluența Dunăre-Marea Neagră și fluviul Dunărea în aval de orașul Galați.

Per ansamblu, evaluarea calității apei microbiene este necesară pentru a evalua semnificația impactului antropogen în creșterea asupra fluviului Dunărea, Deltei Dunării și Mării Negre. Conform clasificărilor internaționale pentru apele de scăldat, probele de apă au fost caracterizate în principal de un număr moderat de bacterii coliforme. Excepție au făcut unele locații situate în mai multe sectoare din partea de jos a fluviului Dunărea, în amonte de orașul Galați, pentru care s-au întâlnit valori critice.

3.3. CONCLUZII ȘI PERSPECTIVE

Asigurarea calității și trasabilitatea testelor microbiologice ale apei sunt principalele criterii pentru relevanța rezultatelor. Planul de analiză trebuie stabilit pentru fiecare probă luând în considerare numeroși factori legați de nivelul și tipul de contaminare, caracteristicile fizico-chimice ale probelor analizate, tehnicile utilizate, limitele de detecție etc. Astfel, dacă apa este foarte contaminată, unele metode pot necesita diluții multiple pentru rezultate exacte, în timp ce apa cu un nivel de contaminare foarte scăzut poate necesita analiza probelor repetate multiple pentru a obține rezultate fiabile. În examinările microbiologice, natura și vechimea eșantionului de apă, precum și mediul de dezvoltare și condițiile de incubare pot avea o influență puternică asupra speciilor izolate

și a numărului obținut. În consecință, diferite metode microbiologice au precizii variabile. Aceasta înseamnă că standardizarea metodelor și a procedurilor de laborator este de o mare importanță dar criteriile pentru calitatea microbiologică a apei trebuie să fie uniforme în diferite laboratoare, atât în țară, cât și la nivel internațional.

Stabilirea metodelor standard care trebuie utilizate pentru analizele de rutină sunt necesare pentru relevanța rezultatelor. Un plan de investigație microbiologică relevant trebuie să ia în considerare: (1) utilizarea procedurilor standard de operare; (2) Documentație adecvată pentru a garanta trasabilitatea probelor și a protocoalelor utilizate; (3) Utilizarea eșantioanelor de control relevante, care oferă informații despre relevanța și reproductibilitatea rezultatelor; (4) Participarea la scheme externe de evaluare a calității (testarea competenței) pentru a evalua întregul proces de testare și raportarea rezultatelor.

Controalele microbiologice ale apei se pot baza pe analiza indicatorilor de poluare fecală. Indicatorii clasici împreună cu îmbunătățirile privind tratamentul și dezinfectarea pentru a controla focarele de infecție prin intermediul apei, oferă informații predictive despre calitatea microbiologică a apei. Cu toate acestea, indicatorii bacterieni nu prezic contaminarea cu paraziți și virusuri, mai rezistenți la dezinfecție. Mai mult, investigarea indicatorilor clasici poate fi înlocuită cu detectarea directă a microorganismelor patogene, dar în acest caz metodele sunt mult mai scumpe și implică resurse speciale (infrastructură, operatori cu înaltă calificare și investiții financiare).

Relevanța controlului, colectării datelor și asigurării siguranței apei la nivel global a motivat autoritățile în dezvoltarea și implementarea unor abordări mai preventive, cum ar fi Planurile de siguranță a apei propuse de Organizația Mondială a Sănătății (OMS).

Bibliografie

- Allen M.J., Edberg S.C., Reasoner D.J., 2004, *Heterotrophic Plate Count Bacteria - What is Their Significance in Drinking Water?*, [International Journal of Food Microbiology](#) 92(3):265-74, DOI: [10.1016/j.ijfoodmicro.2003.08.017](#)
- Brown A., Smith H., 2015, Benson's Microbiological Applications, *Laboratory Manual in General Microbiology*, Short Version 13th, Part 5 - Culture Method, 127-151.
- Cappuccino J.G., Sherman N., 2008, *Microbiology: A Laboratory Manual*, 8th ed. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, CA, USA.
- Duncan M., Horan N., 2003, The Handbook of Water and Wastewater Microbiology ISBN 0-12-470100-0, Horan N., *7 Faecal indicator organisms*, 106-111
- Ene A., Vasile A., Bahrim G., 2020, Study of microbiological contamination level of surface water in MONITOX network areas before and after COVID-19 pandemic, *Annals of Dunarea de Jos University of Galati - Fascicle II, Year XII (XLIII)*, 75-81
- Feng P.C.S., Hartman P.A., 1982, *Fluorogenic Assays for Immediate Confirmation of Escherichia coli*. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 43, No. 6, 1320-1329
- Feng P., Weagant S.D., Grant M.A., Burkhardt W., 2020, Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. *Bacteriological Analytical Manual (BAM)*, <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria> (accesat pe 10/09/2020)
- Garthright W.E., 1998, *Most probable number from serial dilutions*. Bacteriological Analytical Manual, 8th Ed., Appendix 2. AOAC International, Gaithersburg, Maryland
- Gomes I.B., Maillard J.Y., Simões L.C., Simões M., 2020, Emerging contaminants affect the microbiome of water systems strategies for their mitigation. *npj Clean Water*, 3:39, <https://doi.org/10.1038/s41545-020-00086-y>
- Han Z., Zhang Y., An W., Lu J., Hu J., Yang M., 2020, *Antibiotic resistomes in drinking water sources across a large geographical scale: Multiple drivers and co-occurrence with opportunistic bacterial pathogens*. *Water Research*, 116088. doi:10.1016/j.watres.2020.116088
- Kavka GG, Kasimir GD, Farnleitner AH, 2006, Microbiological water quality of the River Danube (km 2581 - km 15): longitudinal variation of pollution as determined by standard parameters. In: Proceedings of the 36th International Conference of IAD, Austrian Committee Danube Research, Vienna, pp 415-421
- Kirschner A.K.T., Kavka G., Reischer G.H., Sommer R., Blaschke A.P., Stevenson M., Vierheilig J., Mach R.L., Farnleitner A.H., 2015, Microbiological Wa-

- ter Quality of the Danube River: Status Quo and Future Perspectives in *The Danube River Basin*, I. Liska (ed.), Hdb Env Chem (2015) 39: 439-468, DOI 10.1007/698_2014_307
- Kirschner A.K.T., Reischer G.H., Jakwerth S., Savio D., Ixenmaier S., Toth E., Sommer R., Mach R.L., Linke R., Eiler A., Kolarevic S., Farnleitner A.H., 2017, Multiparametric monitoring of microbial faecal pollution reveals the dominance of humancontamination along the whole Danube River, *Water Research*, Volume 124, Pages 543-555
- Kohl W., 1975, Über die Bedeutung bakteriologischer Untersuchungen für die Beurteilung von Fließgewässern, dargestellt am Beispiel der österreichischen Donau, *Arch, Hydrobiol./Suppl*, 44, 4, 392-461.
- Reasoner D.J., Geldreich E.E., 1985, *A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 49:1.
- Rosenfeld, P. E., Feng, L. G. H. , 2011, *Risks of Hazardous Wastes. Chapter 16 Emerging Contaminants*, pp. 215-222, doi:10.1016/b978-1-4377-7842-7.00016-7
- Saingam P., Li B., Yan T., 2020, *Fecal Indicator Bacteria, Direct Pathogen Detection, and Microbial Community Analysis Provide Different Microbiological Water Quality Assessment of A Tropical Urban Marine Estuary. Water Research*, 116280. doi:10.1016/j.watres.2020.116280
- Schets F.M., van den Berg H.H.J.L., Schalk J.A.C., de Roda Husman A.M., 2015, *WATER ANALYSIS | Microbiological*, pp. 277-285. In: *Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)*. Elsevier Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering
- Wade T.J., Pai N., Eisenberg J.N.S., Colford J.M., 2003, Do US environmental protection agency water quality guidelines for recreational waters prevents gastrointestinal illness? A systematic review and meta-analysis. *Environ Health Perspect* 111:1102-1109
- Wang J., Chu L., Wojnárovits L., Takács E., 2020, Occurrence and fate of antibiotics, antibiotic resistant genes (ARGs) and antibiotic resistant bacteria (ARB) in municipal wastewater treatment plant: An overview. *Science of the Total Environment* ,744:140997, doi:10.1016/j.scitotenv.2020.140997
- *** APHA, 2012, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 22th Ed.. American Public Health Association, Washington, DC.
- *** Directiva 2000/60/EC, European Parliament & Council, 2000, Directive 2000/60/EC of the European Parliament and the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. Official J L327:1-72
- *** Directiva 2006/7/EC, European Parliament & Council, 2006, Directive 2006/7/EC of the European Parliament and of the Council of 15 February 2006 concerning the management of bathing water quality and repealing Directive 76/160/EEC. Off J L064:37-51
- ***ICPDR, The Joint Danube Survey 2001, Chapter 4 MICROBIOLOGY, 168-150, <https://www.icpdr.org/main/activities-projects/joint-danube-survey-1>
- ***Society for General Microbiology, 2006, *Basic Practical Microbiology - A Manual*, ISBN 0 95368 383 4, 1-40.
- ***Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 2017, 9215 *Heterotrophic Plate Count*, DOI: 10.2105/SMWW.2882.188
- ***Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 2017, 9221 *Multiple-tube fermentation technique for members of the coliform group*, DOI: 3399910.2105/SMWW.2882.192
- Ungureanu C., Ifrim G., Turturica M., Bahrim G., Ene A., 2014, *Chemical and microbiological analysis of water quality from Lower Danube Region*, *Annals of Dunarea de Jos University of Galati - Fascicle II, Year VI (XXXVII)*, 51-57.
- ***USEPA, 2002, *Long Term 1 Enhanced Surface Water Treatment Rule*, US Environmental Protection Agency
- Vasile A., Ene A., Bahrim G., 2019, *Microbiological Quality and Contamination Level of Danube River Water in Ostrov-Isaccea Sector*, South-Eastern Part of Romania, Abstract Book MONITOX International Symposium „Deltas and Wetlands” September 15th -17th, 2019 Tulcea, Romania, Editura C.I.T.D.D. Tulcea, p.30.
- ***WHO, 2017, *Guidelines for Drinking water Quality 4th Ed.*, ISBN 978-92-4-154995-0, World Health Organization Geneva, 7 *Microbial aspects*, 117-153

4

Capitolul

CONTAMINANȚI EMERGENȚI ÎN MEDIU - EFECTE ECOTOXICOLOGICE

Elena Enachi^{1,2}, Antoaneta Ene², Carmen Lidia Chițescu³

¹ Universitatea Dunărea de Jos din Galați, Centrul de cercetare BioAliment, Facultatea de Știința și Ingineria Alimentelor, Str. Domnească nr.47, 800008 Galați, România

² Universitatea Dunărea de Jos din Galați, Centrul de cercetare internațional interdisciplinar INPOLDE, Facultatea de Științe și Mediu, Str. Domnească nr.47, 800008 Galați, România

³ Universitatea Dunărea de Jos din Galați, Centrul de cercetare MORAS, Facultatea de Medicină și Farmacie, Str. Alexandru Ioan Cuza nr.35, Galați, România

4.1. CONSIDERENTE GENERALE

Contaminanții sau poluanții emergenți (CE sau PE) includ orice tip sintetic sau natural de substanță sau substanță chimică sau orice microorganism care nu este monitorizat de obicei de către nicio agenție de monitorizare sau reglementat în mediu, cu presupuse efecte secundare ecologice și asupra sănătății umane (Biroul European de Mediu/European Environmental Bureau).

Aceste tipuri de contaminanți emergenți reprezintă în principal substanțe chimice care se găsesc în produse farmaceutice, produse de îngrijire personală, pesticide, produse industriale și de uz casnic, agenți tensioactivi, aditivi industriali și solvenți. Multe dintre aceste substanțe sunt folosite la scară largă și eliberate înapoi în mediu la concentrații foarte mici, care pot, pe termen lung, să provoace toxicitate cronică, perturbări endocrine atât la oameni cât și asupra faunei sălbatice acvatice precum și dezvoltarea rezistenței la antibiotice a bacteriilor patogene (Biroul European de Mediu/European Environmental Bureau).

Potrivit Biroului European de Mediu și organizației UNESCO, toți acești factori converg pentru a aborda necesitatea urgentă de a consolida cunoștințele științifice și de a adopta cele mai adecvate măsuri pentru a monitoriza

diferenții poluanți emergenți atât în resursele de apă cât și în apele uzate, pentru a evalua potențialul efect asupra sănătății umane și pentru a preveni și controla eliminarea acestora în sursele de apă.

În ultimul timp, disponibilitatea unei metode instrumentale solide și sensibile a permis apariția unor studii privind identificarea și separarea unor clase diverse de contaminanți în sistemele de mediu la concentrații foarte scăzute (Farré et al., 2012; Carvalho & Santos, 2016; Enachi et al., 2019).

Aceste tipuri de contaminanți emergenți (CE) includ o mare varietate de substanțe chimice (Figura 4.1) caracterizate printr-o distribuție largă și persistență în mediu din cauza utilizării lor intensive în diferite scopuri. Produsele farmaceutice și de îngrijire personală, plastifiantii și pesticidele reprezintă categoriile principale ale CE (Sauvé & Desrosiers, 2014; Enachi et al., 2019).

Soarta, efectele potențiale și riscurile acestor compuși asupra ecosistemelor și a sănătății umane la astfel de concentrații au devenit o adevărată preocupare pentru lumea științifică.

Acest interes justifică numărul mare de recenzii și articole științifice cu privire la determinarea analitică (Albero et al., 2015), apariția, distribuția și riscurile contaminanților emergenți în mediu, în special în compar-

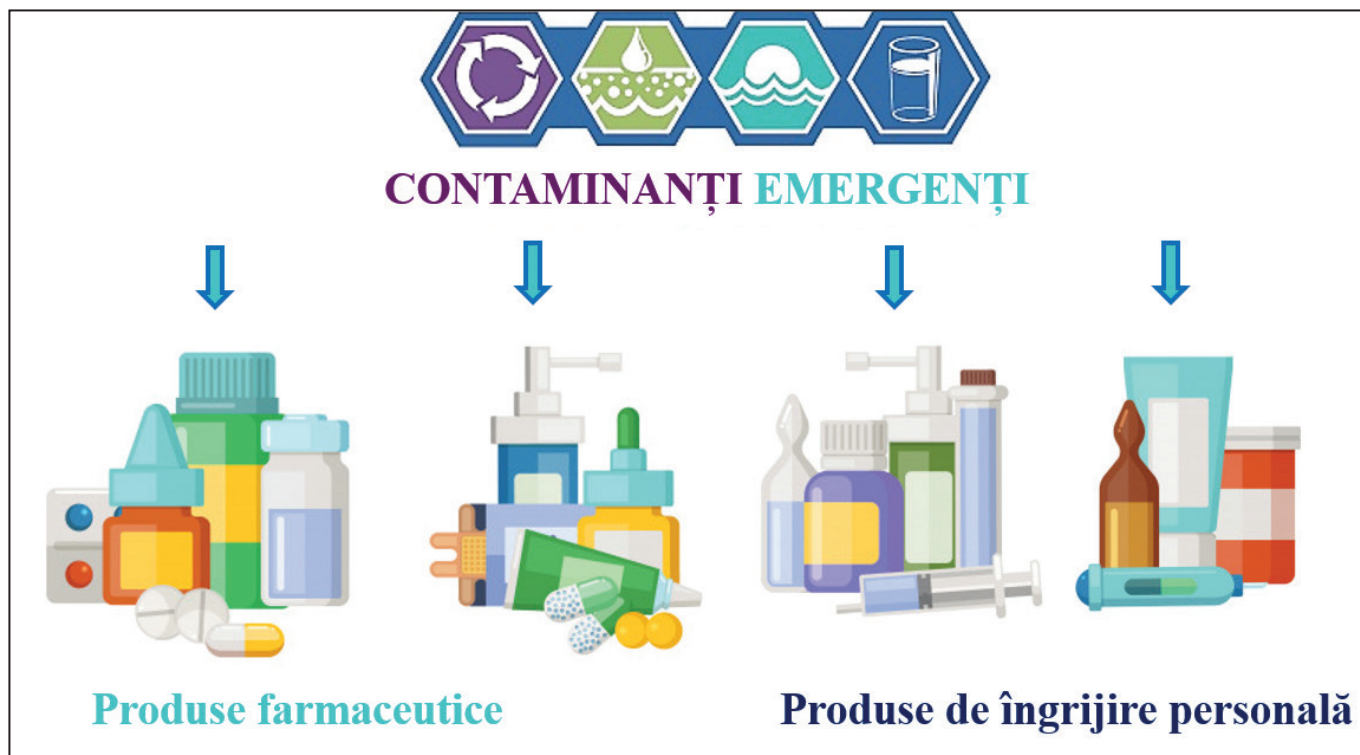


Figura 4.1. Cei mai reprezentativi contaminanți (poluanți) emergenți

timentele acvatice (Pal et al., 2014; Carvalho & Santos, 2016; Enachi et al., 2019).

Cu toate acestea, în prezent se cunoaște foarte puțin despre potențialul impact toxicologic și ecologic al acestor tipuri de substanțe asupra ecosistemelor acvatice (Bellenger & Cabana, 2014; Carvalho & Santos, 2016).

Pe termen lung, din cauza ratei mari de incidență a acestor compuși în mediu, UE, EMEA și CDC au elaborat o serie de reglementări privind calitatea apei (EC 2000, 2001, 2008, 2013; US EPA, 2014; CE, 2015a).

În consecință, sunt necesare cercetări științifice suplimentare care privesc efectele acestora asupra mediului și sănătății umane pentru a oferi mijloacele necesare autorităților competente care vor trebui să stabilească strategii eficiente și adecvate de monitorizare și reglementări adecvate pentru substanțele vizate (Murphy et al., 2012; Enachi et al., 2019).

În ultimii ani, fabricarea și aplicarea pe scară largă a compușilor chimici sintetici au devenit cruciale în sectoarele industriale. Cu toate acestea, biodegradabilitatea redu-

să a acestor compuși este dezavantajul grav asociat utilizării lor extinse. Prin urmare, se manifestă un interes semnificativ pentru tratamentul și remedierea acestor compuși farmaceutici și nu numai precum antibiotice, contraceptive, perturbatoare endocrine, pesticide, hormoni, produse farmaceutice și coloranți poluanți sintetici, în principal din cauza faptului că aceste substanțe pot provoca tulburări nervoase, hormonale și reproductive, tulburări ce pot avea rezultate grave asupra sănătății umane cât și a mediului înconjurător (Bilal et al., 2018a; Hernandez-Vargas et al., 2018; Ullah et al., 2018). Aceste substanțe chimice sintetice prezintă o activitate citotoxică și pot provoca obezitate, diabet, tulburări cardiovasculare și reproductive sau chiar pot duce la alte tulburări precum cancerul. Prin deversarea efluenților din apele uzate comunale care conțin acești contaminanți emergenți (produse farmaceutice, coloranți din hârtie sau textile, agricultură sau industrii pentru uz casnic), această acțiune conduce spre o poluare gravă a mediului (Bilal et al., 2018b; Bilal et al., 2019; Enachi et al., 2019).

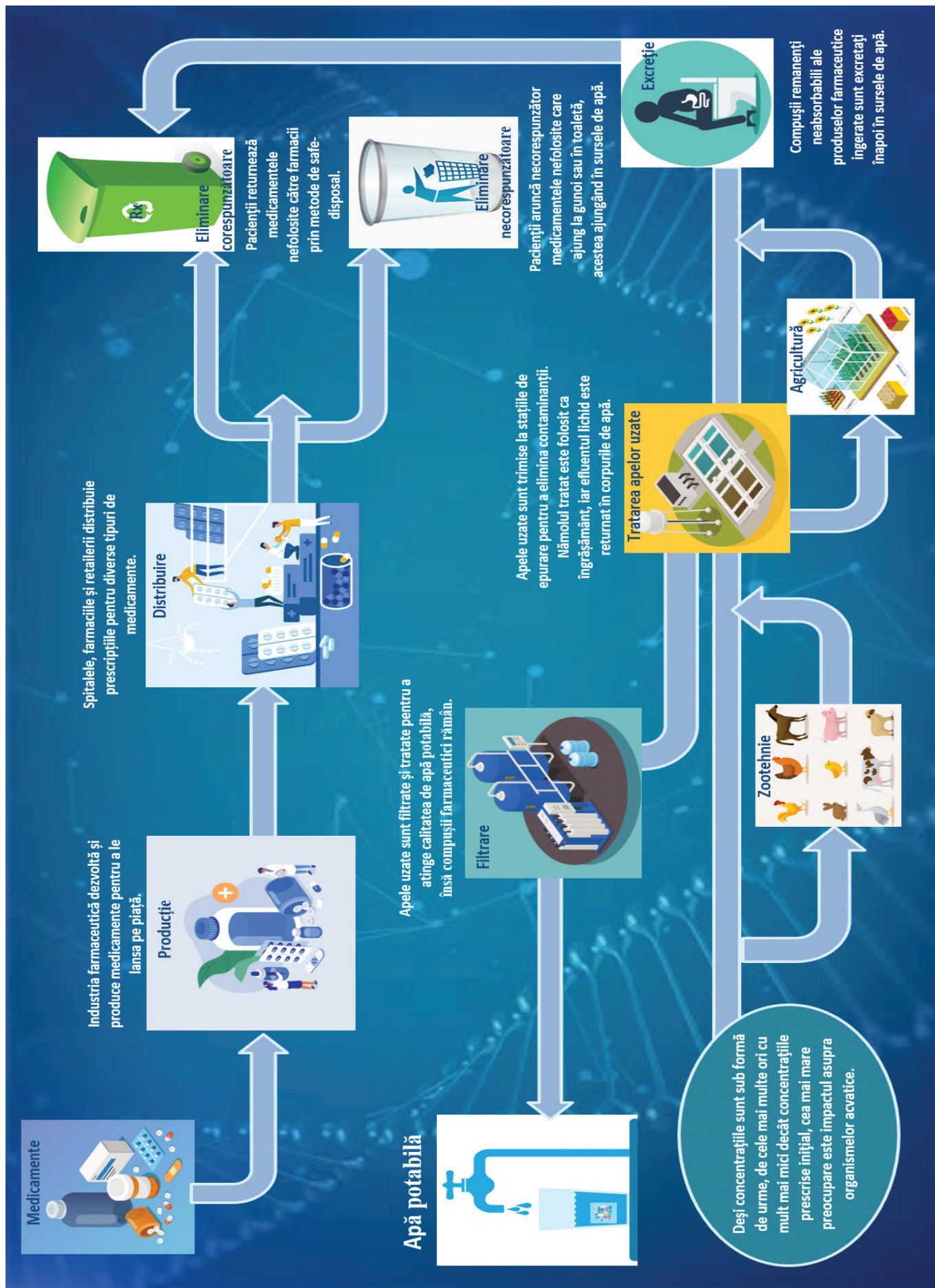


Figura 4.2. Surse de poluare a mediului cu compuși farmaceutici

Numeroase rapoarte științifice au arătat că există un număr variabil de surse și căi pentru apariția contaminanților emergenți, iar în ultimii ani au fost efectuate aceste cercetări intensive pentru a descoperi efectele lor asupra mediului (Rasheed et al., 2018a). Deoarece fiecare zonă are propriile sale interacțiuni topografice, climatice și de mediu, ele prezintă un tip specific de contaminanți în acea regiune.

Producția de contaminanți și impactul acestora asupra mediului depinde în totalitate de utilizarea și eliminarea acestora (Figura 4.2). În mod predominant, acești contaminanți sunt eliberați în mediul înconjurător prin diverse mijloace precum stațiile de tratare a apelor uzate, tratamente ale solului, deșeurile unui centru medical, materii prime slab tratate care provin din zootehnie, etc. Stațiile de tratare ale apelor uzate sunt, de asemenea, o sursă de contaminare cu compuși farmaceutici, deoarece sunt concepute pentru a elimina compușii cu azot, carbon și fosfor, compuși ce sunt ușor biodegradabili prezenți în apele uzate (Bilal et al., 2019; Enachi et al., 2019).

4.2. REGLEMENTAREA ȘI LEGISLAȚIA UE PRIVIND CONTAMINANȚII EMERGENȚI (PRODUSE FARMACEUTICE, PERTURBATORI ENDOCRINI)

Printre acești contaminanți emergenți, un număr mare de compuși farmaceutici, cum ar fi antibioticele, contraceptive, perturbatorii endocrini, pot fi găsiți în ecosistemele acvatice. Deși prezența acestor substanțe în mediu a fost studiată pe larg, efectele pe termen lung asupra oamenilor și în special asupra ecosistemelor sunt încă necunoscute.

Acești compuși nu sunt încă incluși în lista substanțelor prioritare, dar au fost adăugați în

prima listă de observație (care a devenit disponibilă în septembrie 2014), pentru a obține informațiile necesare privind poluanții care, din cauza toxicității lor, ar putea fi potrivite pentru prioritizare, dar pentru care lipsesc informațiile necesare în Europa. Monitorizarea ar trebui efectuată cel puțin o dată pe an, astfel încât o cerință a Comisiei UE trebuie să dezvolte o abordare strategică pentru poluarea apei cu produse farmaceutice (Directiva 2013/39/UE). Directiva UE 2013/39/UE stabilește standardele de calitate ale mediului (EQS) pentru o listă de 45 de substanțe de interes prioritar (antibioticele fiind excluse) în apele de suprafață și biote în întreaga UE din cauza utilizării lor pe scară largă și a concentrațiilor lor ridicate în râuri, lacuri, apele de tranziție și de coastă (CE, 2013).

În plus, din perspectiva Agenției Europene de Mediu (AEM), sunt necesare mai multe date de monitorizare pentru a defini în continuare produsele farmaceutice drept poluanți emergenți, care în prezent nu sunt incluși în programele de monitorizare de rutină la nivelul Uniunii Europene (Chițescu et al., 2015).

În ultimii ani, Comisia Europeană a promovat și a sprijinit din ce în ce mai multe directive, proiecte, acțiuni și inițiative de atenuare a rezistenței antimicrobiene pe scară largă, incluzând aici supravegherea consumului de antibiotice și cercetarea privind contaminarea mediului prin aceste medicamente în Europa (CE, 2011; CDC, 2015; ECDC, 2015a; EFSA, 2015; EMA, 2015a; EC, 2015b,c). În special, monitorizarea substanțelor prioritare enumerate în anexa X la Directiva-cadru privind apa (DCA, 2000/60/CE) este de o preocupare majoră (CE, 2000, 2008). Multe dintre aceste substanțe pot provoca dereglări la nivelul sistemului endocrin atât la animalele sălbatice, cât și la oameni și sunt cunoscute sub numele de perturbatori endocrini (anexa VIII-grupa 4) (CE, 2000).

Comisia Europeană consideră calitatea apei ca fiind una dintre principalele priorități

pentru păstrarea sustenabilității mediului, a echilibrului ecologic și a sănătății și bunăstării umane. În consecință, au fost puse în aplicare diferite reglementări pentru a minimiza impactul negativ al producției și prezenței lor în mediul acvatic. Cu toate acestea, legislația actuală a UE pentru o apă de bună calitate nu acoperă o gamă largă de contaminanți emergenți, incluzând aici antibioticele, din cauza lipsei de cunoștințe cu privire la toxicitatea și apariția lor în mediu. Decizia recentă 2015/495 a stabilit o listă de supraveghere a substanțelor care pot prezenta un risc semnificativ pentru mediul acvatic din UE, dar datele disponibile sunt insuficiente pentru a concluziona riscul real. Astfel, în toate țările, inclusiv în România, unde acest tip de programe de monitorizare nu există, trebuie introduse noi directive și reglementări la nivel instituțional pentru a supraveghea prezența produselor farmaceutice și a altor contaminanți emergenți în mediul acvatic.

4.3. ANTIBIOTICE

Antibiotice în mediul acvatic

Descoperirea antibioticelor este considerată una dintre cele mai semnificative realizări științifice din secolul al XX-lea, revoluționând atât medicina umană, cât și cea veterinară. Antibioticele sunt compuși naturali, de sinteză și de semisinteză care posedă activități antimicrobiene (Catteau et al., 2018; Szymańska et al., 2019; Kumar et al., 2019).

Antibioticele reprezintă probabil cea mai de succes familie de medicamente (Figura 4.3) care sunt utilizate pentru tratarea infecțiilor microbiene la oameni și animale cu acțiune specifică. Era antibioticelor a început cu Alexander Fleming în 1928, care a descoperit accidental penicilina. De la această descoperire științifică, multe antibiotice au fost sintetizate pentru sănătatea umană, a plantelor și a animalelor (Carvalho & Santos, 2016; Enachi et al., 2019).

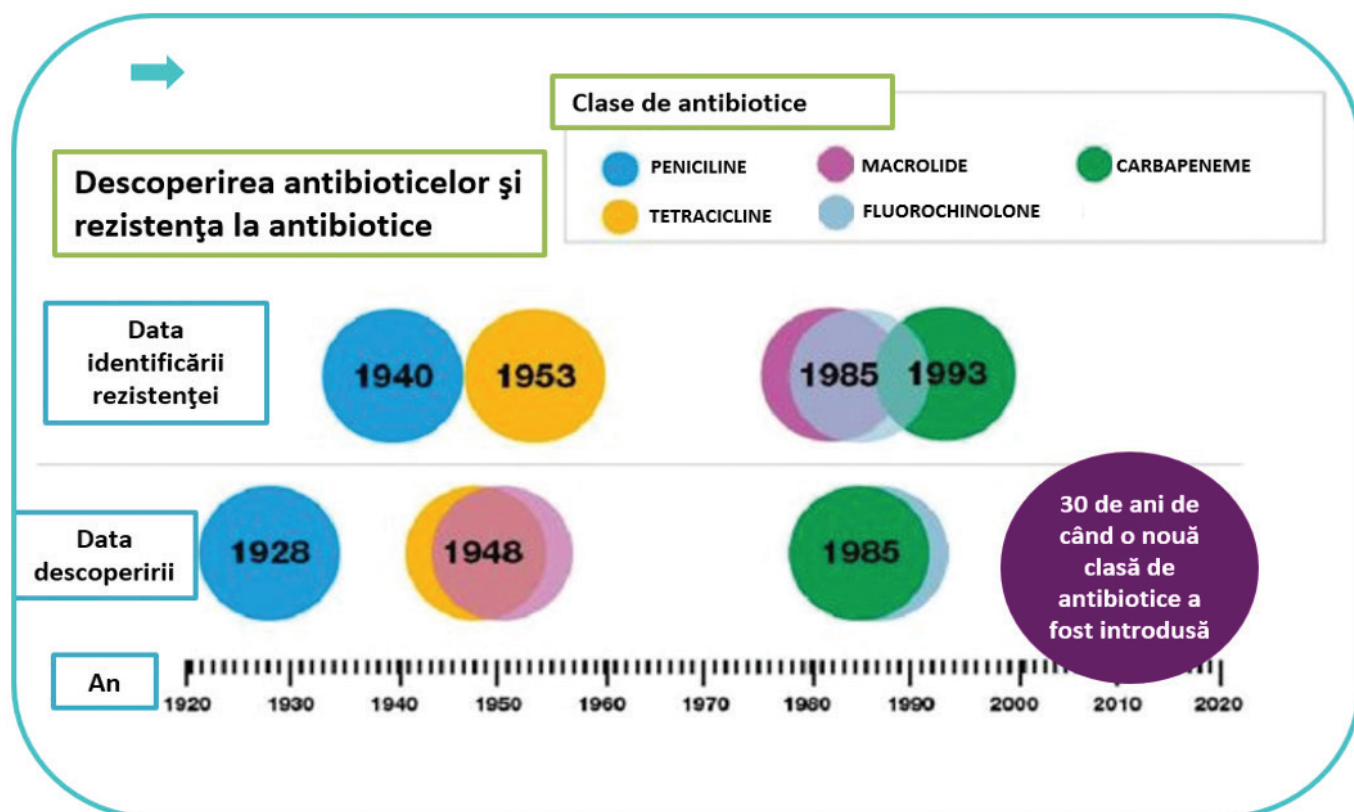


Figura 4.3. Descoperirea antibioticelor și rezistența la antibiotice

Cu toate acestea, antibioticele sunt recunoscute ca o clasă emergentă de contaminanți ai mediului, deoarece acești compuși au fost administrați masiv la oameni și animale. Persistența lor în mediu este explicată de un ciclu vicios, complex de biotransformare și bioacumulare.

Difuzarea antibioticelor în mediu, în special în sistemele naturale de apă, contribuie la dezvoltarea și diseminarea globală a uneia dintre cele mai presante probleme ale timpului nostru, și anume rezistența la antibiotice.

Acest fenomen reprezintă una dintre cele mai importante provocări ale sectorului Sănătate din secolul XXI. Astfel, în ultimii ani, multe studii științifice urmăresc apariția, soarta și efectele antibioticelor în mediile acvatice europene. Cu toate acestea, ecotoxicitatea lor potențială asupra organismelor acvatice și, implicit a oamenilor, rămâne încă necunoscută.

În ceea ce privește directivele europene, antibioticele nu sunt reglementate de standardele europene actuale privind calitatea apei (Carvalho & Santos, 2016).

Dintre produsele farmaceutice, antibioticele au primit o atenție specială începând cu sfârșitul anilor 90, din cauza corelațiilor dintre producerea lor și expansiunea rapidă a fenomenelor de rezistență cu consumul și apariția lor în mediu (Kumar et al., 2019; Enachi et al., 2019).

Principalele surse de pătrundere în mediu acestor contaminanți emergenți și a metaboliților secundari ai acestora sunt apele uzate municipale, industriale și provenite din agricultură.

De asemenea, rata consumului a atins cantități substanțiale (30% până la 90%) de antibiotice care sunt administrate oamenilor și animalelor, astfel încât acești compuși sunt excretați în fluxul de deșeuri prin urină și fecale (majoritatea nemetabolizate). O altă problemă este că tratarea convențională a apelor uzate și a apei reciclate este doar par-

țial eficientă în îndepărtarea sau degradarea antibioticelor.

Utilizarea accelerată și continuă a tuturor compușilor antimicrobieni și antibacterieni cunoscuți, în beneficiul oamenilor, animalelor și agriculturii a dus încet, dar sigur la eliberarea lor regulată și repetată în mediu și ecosistemul acvatic natural.

Antibioticele ca compuși chimici nu numai că afectează populația vizată, ci influențează și populația nevizată cu impact de toxicitate mare. Principala problemă a tuturor antibioticelor și a altor compuși farmaceutici antimicrobieni constă în dezvoltarea rezistenței la toate organismele. Rezistența la antibiotice a populației bacteriene reprezintă unul dintre cele mai grave riscuri pentru sănătatea acestora (Szymańska et al., 2019; Kumar et al., 2019).

Potențialul de apariție al antibioticelor în apa de suprafață poate perturba ciclurile bacteriene, mecanismele sau procesele care sunt esențiale pentru menținerea echilibrului acvatic sau a echilibrului agricol al solului și al producției în zootehnie.

Efluenții stațiilor pilot de tratare a apelor reziduale, scurgerile de canalizare și deșeurile agricole sunt unii dintre factorii secundari, deoarece acești compuși nu sunt în întregime metabolizați și pot evita procesul de degradare.

Cu toate acestea, în funcție de mobilitatea și persistența lor în mediul acvatic, antibioticele și subprodusele lor pot ajunge în apele de suprafață și în apele subterane și, eventual, în apele potabile.

Conform matricilor pentru calcularea prezenței în mediul acvatic, studiile au arătat că diversele concentrații detectate variază în general de la ng L^{-1} la $\mu\text{g L}^{-1}$. Evaluarea nivelurilor de contaminare ale mediului cu antibiotice este fundamentală, astfel încât situația actuală privind căile, transportul, soarta și efectele lor asupra mediului să fie determinată și îmbunătățită (Szymańska et al., 2019; Kumar et al., 2019; Enachi et al., 2019).

CLASE DIFERITE DE ANTIBIOTICE

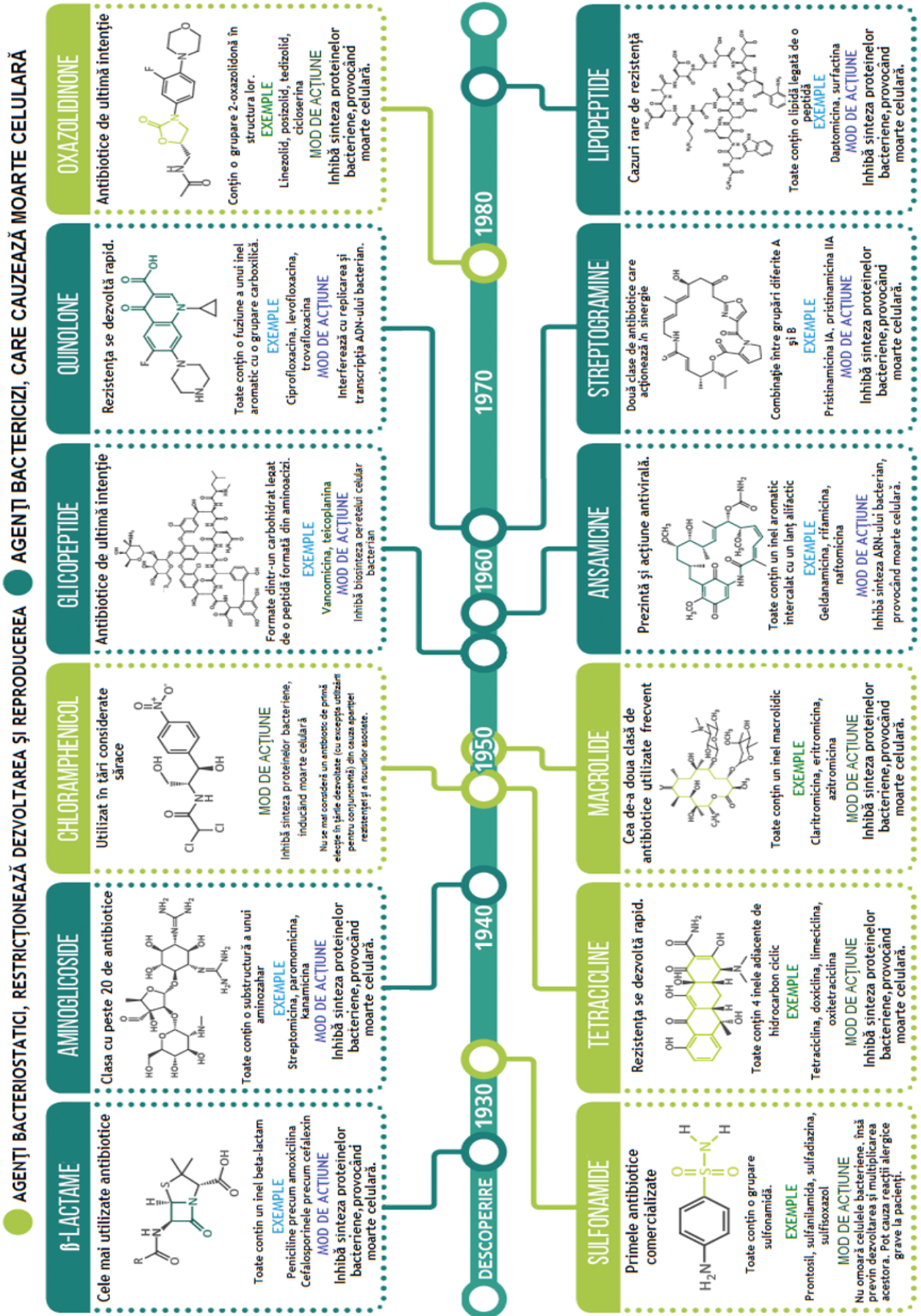


Figura 4.4. Diferite clase de antibiotice

Adaptat după: <https://i0.wp.com/www.compoundchem.com/wp-content/uploads/2014/09/A-Guide-to-Different-Classes-of-Antibiotics-Aug-15.png?fit=1323%2C935>

În literatura de specialitate există o serie de articole axate pe colectarea datelor de specialitate despre sursele, existența și riscurile asociate acestor tipuri de compuși.

Mai mult, unele publicații au evidențiat eficiența eliminării antibioticelor din apele uzate prin diferite procese de tratare.

De asemenea, oamenii de știință au evaluat rolul pe care îl pot juca procesele de tratare a apelor uzate în apariția, transportul și diseminarea rezistenței la antibiotice în mediu (Ebert et al., 2011; Pleiter et al., 2013; Rico et al., 2014; Szymańska et al., 2019; Kumar et al., 2019).

Analiza de mediu pentru determinarea concentrației antibioticelor se concentrează pe prepararea probelor, stabilitatea analitului, degradarea și efectele matricei. Antibioticele și metaboliții (Figura 4.4) lor sunt introduși în mod continuu în mediul natural, astfel încât multe studii au luat în considerare faptul că unele antibiotice cu greutate moleculară mică (<1000 D) s-au dizolvat rapid în corpurile de apă, rezultând astfel persistența și rezistența la antibiotice (de exemplu, beta-lactame, aminoglicozide, lincosamide, macrolide, nitrofurani, amfenicoli, fosfonați, chinolone, fluorochinolone, rifamicine, sulfonamide și tetracicline) și izomerii acestora (Krzeminski et al., 2018).

În plus, deversarea deșeurilor din spitale, clinici veterinare, stații pilot pentru producția de farmaceutice, lactate, excremente de animale din gospodăria, creșterea animalelor, deșeurile municipale, de asemenea, modelează și evidențiază amenințarea pe care o reprezintă poluarea cu antibiotice (Carvalho & Santos, 2016; Kumar et al., 2019; Enachi et al., 2019).

În ceea ce privește utilizarea antibioticelor în agricultură, s-a demonstrat că îmbunătățește creșterea animalelor, apicultura și creșterea peștilor, dar, ca reacție adversă, contaminează și mediul înconjurător prin excreția antibioticului neutilizat și a metaboliților din fecalele animalelor (Kumar et al., 2019).

Prin urmare, reziduurile de antibiotice contaminează indirect resursele solului și de apă. Comparativ cu animalele, la plante, consumul de antibiotice este foarte mic.

Antibioticele sunt frecvent detectate ca și compuși emergenți pe căile navigabile ale punctelor agricole (Toolaram et al., 2016; Carvalho & Santos, 2016; Kumar et al., 2019). Totodată, industria farmaceutică contribuie masiv la concentrația totală de antibiotice care trece prin stațiile de epurare, pe lângă efluenții domestici și industriali.

Eliminarea necorespunzătoare a medicamentelor neutilizate sau expirate, care sunt de obicei evacuate direct în rețeaua de canalizare sau depozitate ca și deșeuri, reziduuri de fabricație sau deversări accidentale în timpul fabricației sau distribuției pot fi, de asemenea, luate în considerare ca și căi semnificative de contaminare (Akici et al., 2018).

Antibiotice - Efecte ecotoxice

Riscul ecologic ridicat pe care antibioticele îl aduc în mediul acvatic a fost considerat o preocupare de o importanță deosebită în întreaga lume. Antibioticele, ca molecule active, sunt folosite în special pentru a lupta împotriva bacteriilor patogene. Cu toate acestea, în mediu, organismele nevizate sunt inevitabil expuse la aceste reziduuri și la metaboliții lor. Primii producători și descompunători, care sunt esențiali pentru un ecosistem durabil, sunt vulnerabili la prezența acestor contaminanți emergenți.

În consecință, antibioticele pot perturba în mediul acvatic multe procese vitale ale ecosistemului. Aceste potențiale efecte ecotoxice sunt dificil de prezis, în special în matricile complexe. Ecotoxicitatea acută sau cronică a antibioticelor a fost evaluată prin mai multe teste standard de ecotoxicitate care au fost făcute la diferite niveluri trofice, organisme, cum ar fi bacterii, alge, nevertebrate și pești.

Grinten et al. (2010) au studiat și comparat sensibilitatea clasei de alge, a bioanalizoarelor cianobacteriene și bacteriene împotriva diferitelor clase de antibiotice. Pentru trei antibiotice, și anume trimetoprim, sulfametoxazol și streptomycină, cianobacteriile au prezentat o rată de vulnerabilitate mai mare în comparație cu algele verzi. Li et al. (2014) au constatat că două chinolone, difloxacină și oxifloxacină, au prezentat un efect toxic mai mare asupra *Vibrio fischeri* dintre cele 21 de antibiotice testate, cu o concentrație inhibitoare de 20% respectiv de 19 și 23 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Ebert et al. (2011) au studiat toxicitatea enrofloxacinii și ciprofloxacinii asupra diferitelor organisme acvatice fotoautotrofe și au descoperit că, deși enrofloxacină prezintă o toxicitate mai mare pentru algele verzi, ciprofloxacină a prezentat o toxicitate mai mare pentru cianobacterii. Rico et al. (2014) au sugerat, de asemenea, că acele concentrații relevante din punct de vedere al mediului înconjurător de enrofloxacină nu au avut ca rezultat efecte toxice directe sau indirecte asupra ecologiei tropicale eutrofică a ecosistemelor de apă dulce. În general vorbind, studiile de toxicitate ale antibioticelor în mediul acvatic iau în considerare numai fiecare compus farmaceutic individual. Deoarece antibioticele apar în mediu ca un amestec cu alți contaminanți antropici, efectele aditive sau sinergice ar trebui luate, de asemenea, în considerare și în evaluările riscurilor de mediu (Carvalho & Santos, 2016).

Pleiter et al. (2013) au evaluat efectele toxicologice ale diferitelor tipuri de antibiotice asupra algelor verzi, atât izolat, cât și în diferite combinații. Rezultatele obținute au sugerat că eritromicina, în special, a fost foarte toxică pentru algele verzi. În principal, efectele toxice ale antibioticelor au fost sporite atunci când au fost combinate cu alte antibiotice. Subprodusele antibioticelor pot avea, de asemenea, o bioactivitate și o toxicitate mult mai mare, prin faptul că sunt mai stabile și

mobile în mediu decât compușii lor părinți. În plus, acești compuși pot reveni la antibioticele lor părinte, reprezentând un rezervor de contaminanți (Evgenidou et al., 2015).

În ciuda progreselor științifice recente pe această temă, sunt disponibile doar câteva informații despre determinarea și importanța gradului de contaminare al mediului în ceea ce privește riscul general (Toolaram et al., 2016; Carvalho & Santos, 2016; Kumar et al., 2019). În general, studiile întreprinse au demonstrat că orice tip de antibiotic poate fi toxic pentru organismele nevizate sau poate prezenta un risc ecologic potențial pentru organismele acvatice, având în vedere gradul de utilizare din zilele noastre.

Cu toate acestea, foarte puține publicații referitoare la ecotoxicitatea antibioticelor și a produselor secundare ale acestora sunt disponibile pentru a evalua și a înțelege scenariul real (Szymańska et al., 2019).

Prin urmare, sunt necesare studii suplimentare în acest domeniu, având în vedere rata ridicată de apariție a contaminanților în mediu.

O altă cale de intrare a antibioticelor în ecosistemele acvatice este amestecarea deșeurilor de canalizare, care de obicei sunt incomplet degradate, iar stațiile de epurare ale apelor uzate elimină cel mai puțin efluenții. De asemenea, rata ridicată a consumului influențează, apariția antibioticelor din aplicațiile veterinare, acvacultură și gunoierul de grajd sau prin eliminarea necorespunzătoare a antibioticelor neutilizate. Din acel moment, se poate prezice cum se vor comporta microorganismele dintr-un anumit ecosistem, ceea ce va duce la un efect antagonist asupra altor microorganisme. Una dintre cele mai importante probleme ale industriei farmaceutice și medicale este rezistența la antibiotice (Figura 4.5). Acest fenomen se răspândește la viteza luminii la nivel global prin rata de consum ridicată. Fluorochinolonele detectate în efluenții din spital (până la 87.000 ng/L) au prezentat o genotoxicitate ridicată și riscuri pen-

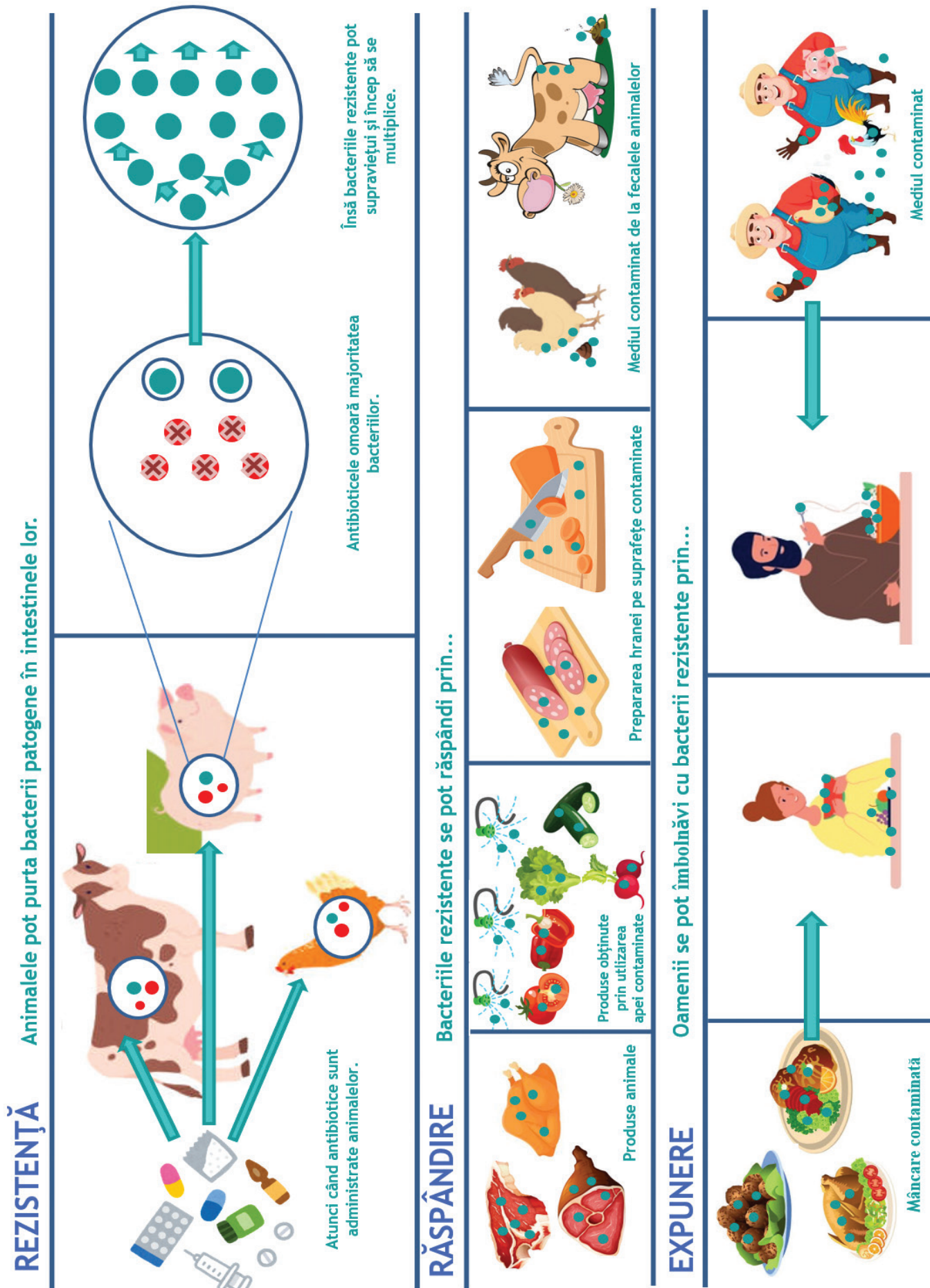


Figura 4.5. Formarea rezistenței la antibiotice

tru sănătatea umană la utilizarea pe termen lung. Fluorochinolonele se găsesc frecvent în deșeurile spitalicești și sunt mai toxice pentru procariote decât eucariote, aici incluzând algele de apă dulce, pești și zooplancton și, în cele din urmă, prin procesul de bioacumulare, ajung la oameni. Studiile recente au raportat, de asemenea, că antibioticele sunt preluate și de legumele irigate cu apă contaminată.

La nivel internațional, datele privind consumul de antibiotice sunt insuficiente din cauza variației prescripției și administrării acestora. Toate datele disponibile privind utilizarea antibioticelor sunt estimate și aproximative, deoarece multe țări nu declară datele de monitorizare și, prin urmare, datele reale rămân nedezvăluite (Carvalho & Santos, 2016; Kumar et al., 2019; Szymańska et al., 2019; Enachi et al., 2019).

Antibioticele utilizate în industria veterinară cresc mecanismul reticent al tulpinilor bacteriene de a supraviețui sub stresul antibioticului, rezultând astfel evoluția bacteriilor multirezistente (Figura 4.5).

Aceste tulpini de bacterii rezistente sunt, de asemenea, raportate atât în mediul spitalicesc, dar și în ecosistemele acvatice, precum și în sol. Studiile asupra *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* și *Lactobacillus* au arătat în mod clar că compoziția lor structurală și activitățile metabolice sunt grav afectate de antibiotice, deoarece acești compuși joacă un rol crucial în modificările ecologice, în special pe nișa unde au loc schimburile genetice. Din toate clasele de antibiotice, sulfonamidele și fluoroquinolonele sunt cele mai persistente în mediu, urmate de macrolide, în timp ce aminoglicozidele și β -lactamele sunt cele mai puțin persistente. Tetraciclinele pot persista, de asemenea, și pentru o perioadă relativ lungă, în detrimentul mobilității lor (Szymańska et al., 2019; Kumar et al., 2019).

Datele fundamentale existente despre soarta și efectele antibioticelor și rezis-

tenței la antibiotice în mediu sunt cruciale pentru a efectua studii adecvate de evaluare a riscurilor. Viitoarele cercetări vor fi întreprinse ar trebui să fie concepute pentru a contribui la îmbunătățirea legislației europene pentru a opri rezistența la antibiotice, precum și pentru a evidenția dezvoltarea practicilor raționale de gestionare a apei și a apelor uzate pentru protecția oamenilor și a ecosistemelor.

4.4. CONTRACEPTIVE

Contraceptive în mediul acvatic

Contraceptivele orale sunt o clasă de perturbatori endocrini care sunt, de obicei, comercializate pe piață ca o combinație de hormoni steroizi diferiți.

În principal, contracepția se realizează prin inhibarea ovulației prin activitatea combinată a două componente principale: estrogen și progesteron. Pentru a asigura o accesibilitate mult mai mare la metodele contraceptive, progresele recente, în ceea ce privește contraceptivele orale, s-au concentrat pe dezvoltarea de noi formulări care prezintă mai puține efecte secundare și beneficii suplimentare, pe lângă contracepția mult dorită (Lecomte et al., 2017).

Recent, prezența acestui tip de substanțe chimice cu activități hormonale ce pot apărea în mediu a devenit o preocupare majoră la nivel mondial. În mai multe studii bine documentate, fenomenul de reproducere al faunei sălbatice acvatice a fost afectat negativ de acești contaminanți emergenți. Hormonii steroizi, un astfel de tip de contaminanți emergenți, sunt o parte majoră a contraceptivelor orale comercializate care au potențialul de a exercita efecte estrogenice chiar și la un nivel scăzut de ng L^{-1} .

Cea mai frecvent utilizată formă de contracepție hormonală este combinația de hor-

moni steroizi (Figura 4.6). Ca urmare a ratei ridicate a consumului în rândul femeilor, hormonii steroizi și metaboliții lor sunt excretați constant în mediul acvatic, continuând să se bioacumuleze în mediu.

În ultimii 50 de ani, utilizarea acestui tip de poluanți chimici și eliberarea lor în mediu a crescut considerabil, ducând la îngrijorări majore cu privire la impactul lor asupra vieții acvatice și asupra oamenilor (Jarošová et al., 2015). Aceste preocupări de mediu au fost recunoscute în unanimitate de multe instituții și autorități, deși dezvoltarea industrială, agrochimia și consumul de substanțe chimice produc o cantitate tot mai mare de poluanți chimici în mediu, în special în apele de suprafață. Din cauza ratei reduse de biodegradabilitate generală a mai multor dintre aceste molecule, există o acumulare de substanțe contraceptive orale în mediul acvatic (Lecomte et al., 2017).

Prin urmare, prezența acestor molecule este un risc atât pentru sănătatea umană, cât și pentru flora și fauna sălbatică. Dintre ace-

te sute de molecule create și sintetizate de om, cele cu activități de perturbare endocrină atrag atenția deosebită din cauza activităților lor perturbatoare care se pot manifesta chiar și la doze foarte mici, mai multe procese endocrine fiind strict legate de apariția unor afecțiuni sau a unor malformații genetice. Pe lângă hormonii naturali actuali, incluzând aici 1,7-estradiol, estronă și estriol, a fost detectată și prezența diferitelor produse farmaceutice precum etinilestradiol, drospirenonă și levonorgestrel, acești contaminanți emergenți fiind în concentrații de până la ng L⁻¹ în apele de suprafață (Adeel et al., 2017; Enachi et al., 2019).

În prezent, din ce în ce mai multe probleme sunt ridicate din cauza dovezilor științifice din ce în ce mai concludente ale activității perturbatoare care afectează glandele endocrine. Lipsa unei definiții juridice și a unor reglementări sunt, de asemenea, incriminate pentru prezența lor semnificativă în mediu (Lecomte et al., 2017; Ohore et al., 2019).

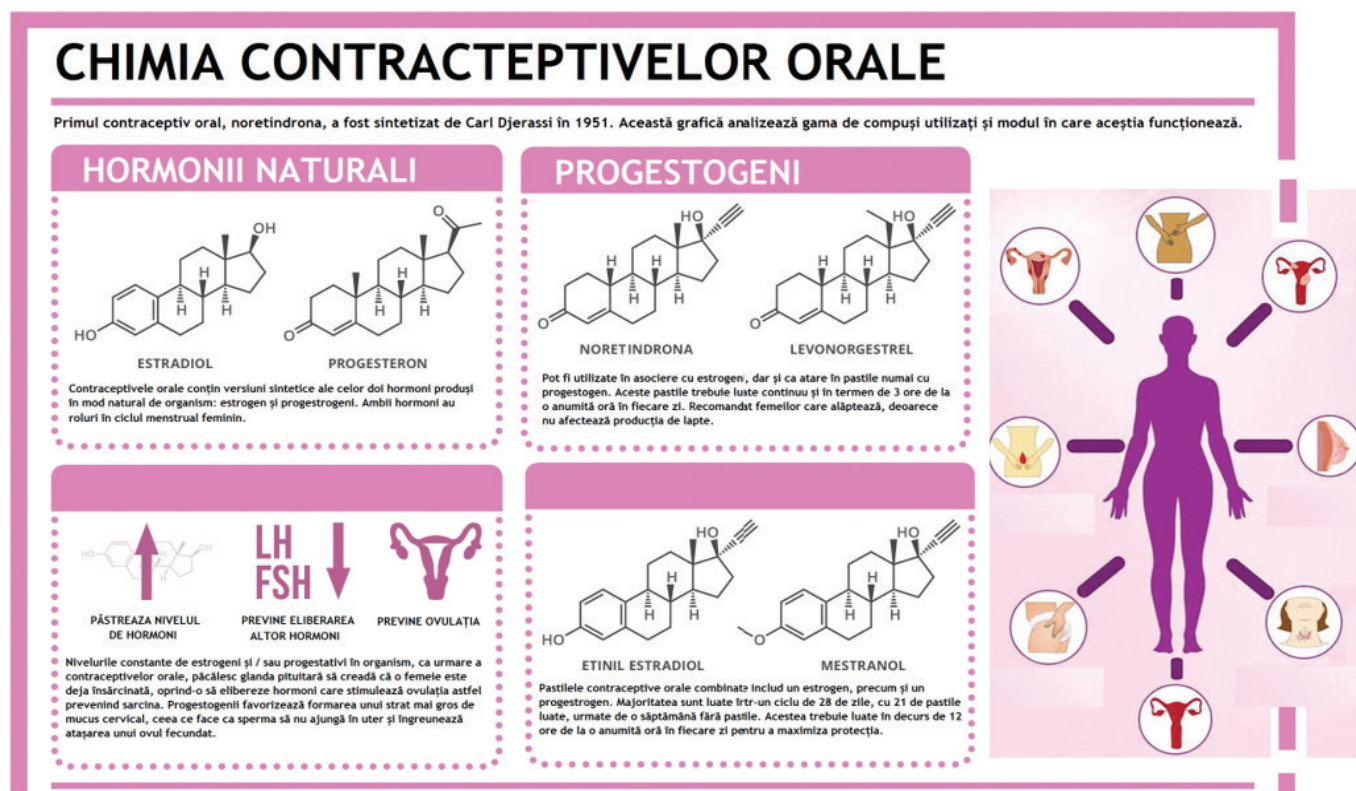


Figura 4.6. Contraceptivele orale și efectele acestora asupra sănătății umane
Adaptat după: <https://www.compoundchem.com/2015/02/03/oral-contraceptives/>

Contraceptive - Efecte ecotoxicologice

Prezența estrogenilor precum 1,7-estradiol, estronă, estriol, etinilestradiol, drospirenol și levonorgestrel a fost identificată în mediul acvatic tot mai des în ultimii ani. Principalele surse ale acestei contaminări este reprezentată de populația umană, care deversează dejecții în jur de 30.000 kg/an, și animalele, 83.000 kg/an (Adeel et al., 2017; Lecomte et al., 2017). Poate că cea mai importantă preocupare cu privire la acești compuși contraceptivi este diversitatea foarte mare a animalelor care generează cantități mari de gunoi de grajd și dejecții, acestea fiind considerate o sursă semnificativă de hormoni ce ajung în sol și în apele de suprafață. În plus față de steroizii sexuali endogeni care se găsesc în gunoiul de grajd al animalelor (proces natural de excreție fiziologică), peste 90% din bovinele din întreaga lume primesc tratament cu hormoni steroizi (prin implant sau prin hrănire) pentru a le accelera creșterea (CEAH - SUA, 2013).

Majoritatea gunoiului de grajd contaminat este folosit ca îngrășământ, fără nici un alt tratament suplimentar de decontaminare, iar prin irigarea suprafețelor agricole, contaminanții sunt transportați către ecosistemele acvatice (Gall et al., 2014).

Prezența 1,7-estradiolului, estronei, androstendionei, testosteronului și progesteronului (variind de la 5 la 250 ng L⁻¹) a fost detectată în apele de suprafețe din apropierea locurilor de hrănire ale animalelor în timpul unei simulări de precipitații după ce animalele au fost scoase din hambare (Mansell et al., 2011).

În mod similar, numeroase studii au evidențiat prezența acestor estrogeni naturali și sintetici (estronă, 1,7-estradiol și estriol),

androgeni (trenbolon și receptori agoniști de androgeni de până la 50 de ori mai puternici decât testosteronul) și progestageni (progesteron și melengestrol) în râurile situate în apropierea fermelor de animale (Lecomte et al., 2017). Cu toate acestea, trebuie remarcat faptul că un studiu extrem de complex întreprins de mai mulți cercetători din acest domeniu a legat nivelurile de estrogen urinar, inclusiv metabolizii acestora, de un risc mai mare de apariție a cancerului la sân la femeile aflate în postmenopauză (Plotan et al., 2014; Lecomte et al., 2017; Enachi et al., 2019).

În mod surprinzător, chiar dacă supraexpunerea la estrogenii endogeni a fost sugerată a fi un factor de risc semnificativ, nu a fost demonstrată o legătură definitivă între estrogenii naturali prezenți în mediu și cancerul de sân sau alte tipuri de cancer. În majoritatea pastilelor contraceptive, hormonii sintetici majori sunt progestinii, cu o prezență în mediu estimată undeva în jurul valorii de 700 kg/an. Această eliberare în mediu poate conduce la supraexpunerea populațiilor acvatice la estrogeni iar prin procesul de bioacumulare a populației umane. În același timp, ratele de eliberare în mediu ale progestinelor nu sunt foarte bine documentate (Gall et al., 2014; Mansell et al., 2011; Plotan et al., 2014; Jarošová et al., 2015). În plus față de originea estrogenilor antropici și naturali care provin din specii de vertebrate, o altă serie de compuși naturali emergenți care se găsesc în apă sunt fitoestrogenii și mycoestrogenii.

Toate rezultatele obținute și raportate de studiile științifice întreprinse subliniază importanța deversărilor și a poluării masive cu hormoni, astfel, conturându-se necesitatea de a înțelege cât mai bine căile lor metabolice și ecotoxicologice.

4.5. DISRUPTORI ENDOCRINI

Disruptori endocrini în mediu

Disruptorii endocrini reprezintă una dintre principalele clase de contaminanți farmaceutici emergenți, cei mai importanți fiind bisfenolii. Aceste substanțe sunt compuși sintetici organici fenolici, care sunt folosiți ca aditivi sau monomeri în producția de materiale plastice din policarbonat și rășini epoxidice.

Bisfenolul A este un compus toxic care afectează reproducerea, dezvoltarea normală a organismelor acționând sistemic, adesea clasificat ca un compus care perturbă sistemul endocrin. Absorbția bisfenolilor în corpul uman poate duce la dezvoltarea unor tulburări metabolice, cum ar fi neurodezvoltarea sexuală specifică, toxicitatea imună, neurotoxicitatea și interferența căii celulare (Sabanayagam et al., 2013; Rezg et al., 2014; Hines et al., 2017; Toner et al., 2018; Ohore & Zhang, 2019).

Prin urmare, prezența acestor compuși și a analogilor lor în mediu a atras recent atenția globală. Ca reprezentant, bisfenolul A (BFA) este un compus organic sintetic aparținând derivaților difenilmetanului și bisfenolilor, fiind de obicei folosit ca aditiv în producția de materiale plastice din policarbonat și rășini epoxidice. În ceea ce privește predominanța sa, dintre acești compuși, bisfenolul A este cel mai răspândit bisfenol (Sabanayagam et al., 2013; Rezg et al., 2014; Hines et al., 2017; Toner et al., 2018; Ohore & Zhang, 2019; Enachi et al., 2019).

Evaluarea expunerii la bisfenol A (Figura 4.7) a arătat că oamenii sunt direct sau indirect expuși la mai multe concentrații de BFA (0,27-10,6 ng/mL), cu un aport global estimat de 30,76 ng/kg per greutate corporală pe zi prin inhalare de praf, expunere cutanată și ingestie. Mai mult, s-a raportat că principala cale este prin ingestie, reprezentând aproximativ 90% dincazurile raportate.

Cantitatea mare de bisfenol A și analogul său sunt utilizate la producerea materialelor plastice și, prin urmare, metodele necorespunzătoare de reciclare vor avea ca rezultat o cantitate enormă de compuși care afectează sistemul endocrin, în special ecosistemul acvatic (Rezg et al., 2014).

Conform studiilor întreprinse, acest produs ar fi biodegradat sub acțiunea luminii solare în microbucăți, cum ar fi microplastic, astfel ulterior, bisfenolul A din aceste microplastice poate fi ușor ingerat și bioacumulat de-a lungul lanțului alimentar prin difuzie.

Datele de biomonitorizare relevă faptul că tone de produse industriale care conțin bisfenol sunt prezente permanent în mediu și, prin urmare, aceste substanțe devin și mai dăunătoare (Sabanayagam et al., 2013; Rezg et al., 2014; Hines et al., 2017; Toner et al., 2018; Ohore & Zhang, 2019).

Utilizarea bisfenolului A în producția industrială de sticle de plastic, conserve, hârtii termice etc. și prezența lor în mediu au ridicat întrebări importante cu privire la impactul potențial al acestuia asupra mediului, în special asupra sănătății copiilor și care este concentrația exactă a acestui compus de la care ar putea fi considerat un poluant emergent dăunător pentru mediu.

Mai multe studii și sondaje au raportat că evaluarea dozelor mici în întreaga lume a condus la concluzia că nu există informații suficiente pentru a evalua riscurile pentru sănătatea umană din cauza inconsecvenței rezultatelor (Ohore & Zhang, 2019; Enachi et al., 2019).

Disruptori endocrini - Efecte ecotoxice

Au fost publicate mai multe rapoarte, studii care descriu efectele expunerii la bisfenoli pe subiecți umani și pe animale. În general, bisfenolii acționează la nivel hormonal prin perturbarea echilibrului hormonal și induce-

rea mai multor efecte estrogenice prin legarea de receptorii asociați estrogenului (Ohore et al., 2019).

Efectele care pot apărea ca urmare a expunerii la disruptorii sau perturbatorii endocrini au fost raportate ca fiind numeroase anomalii legate de perturbări hormonale (Sabanayagam et al., 2013; Rezg et al., 2014; Hines et al., 2017; Toner et al., 2018; Ohore & Zhang, 2019). S-a raportat, de asemenea, că bisfenolul A declanșează un debut precoce al dezvoltării caracteristicilor sexuale și obezității. La bărbați, expunerea la o concentrație serică ridicată de bisfenol A (între 1,53-2,22 $\mu\text{g/L}$), în special în timpul etapei de dezvoltare, a dus la feminizarea fetoșilor, la atrofie testiculară și a epididimului, la modificarea parametrilor spermei și la scăderea nivelului de testosteron.

Mecanismul cel mai probabil este acela în care bisfenolii induc un proces de fosforilare care contribuie la activarea expresiei citocromului genelor P450 (gena CYP) atât la nivelul ARNm cât și la nivelul proteinelor, ceea ce duce în cele din urmă la modificarea raportului normal al hormonilor sexuali (Toner et al., 2018; Ohore & Zhang, 2019). Multe studii au arătat că efectele generate de bisfenoli, în special tipul A, asupra sistemului reproductiv masculin s-au dovedit a fi mai pronunțate în perioada fetală.

La femei, concentrația serică ridicată de bisfenol A (1,53-2,22 $\mu\text{g/L}$) induce modificări ale concentrației de estradiol, ceea ce duce la o distorsiune a echilibrului hormonal și la anomalii metabolice, cum ar fi pubertatea timpurie, dereglări menstruale, probabilitate crescută de endometrioză, insuficiență mai mare a implantării și tratament ineficient pentru infertilitate.

În cele din urmă, efectele paradigmei bisfenolului A asupra hormonului estrogen ridică mult mai multe probleme decât concentrația echimolară de estrogen. Legarea bisfenolului A de receptorii pentru estrogen a dus

la efecte negative multiple cauzate de perturbarea echilibrului hormonal (Hines et al., 2017; Ohore & Zhang, 2019). Mai multe rapoarte au arătat, de asemenea, că bisfenolul A conduce și la afectarea sistemului imunitar printr-o abordare multi-țintită. Acest compus poate provoca, de asemenea, modificarea transcrierii genelor și astfel conduce la diferențe de sex în timpul perioadelor neonatale, implicând scăderea expresiei genelor sexuale.

Acest impact a avut un rol imunomodulator și a dus la un răspuns auto-inflamator și la dereglarea inhibării imunoglobulinei Tregs (Sabanayagam et al., 2013; Rezg et al., 2014; Hines et al., 2017; Toner et al., 2018; Ohore & Zhang, 2019). S-a sugerat că acest compus emergent se leagă de receptorul γ de care se leagă estrogenul, care se exprimă puternic în dezvoltarea creierului mamiferelor și promovează diferențierea și maturizarea creierului fetal.

Un studiu efectuat pentru a determina efectul analogului bisfenolului A asupra funcției adrenocorticale, H295R, care este o celulă adrenocorticală producătoare de steroizi care răspunde la angiotensină II, a fost utilizat ca model de comparare a toxicității. Rezultatele au arătat mai multe efecte inhibitoare asupra funcției hormonale suprarenale (Ohore & Zhang, 2019).

În plus, expunerea la bisfenol A afectează dezvoltarea axei testiculare tiroidiene și hipotalamice hipofizare prin modularea sintezei hormonale și prin inducție legată de perturbarea endocrină a talamusului și splinei.

Acest proces determină, de asemenea, o schimbare conformațională în capacitatea terțiară de a recruta proteine coactivatoare și în inhibarea activității transcripționale indusă de triiodotironină (T3) (Sabanayagam et al., 2013; Rezg et al., 2014; Hines et al., 2017; Toner et al., 2018; Ohore & Zhang, 2019).

Descoperiri recente au indicat faptul că bisfenolul A a indus un factor crescut de necroză tumorală (TNF α) și modificări conformaționale ale receptorilor asociați estrogenului.

BISPHENOL-A



BPA

$C_{15}H_{16}O_2$

Ce este BISPHENOL-A (BPA) ?

- Bisphenol-A (BPA) este o formă sintetică de estrogen.
- Este un compus utilizat, în general, pentru a întări materialul plastic și materialul pentru peliculele din interiorul recipientelor pentru mâncare și băutură.
- Se poate dizolva cu ușurință în mâncarea și băuturile calde care sunt adăugate fără a fi răcite în aceste recipiente de plastic.
- Astfel, printr-un proces de bioacumulare, acest compus pătrunde în organism prin intermediul acestor tipuri de recipiente.



BIBEROANE



CONSERVE



DOZE SUC



CASEROLE PLASTIC



PET-uri

SURSE DE BPA(BISPHENOL-A)



JUCĂRII



USTENSILE



ROBOT PROCESARE



FARFURII PLASTIC



RECIPIENTE PLASTIC

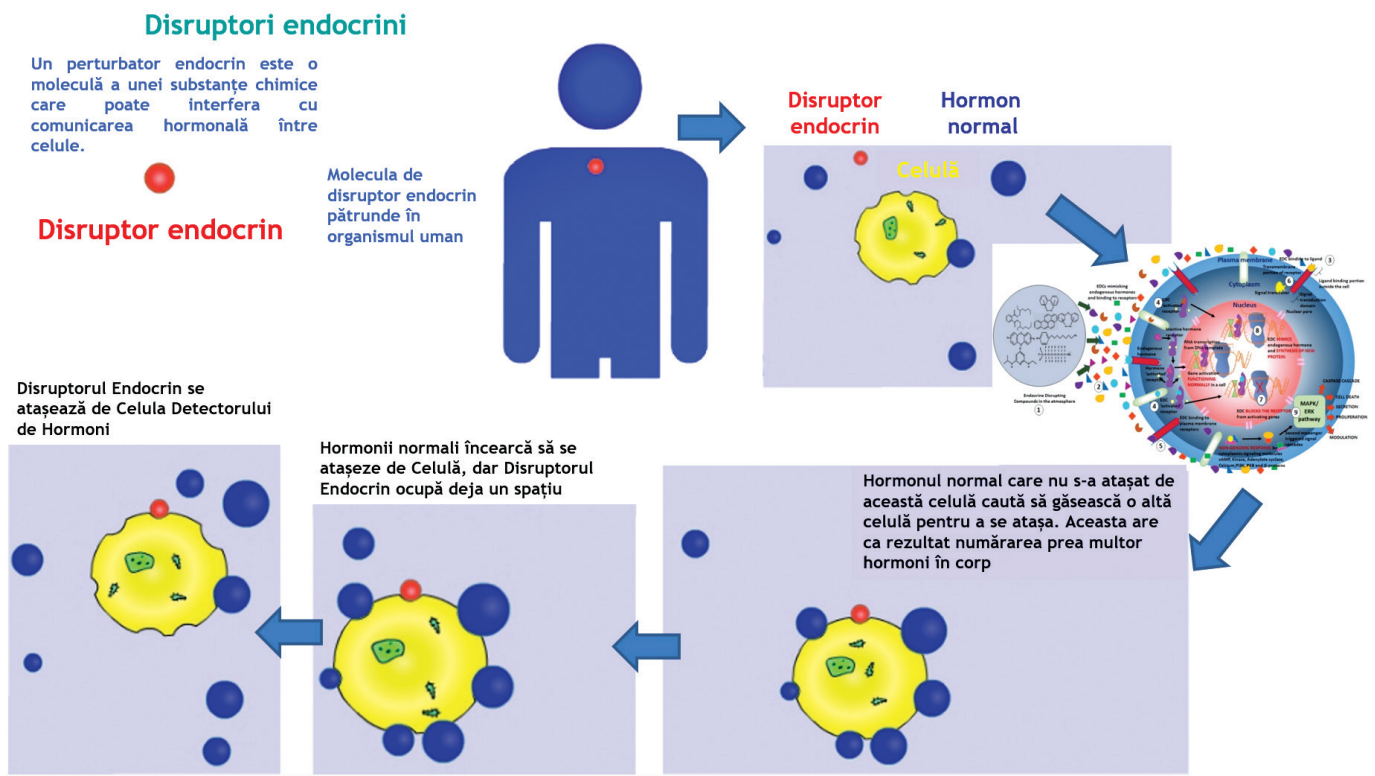


Figura 4.8. Disruptori endocrieni și modul în care interferează cu comunicarea hormonală dintre celule
 Adaptat după: <https://www.sproutsanfrancisco.com/get-educated/endocrine-system-endocrine-disruptors-harms/>

Metilarea ADN-ului și modificările histonice ar putea fi cei mai importanți factori cheie în mecanismul toxicității bisfenolilor.

Mai mult, rezultatele patologice privind expunerea la bisfenoli variază în funcție de căi, concentrație și doză. Efectele expunerii asupra reglării glucozei au fost studiate, de asemenea, pe larg. Studiile au indicat faptul că expunerea la un nivel ridicat de bisfenoli (10-400 mg/kg), indiferent dacă A sau F, a cauzat stres oxidativ și întreruperea funcției celulelor β pancreatice, ceea ce a dus la o complicații ale reglării nivelului de glucoză (Rezg et al., 2014; Hines et al., 2017; Toner et al., 2018; Ohore & Zhang, 2019).

Totodată, expunerea la bisfenoli a fost testată pe familii de șoareci pentru a înțelege mai bine efectul lor asupra semnalizării insulinei din creier. Ca rezultat, s-a descoperit că, la șoareci (cu vârsta de 8 luni), evidențierea insulinei, inclusiv a semnalului extracelular fosforilat care reglează protein-kinază și transportorul de glucoză, acești factori au fost semnificativ scăzuți.

S-a raportat că hiperinsulinemia, intoleranța la glucoză și rezistența la insulină sunt asociate cu expunerile la bisfenoli (Ohore & Zhang, 2019). Acest lucru a arătat că analogii bisfenolilor determină un impact negativ asupra metabolismului glucozei. Bisfenolii au fost conjugați în primul rând cu mono-glucuronidul din ficat, unde a apărut o afecțiune deconjugată prin expunerea la o doză mare, iar metabolizării rezultați au fost excretați în bilă.

De asemenea, au fost studiate expunerea la bisfenol A și efectele sale asupra sistemului cardiovascular iar studiile au sugerat o posibilă conexiune între expunere și starea de hipertensiune care a afectat grav sistemul cardiovascular în timpul unui eveniment hipoxic.

Mai mult, expunerea a afectat angiogeneza prin stimularea producției de factor de creștere endotelial vascular, care a dus la o neovascularizare necontrolată și la creșterea grosimii septului interventricular (Hines et al., 2017; Toner et al., 2018; Ohore & Zhang, 2019).

Cu toate acestea, s-a raportat, de asemenea, că expunerea la bisfenoli într-o concentrație variabilă de 1-250 $\mu\text{g}/\text{mL}$, a determinat o creștere a nivelului de calciu în eritrocite, cu cel mai puternic efect observat pentru bisfenol A și bisfenol F, care au dus în special la creșterea translocăției fosfatidilserinei în celulele roșii putând provoca astfel aritmii (Hines et al., 2017; Toner et al., 2018; Ohore & Zhang, 2019).

Prezența acestor substanțe emergente care perturbă activitățile endocrine din mediu (Figura 4.8) a atras o atenție considerabilă.

În plus față de analiza chimică, mai multe studii au raportat și cuantificat perturbarea activităților endocrine din cauza bisfenolilor. Rezultatele au sugerat că paradigma bisfenolilor și evidențierea alternativă a estrogenilor sunt factorii dominanți ai activității estrogenice ridicate, afectând astfel echilibrul hormonal. Utilizarea bisfenolilor la producerea materialelor plastice din policarbonat și a rășinii epoxidice a fost identificată ca un important contribuitor la poluarea ecosistemelor acvatice cu bisfenoli.

4.6. DETERMINAREA GRADULUI DE EXPUNERE LA PRODUSE FARMACEUTICE ÎN MEDIUL ACVATIC

Pe baza constatării experimentale a riscului pentru mediu reprezentat de produsele farmaceutice, ghidurile Agenției Europene pentru Medicamente (EMA) privind evaluarea riscurilor de mediu (ERA) a medicamentelor de uz veterinar și uman au intrat în vigoare în 2005 și respectiv 2006. Ghidurile EMA EMA/CVMP/ERA/418282/2005 și EMEA/CHMP/SWP/4447/00, se aplică tuturor cererilor noi de autorizare de introducere pe piață a unui produs farmaceutic.

Produsele farmaceutice umane intră predominant în mediu prin apa de suprafață. Prin urmare, în ghidurile EMA, limita de acțiune pentru produsele farmaceutice este apa de suprafață. În faza I a procedurii de evaluare a riscurilor, estimarea se bazează numai pe substanța medicamentoasă, indiferent de modul de administrare, forma farmaceutică, metabolism și excreție.

Concentrația de mediu previzionată (PEC) pentru apa de suprafață se calculează considerând doza zilnică de substanță activă, valorile implicite pentru producția de ape uzate per capita și vânzările estimate ale produsului farmaceutic exprimate ca factor de penetrare a pieței, presupunând că substanța nu se metabolizează și nu are loc biodegradarea sau retenția în stațiile de epurare:

$$PEC (\mu\text{g/L}) = \frac{DOS E_{ai} \times F_{pen}}{WASTEWinhab \times DILUTIE}$$

unde:

PEC = Concentrația previzionată pentru apa de suprafață

DOSE_{ai} = Doza zilnică maximă consumată pe cap de locuitor

F_{pen} = Factorul de penetrare a pieței pentru ingredientului activ

WASTEWinhab = Volumul apelor uzate generate pe cap de locuitor

DILUTIE = Factorul de diluție al efluentului

Volumul apelor uzate generate pe cap de locuitor pe zi (WASTEWinhab) este setat la 200 L/(inh xd), iar factorul de diluție este setat la 10.

Dacă valoarea PEC este egală sau mai mare de 0,01 μg / L, este obligatorie evaluarea într-o a-II-a fază. Compușii farmaceutici pentru care logK_{ow} > 4.5 sunt în mod deosebit studiați din punct de vedere al persistenței, capacității de bioacumulare și toxicității.

În plus, se poate face o comparație între concentrațiile de mediu măsurate (MEC) derivate din detectarea și cuantificarea reziduurilor farmaceutice specifice în apă și sedimente și valorile PEC calculate pentru a verifica acuratețea modelelor utilizate.

În nivelul A al fazei II, sunt considerate proprietățile fizico-chimice ale substanței active, efectele acesteia, studiile toxicologice efectuate până în prezent care sunt revizuite și, de asemenea, se ia în considerare degradarea substanței în mediu:

- Adsorbție - Desorbție folosind o metodă de echilibru în lot (OECD 106/ OECD 121/OPPTS)
- Test pentru rata de biodegradabilitate (OECD 301)
- Transformarea aerobă și anaerobă în sistemele de sedimente acvatic (OECD 308)
- Algae, Test pentru rata de inhibare a creșterii (OECD 201)
- *Daphnia sp.*, Test pentru rata de reproducere (OECD 211)
- Pești, Test pentru toxicitatea la pești în faza de dezvoltare (OECD 210)
- Nămol activat, test pentru rata de inhibare a respirației.

Pe baza acestora se calculează concentrația predictibilă fără efect (Predicted No Effect Concentration, PNEC) pentru apă, apă freatică și microorganisme.

Calculul PNEC se bazează pe modelare și date referitoare la persistența în mediu (capacitatea de a fi degradată), transportul (capacitatea de a pătrunde în membranele biologice și de a se acumula în interiorul florei și faunei) și a biotransformării (capacitatea organismelor din mediu de a metaboliza și detoxifia produsul farmaceutic, anulând orice efecte dăunătoare care rezultă din bioacumularea medicamentului). PNEC se bazează pe valorile LC50 (concentrația letală 50), împărțite la constante definite în mod arbitrar (10-100-1000). Raportul PEC/PNEC

se numește coeficient de risc (RQ). Un raport PEC / PNEC de <1 sugerează că nu există un risc semnificativ asociat cu prezența mediului înconjurător a produselor farmaceutice respective pe când un raport ≥ 1 sugerează că este necesară o caracterizare suplimentară a riscului de mediu conform nivelului B în faza II.

Un alt mod de evaluare a riscului pentru mediu îl reprezintă evaluarea concentrației critice de mediu (CEC) (Peake, 2016). Concentrația unui produs farmaceutic care, conform datelor clinice disponibile, poate provoca un efect farmacologic la pești (pozitiv sau negativ) este utilizată în locul PEC, împreună cu logP (coeficientul de partiție este strâns legat de capacitatea de bioacumulare) pentru a obține o valoare pentru concentrația plasmatică previzionată la pești (fish steady-state plasma concentration FssPC). Utilizarea parametrului CEC, mai degrabă decât PEC, înseamnă că evaluarea este independentă de expunere și poate fi utilizată pentru a evalua produsele farmaceutice potențial dăunătoare atunci când nu sunt disponibile datele lor de utilizare sau vânzări într-o anumită țară.

În cele din urmă, metoda de evaluare prin modelare QSAR (relația cantitativă - activitate) poate fi, de asemenea, utilizată pentru clasificarea pericolului pe care îl reprezintă substanțele farmaceutice în mediu (Peake, 2016). Prin această metodă, proprietățile fizico-chimice ale unei molecule sunt corelate matematic cu concentrația minimă (C) necesară pentru a induce un efect farmacologic într-un anumit organism.

4.7. DETERMINAREA RISCULUI DE EXPUNERE ASUPRA SĂNĂTĂȚII UMANE

Pentru a calcula riscul unei substanțe chimice asupra sănătății umane, o concentrație presupusă fără efect se compară cu concentrația măsurată sau previzionată în mediu. Această concentrație fără efect pentru produsele farmaceutice individuale sau metaboliții lor ce poate fi ingerată zilnic fără consecințe așteptate asupra sănătății este denumită expunere zilnică acceptabilă (ADE) sau aport zilnic acceptabil (ADI).

ADI se bazează pe raportul dintre concentrația minimă la care este observat un efect negativ (NOAEL), stabilită experimental, și factorul de siguranță (SaF), după cum urmează:

$$ADI \text{ (pentru oameni) } = \frac{NOAEL \text{ (doza experimentală)}}{SaF}$$

SaF este de obicei un multiplu de 10 și definește o zonă specifică de incertitudine inerentă a valabilității datelor luând în considerare posibilele diferențe de răspuns între oameni și animale pentru studiile îndelungate.

În cazul lipsei datelor despre NOAEL (sau NOEL), ADI poate fi determinată considerând nivelul minim de concentrație la care cel mai mic efect advers este observat (LOAEL) și aplicând un SaF suplimentar.

Indicele de risc (HQ) pentru fiecare substanță se exprimă ca fiind raportul dintre aportul zilnic cronic (CDI) și valoarea de referință:

$$HQ = CDI / ADI$$

Doza de referință (RfD) derivă din raportul NOAEL cu diferiți factori de siguranță și este definit ca o estimare a expunerii zilnice a populației umane, considerată fără risc de efecte adverse asupra sănătății chiar și atunci când expunerea persistă pe tot parcursul vieții.

Bibliografie

- Adeel, M., Song, X., Wang, Y., Francis, D., Yang, Y. 2017. Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: A critical review. *Environ. Int.*, 99, 107-119. DOI:10.1016/j.envint.2016.12.010.
- Albero, B., Sánchez-Brunete, C., García-Valcárcel, A.I., et al., 2015. Ultrasound-assisted extraction of emerging contaminants from environmental samples. *TrAC Trends Anal. Chem.* 71, 110-118. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2015.03.015>.
- Arditsoglou, A., Voutsas, D., 2012. Occurrence and partitioning of endocrine-disrupting compounds in the marine environment of Thermaikos Gulf, Northern Aegean Sea, Greece. *Marine Pollution Bulletin*, 64, 2443-2452. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.07.048>.
- Bănăduc, D., Rey, S., Trichkova, T., Lenhardt, M., Curtean-Bănăduc, C., 2016. The Lower Danube River-Danube Delta-NorthWest Black Sea: A pivotal area of major interest for the past, present and future of its fish fauna – A short review. *Science of the Total Environment*, 545-546, 137-151. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.058>.
- Bellenger, J.P., Cabana, H., 2014. Emerging contaminants: a scientific challenge without borders. *Sci. Total Environ.* 487, 747. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.031>.
- Bilal, M., Adeel, M., Rasheed, T., Zhaa, Y., Hafiz M.N. Iqbal, H.M.N., 2019. Emerging contaminants of high concern and their enzyme-assisted biodegradation - A review, *Environment International* 124, 336-353.
- Bilal, M., Rasheed, T., Iqbal, H.M., Yan, Y., 2018b. Peroxidases-assisted removal of environmentally-related hazardous pollutants with reference to the reaction mechanisms of industrial dyes. *Sci. Total Environ.* 644, 1-13, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.274.
- Bilal, M., Rasheed, T., Sosa-Hernández, J., Raza, A., Nabeel, F., Iqbal, H., 2018a. Biosorption: an interplay between marine algae and potentially toxic elements—a review. *Mar. Drugs* 16 (2), 65. DOI:10.3390/md16020065.
- Borova, B.V., Maragou, N.C., Gago-Ferrero, P., Pistos, C., Thomaidis, N.S., 2014. Highly sensitive determination of 68 psychoactive pharmaceuticals, illicit drugs, and related human metabolites in wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*, 406, 4273-4285. DOI 10.1007/s00216-014-7819-3.
- Carvalho, I.T., Santos, L., 2016. Antibiotics in the aquatic environments: A review of the European scenario. *Environment International*, 94, 736-757.
- Catteau, L., Zhu, L., Van Bambeke, F., Quetin-Leclercq, J., 2018. Natural and hemi-synthetic pentacyclic triterpenes as antimicrobials and resistance modifying agents against *Staphylococcus aureus*: a review. *Phytochem. Rev.* 1-35. DOI:10.1007/s11101-018-9564-2.
- Centers for Epidemiology and Animal Health (U.S.). The Use of Growth-Promoting Implants in U.S. Fedlots; U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Veterinary Services, Centers for Epidemiology and Animal Health: Fort Collins, CO, USA, 2013.
- Chitescu, C.L., Kaklamanos, G., Nicolau, A., Stolker, M., 2015. High sensitive multiresidue analysis of pharmaceuticals and antifungals in surfacewater using U-HPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS. Application to the Danube river basin on the Romanian territory. *Science of the Total Environment* ,532, 501-511. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.010>.
- Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. O.J. L 226/1. DOI: 10.1016/j.envint.2013.12.007.
- Ebert, I., Bachmann, J., Kühnen, U., et al., 2011. Toxicity of the fluoroquinolone antibiotics enrofloxacin and ciprofloxacin to photoautotrophic aquatic organisms. *Environ. Toxicol. Chem.* 30, 2786-2792.
- EC, 2000. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Off J. Eur. Parliam.* L 327, 1-82.
- EC, 2001. Decision No 2455/2001/EC of the European Parliament and of the Council of 20 November 2001 establishing the list of priority substances in the field of water policy and amending Directive 2000/60/EC. *Off J. Eur. Commun.* L 331, 1-5.
- EC, 2003a. Regulation (EC) No. 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *Off. J. Eur. Union* L268, 29-42.
- EC, 2003b. Council and parliament prohibit antibiotics as growth promoters: Commissioner Byrne welcomes adoption of Regulation on feed additives. (http://europa.eu/rapid/press-release_IP-03-1058_en.htm?locale=en. Accesat pe 16 Martie 2019).
- EC, 2006. Directive 2006/118/EC of the European parliament and of the council on the protection of groundwater against pollution and deterioration. *Off J. Eur. Union* L 372, 19-31.
- EC, 2008. Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing Council Directives 82/176/EEC, 83/513/EEC, 84/156/EEC, 84/491/EEC. *Off J. Eur. Union* L 348, 84-97.
- EC, 2011. Communication from the Commission to the European Parliament and the Council: Action plan against the rising threats from Antimicrobial Resistance (Brussels).
- EC, 2013. Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. *Off J. Eur. Union* L 226, 1-17.

- EC, 2014. Commission Adopts Proposals To Improve Animal And Human Health. IP/14/987 (http://europa.eu/rapid/press-release_IP-14-987_en.htm. Accesat pe 16 Noiembrie 2018).
- EC, 2015a. Decision (EU) 2015/495 of 20 March 2015 establishing a watch list of substances for Union-wide monitoring in the field of water policy pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council. *Off. J. Eur. Parliam.* L 78, 40-42.
- EC, 2015b. Action plan against antimicrobial resistance. http://ec.europa.eu/health/antimicrobial_resistance/policy/index_en.htm (Accesat pe 7 Septembrie 2018).
- EC, 2015c. Antimicrobial resistance projects. http://ec.europa.eu/health/antimicrobial/resistance/projects/index_en.htm (Accesat 7 Septembrie 2018).
- ECDC, 2015a. Antimicrobial resistance. <http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/ESAC-Net/Pages/index.aspx> (Accesat pe 20 Martie 2019).
- EFSA, 2015. Antimicrobial Resistance. <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/amr> (Accesat pe 12 Ianuarie 2019).
- EMA, 2015b. Sales of Veterinary Antimicrobial Agents in 25 EU/EEA Countries in 2013: Fifth ESVAC Report (London).
- Enachi, E., Bahrim, G. E. and Ene, A. (2019) "Pharmaceutical compounds and endocrine disruptors in aquatic environments: ecotoxicological effects and analysis methodology", *Analele Universității „Dunărea de Jos” din Galați. Fascicula II, Matematică, fizică, mecanică teoretică / Annals of the „Dunarea de Jos” University of Galati. Fascicle II, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics*, 42(2), pp. 172-182. doi: <https://doi.org/10.35219/ann-ugal-math-phys-mec.2019.2.08>.
- European Environment Agency, 2010. Pharmaceuticals in the environment. Technical Report No 1/2010p. 4 (available at: www.eea.europa.eu/publications/pharmaceuticalsin-the-environment-result-of-an-eea-workshop/at_download/file - Accesat pe 3 Februarie 2019).
- European Environmental Bureau - Europe's largest network of environmental citizens' organization, BIO Intelligence Service, Executive Agency for Health and Consumers, Study on the environmental risks of medicinal products, final report, January 2018, https://eeb.org/wp-admin/admin-ajax.php?juwpfisadmin=false&action=wpfd&task=file.download&wpfd_category_id=31&wpfd_file_id=92673&token=6569152a1133517433eb9fd762565318&previiew=1 Accesat pe 24 Ianuarie 2019.
- Evgenidou, E.N., Konstantinou, I.K., Lambropoulou, D.A., 2015. Occurrence and removal of transformation products of PPCPs and illicit drugs in wastewaters: a review. *Sci. Total Environ.* 505, 905-926. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.10.021>.
- Farré, M., Kantiani, L., Petrovic, M., et al., 2012. Achievements and future trends in the analysis of emerging organic contaminants in environmental samples by mass spectrometry and bioanalytical techniques. *Journal of Chromatography A* 1259, 86-99, <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2012.07.024>.
- Gall, H.E., Sassman, S.A., Jenkinson, B., Lee, L.S., Jafvert, C.T., 2014. Hormone loads exported by a tile-drained agroecosystem receiving animal wastes. *Hydrol. Process.*, 28, 1318-1328. DOI:10.1002/hyp.9664.
- Grinten, E.V., Pikkemaat, M.G., Brandhof, E.J.V., et al., 2010. Comparing the sensitivity of algal, cyanobacterial and bacterial bioassays to different groups of antibiotics. *Chemosphere* 80, 1-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.04.011>.
- Gros, M., Petrovic, M., Barceló, D., 2006. Data set on the occurrence of pharmaceutical compounds in the samples from the Danube river basin. *Aqua-Terra report*. Project no. 505428 (GOCE).
- Hernandez-Vargas, G., Sosa-Hernández, J., Saldarriaga-Hernandez, S., Villalba-Rodríguez, A., Parra-Saldivar, R., Iqbal, H., 2018. Electrochemical biosensors: a solution to pollution detection with reference to environmental contaminants. *Biosensors* 8 (2), 29, DOI: 10.3390/bios8020029.
- Hines, C.J., Jackson, M.V., Christianson, A.L., Clark, J.C., Arnold, J.E., Pretty, J.R., Deddens, J.A., 2017. Air, hand wipe, and surface wipe sampling for bisphenol a (BPA) among workers in industries that manufacture and use BPA in the United States. *J. Occup. Environ. Hyg.*, 14, 882-897, DOI: 10.1080/15459624.2017.1339164.
- Jarošová, B., Javuřek, J., Adamovský, O., Hilschero-vá, K., 2015. Phytoestrogens and mycoestrogens in surface waters-Their sources, occurrence, and potential contribution to estrogenic activity. *Environ. Int.*, 81, 26-44. DOI:10.1016/j.envint.2015.03.019.
- Joint Danube Survey (JDS) 3-2013, 2015. A Comprehensive Analysis of Danube Water Quality. Final Report. International Commission for the Protection of the Danube River, Vienna.
- Krzeminski, P., Tomei, M.C., Karaolia, P., Langenhoff, A., Almeida, C.M.R., Felis, E., Rizzo, L., 2018. Performance of secondary wastewater treatment methods for the removal of contaminants of emerging concern implicated in crop uptake and antibiotic resistance spread: a review. *Sci. Total Environ.* 648, 1052-1081. DOI:10.1016/j.scitotenv.2018.08.130
- Kumar M., Jaiswal S., Sodhi K.K., Shree P., Singh D.K., Agrawal P.K., Shukla P., 2019, Antibiotics bioremediation: Perspectives on its ecotoxicity and resistance, *Environment International*, 124, 448-461, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.12.065>.
- Lecomte, S., Habauzit, D., Charlier, T.D., Pakdel, F., 2017. Emerging Estrogenic Pollutants in the Aquatic Environment and Breast Cancer. *Genes*, 2017, 8, 229. DOI:10.3390/genes8090229.
- Li Sun, L., Yong, W., Chu, X., Lin, J.-M., 2009. Simultaneous determination of 15 steroidal oral contraceptives in water using solid-phase disk extraction followed by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography*

- matography A, 1216, 5416-5423. DOI:10.1016/j.chroma.2009.05.041
- Li, M., Wei, D., Du, Y., 2014. Acute toxicity evaluation for quinolone antibiotics and their chlorination disinfection processes. *J. Environ. Sci.* 26, 1837-1842. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jes.2014.06.023>.
- Madureira, T., Barreiro, J., Rocha, M., Cass, Q., Tiritan, M., 2010. Spatio-temporal distribution of pharmaceuticals in the Douro River estuary (Portugal). *Sci. Total Environ.* 408 (22), 5513-5520. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2010.07.069.
- Mansell, D.S., Bryson, R.J., Harter, T., Webster, J.P., Kolodziej, E.P., Sedlak, D.L., 2011. Fate of endogenous steroid hormones in steer feedlots under simulated rainfall-induced runoff. *Environ. Sci. Technol.*, 45, 8811-8818. DOI:10.1021/es202072f.
- Moldovan, Z., Marincas, O., Povar, I., Lupascu, T., Longree, P., Rota, J. S., Alder, A. C., 2018. Environmental exposure of anthropogenic micropollutants in the Prut River at the Romanian-Moldavian border: a snapshot in the lower Danube river basin. *Environmental Science and Pollution Research*. doi:10.1007/s11356-018-3025-8.
- Murphy, E.A., Post, G.B., Buckley, B.T., et al., 2012. Future challenges to protecting public health from drinking water contaminants. *Annu. Rev. Public Health* 33, 209-224. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-publhealth-031811-124506>.
- Ohore, O.E., Zhang, S., 2019. Endocrine disrupting effects of bisphenol A exposure and recent advances on its removal by water treatment systems. A review. *Scientific African*, 5, e00135. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00135>
- Pal, A., He, Y., Jekel, M., et al., 2014. Emerging contaminants of public health significance as water quality indicator compounds in the urban water cycle. *Environ. Int.* 71, 46-62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2014.05.025>.
- Papageorgiou, M., Kosma, C., Dimitra Lambropoulou, D., 2016. Seasonal occurrence, removal, mass loading and environmental risk assessment of 55 pharmaceuticals and personal care products in a municipal wastewater treatment plant in Central Greece. *Science of the Total Environment*, 543, 547-569. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.047>.
- Peake, B. M., Braund, R., Tong, A. Y., & Tremblay, L. A. (2016). Impact of pharmaceuticals on the environment. *The Life-Cycle of Pharmaceuticals in the Environment*; Peake, BM, Braund, R., Tong, AYC, Tremblay, LA, Eds, 109-152.
- Pleiter, M.G., Gonzalo, S., Palomares, I.R., et al., 2013. Toxicity of five antibiotics and their mixtures towards photosynthetic aquatic organisms: Implications for environmental risk assessment. *Water Res.* 47, 2050-2064. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2013>.
- Plotan, M., Elliott, C.T., Frizzell, C., Connolly, L., 2014. Estrogenic endocrine disruptors present in sports supplements. A risk assessment for human health. *Food Chem.*, 159, 157-165. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.02.153.
- Rasheed, T., Bilal, M., Nabeel, F., Adeel, M., Iqbal, H.M., 2019. Environmentally-related contaminants of high concern: potential sources and analytical modalities for detection, quantification, and treatment. *Environ. Int.* <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.11.038> in press.
- Rezg, R., El-Fazaa, S., Gharbi, N., Mornagui, B., 2014. Bisphenol a and human chronic diseases: Current evidences, possible mechanisms, and future perspectives, *Environ. Int.*, 64, 83-90,
- Rico, A., Dimitrov, M.R., Wijngaarden, R.P.A.V., et al., 2014. Effects of the antibiotic enrofloxacin on the ecology of tropical eutrophic freshwater microcosms. *Aquat. Toxicol.* 147, 92-104. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.12.008>.
- Sabanayagam, C., Teppala, S., Shankar, A., 2013. Relationship between urinary bisphenol a levels and prediabetes among subjects free of diabetes. *Acta Diabetol.*, 50, 625-631, DOI: 10.1007/s00592-013-0472-z.
- Samuel Fekadu, S., Alemayehu, E., Dewil, R., Van der Bruggen, B., 2019. Pharmaceuticals in freshwater aquatic environments: A comparison of the African and European challenge. *Science of the Total Environment*, 654, 324-337. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.072>.
- Sauvé, S., Desrosiers, M., 2014. A review of what is an emerging contaminant. *Chemistry Central Journal* 8, 1-8, <http://dx.doi.org/10.1186/1752-153X-8-15>.
- Szymańska U., Wiergowski M., Sottyszewski I., Kuzemko J., Wiergowska G., Woźniak M.K., 2019 Presence of antibiotics in the aquatic environment in Europe and their analytical monitoring: Recent trends and perspectives, *Microchemical Journal*, 147, 729-740, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.04.003>.
- Toner, F., Allan, G., Dimond, S.S., Waechter, J.M., Beyer, D. 2018. In vitro percutaneous absorption and metabolism of bisphenol a (BPA) through fresh human skin, *Toxicol. Vit.* 47, 147-155, DOI: 10.1016/j.tiv.2017.11.002.
- Toolaram, A.P., Haddad, T., Leder, C., Kümmerer, K., 2016. Initial hazard screening for genotoxicity of photo-transformation products of ciprofloxacin by applying a combination of experimental and in-silico testing. *Environ. Pollut.* 211, 148-156. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2015.12.040>.
- Ullah, S., Zuberi, A., Alagawany, M., Farag, M.R., Dardar, M., Karthik, K., Iqbal, H.M., 2018. Cypermethrin induced toxicities in fish and adverse health outcomes: its prevention and control measure adaptation. *J. Environ. Manag.* 206, 863-871. DOI: 10.1016/j.jenvman.2017.11.076.
- Zwiener, C., Frimmel, F.H., 2004. LC-MS analysis in the aquatic environment and in water treatment technology - A critical review. Part II: Applications for emerging contaminants and related pollutants, microorganisms and humic acids. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378, 862-874, <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-003-2412-1>

Resurse internet

- <https://www.sproutsanfrancisco.com/get-educated/endocrine-system-endocrine-disruptors-harms/> - Accesat pe 28 August 2020
- https://www.bag.admin.ch/bag/en/home/krankheiten/infektionskrankheiten-bekaempfen/antibiotikaresistenzen/wie-entstehen-antibiotikaresistenzen---/_jcr_content/par/image/image.imagespooler.png/1511168109495/evolution-of-antibiotic-resistance-en.png - Accesat pe 28 August 2020
- <https://i2.wp.com/www.compoundchem.com/wp-content/uploads/2014/09/A-Guide-to-Different-Classes-of-Antibiotics-Aug-15.png?fit=1323%2C935&ssl=1> - Accesat pe 05 Septembrie 2020
- https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/7/70/Liquid_Chromatography_Mass_Spectrometer.png/550px-Liquid_Chromatography_Mass_Spectrometer.png - Accesat pe 05 Septembrie 2020
- <https://www.compoundchem.com/2015/02/03/oral-contraceptives/> - Accesat pe 15 Septembrie 2020
- <https://foodpharmacy.blog/2019/06/pcos-oral-contraceptives-and-inflammation-part-2/> - Accesat pe 15 Septembrie 2020
- https://www.chem-academy.com/sites/chem-academy/files/bilder/gr/END4764_Graphic_Recording_thumb.png - Accesat pe 10 Septembrie 2020
- <https://www.hidenanalytical.com/real-time-process-monitoring-pharmaceuticals/> - Accesat pe 10 Septembrie 2020
- https://farm6.staticflickr.com/5613/31550717933_a0e6bac019_o.jpg - Accesat pe 20 Septembrie 2020
- https://en.wikipedia.org/wiki/Danube_Delta - Accesat pe 28 Septembrie 2020
- https://www.researchgate.net/publication/315717521_Water_Quality_Assessment_for_Dukan_Lake_Using_LANDSAT_8_OLI_Satellite_Images/figures?lo=1&utm_source=google&utm_medium=organic - Accesat pe 28 Septembrie 2020
- [https://www.phenomenex.com/Info/Page/spe-
do-?utm_campaign=2018%20strata%20x%20
drug%20b%20plus&utm_source=print&utm_
medium=redirect&utm_content=strataxdrug](https://www.phenomenex.com/Info/Page/spe-
do-?utm_campaign=2018%20strata%20x%20
drug%20b%20plus&utm_source=print&utm_
medium=redirect&utm_content=strataxdrug) - Accesat pe 28 Septembrie 2020
- https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcRVbCD5woCZ1qAIWVsXmA7AYbbLm28i_eCWD-cxVH9JPTXXf98SC - Accesat pe 28 Septembrie 2020
- <http://www.pharmamicroresources.com/2017/12/efforts-to-combat-antibiotic-resistant.html> - Accesat on 28 Septembrie 2020
- <https://www.cdc.gov/narms/index.html> - Accesat pe 28 Septembrie 2020
- https://www.freepik.com/free-vector/man-drinking-giant-glass-water-illustration_3046730.htm#page=1&query=Drinking%20water&position=3 - Accesat pe 28 September 2020
- <https://all-free-download.com/free-vector/trash-can-vector-free.html> - Accesat on 28 September 2020
- <https://media.istockphoto.com/vectors/man-excrete-with-shades-color-of-poop-healthy-concept-vector-id1140146153?b=1&k=6&m=1140146153&s=612x612&w=0&h=NO-wXTm9-rFGQHBhNuO-NUBsgkH5ar982VsfQNTZnU=> - Accesat pe 28 Septembrie 2020
- https://img.freepik.com/free-vector/water-purification-technology-isometric-treatment-water-industrial-system-wastewater-separator-vector-isolated-set_53562-9157.jpg?size=626&ext=jpg - Accesat pe 28 September 2020
- https://image.freepik.com/free-vector/water-cleaning-concept-icons-set-with-water-treatment-symbols-isometric-isolated_1284-31893.jpg - Accesat pe 28 Septembrie 2020
- https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcST1XcdrsPHzWXkHL_XucHxfu-FBhSFANYqNsw&usqp=CAU - Accesat pe 28 September 2020
- https://image.freepik.com/free-vector/farming-life-concept-icons-square-with-greenhouse-crop-harvesting-equipment-farmhouse-facilities_1284-17598.jpg - Accesat on 28 Septembrie 2020
- https://image.freepik.com/free-vector/flat-farm-animal-collection_23-2148185577.jpg - Accesat pe 28 Septembrie 2020
- https://media.istockphoto.com/vectors/vector-set-of-farm-animal-pig-chicken-cow-horse-etc-with-cozy-village-vector-id1132431624?b=1&k=6&m=1132431624&s=612x612&w=0&h=H7-sUf_ssMoV-0N-zWEXr5T7R8xq0wBPQPFqZZh6RNo0= - Accesat pe 29 Septembrie 2020
- <https://cdn1.vectorstock.com/i/1000x1000/74/40/fresh-ingredient-for-meat-products-vector-14477440.jpg> - Accesat pe 29 Septembrie 2020
- https://www.mdpi.com/vetsci/vetsci-07-00110/article_deploy/html/images/vetsci-07-00110-g001.png
- <http://getdrawings.com/vectors/food-plate-vector-2.jpg> - Accesat pe 29 Septembrie 2020
- <https://thumbs.dreamstime.com/b/fat-farmer-agronomist-set-three-poses-funny-gardener-man-cartoon-character-holding-chicken-egg-milk-can-pig-vector-143655080.jpg> - Accesat pe 29 Septembrie 2020
- https://www.chem-academy.com/sites/chem-academy/files/bilder/gr/END4764_Graphic_Recording_thumb.png - Accesat pe 29 Septembrie 2020

5

Capitolul

RADIAȚII IONIZANTE ÎN MEDIU - RISCU RADIOLÓGIC

Antoaneta Ene¹

¹ Universitatea Dunărea de Jos din Galați, Centrul de cercetare internațional interdisciplinar INPOLDE, Facultatea de Științe și Mediu, Str. Domnească nr.47, 800008 Galați, România

5.1. CONSIDERENTE GENERALE

Radiațiile ionizante.

Radioactivitatea mediului

Radiația este emisia, propagarea și transferul de energie în orice mediu sub formă de unde electromagnetice sau particule.

Ființele vii coexistă cu radiațiile încă de la origini. Fără radiații provenite de la soare nu ar fi existat viața pe pământ și fără radiații infraroșii nu ne-am putea încălzi. În plus față de aceste surse naturale de radiații, oamenii au reușit să dezvolte diferite dispozitive care se bazează pe radiații sau le utilizează. Folosim radiații atunci când ascultăm radioul, vorbim la telefoanele mobile, încălzim micul dejun la cuptorul cu microunde, ne prăjim pâinea sau ne supunem unei investigații radiologice. Cu cât frecvența radiațiilor electromagnetice este mai mare, cu atât este mai mare energia acestora. Undele sau *radiațiile electromagnetice* pot fi clasificate în funcție de energia lor în *radiații ionizante*, care au suficientă energie pentru a produce ionizarea atomilor materiei prin care trec (de exemplu, raze X) sau *radiații neionizante*, nu au suficient energie pentru a sparge legăturile atomilor și a produce ionizare (de exemplu, microunde) (Nat, 2005).

Radiațiile de natură *corpusculară*, care sunt prezente sub formă de particule cu masă (de exemplu, radiații alfa), sunt incluse în categoria radiațiilor ionizante, deoarece în toate cazurile acestea sunt capabile să producă ionizare.

Există mai multe tipuri de radiații ionizante, care interacționează diferit cu substanța pe care o traversează, în funcție de natura și energia lor și tipul de material străbătut (Figura 5.1):

- **Radiația alfa** (α) este nucleul de heliu 4 care este emis în anumite dezintegrări nucleare și este alcătuit din doi neutroni și doi protoni. Au masă mare, dar nu sunt foarte pătrunzătoare: o foaie de hârtie sau pielea umană în sine este suficientă pentru a ne proteja de efectele sale.
- **Radiațiile beta** sunt fluxuri de electroni (beta negativi - β^-) sau pozitroni (beta pozitivi - β^+) eliberați în anumite dezintegrări nucleare. Au o masă mai mică decât alfa, deși sunt ceva mai pătrunzătoare: pot pătrunde pe o foaie de hârtie și între unu și doi centimetri de țesut viu, dar nu pot pătrunde printr-o foiță de aluminiu.
- **Radiațiile X și gama** sunt radiații electromagnetice fără sarcină electrică sau masă. Aceste tipuri de radiații au origine diferită; radiațiile gama (γ) provin din dezintegrarea nucleelor instabile ale unor elemente radioactive, iar radiațiile X provin din straturile exterioare ale atomului, unde se găsesc electronii. Acest tip de radiații este destul de penetrant; trec prin foaia de hârtie și folia de aluminiu și, pentru a le opri, este necesar un strat de plumb cu o grosime suficientă.
- **Neutronii** (n) eliberați în reacțiile nucleare sunt un tip de radiație foarte penetrant. Neavând sarcină electrică, neutronii

pătrund cu ușurință în structura anumitor atomi și provoacă divizarea acestora. Ei pot fi absorbiți de anumite elemente chimice, cum ar fi cadmiul sau borul. Un strat de apă sau de beton stopează fasciculele de neutroni.

Dacă un fascicul paralel (colimat) de radiații nucleare monocromatice de intensitate inițială I_0 străbate un strat de substanță de

grosime x , intensitatea I a fasciculului scade după o **lege de atenuare** exponențială (Figura 5.2):

$$I(x) = I_0 e^{-\mu x} \quad (1)$$

unde μ poartă numele de *coeficient de atenuare* care depinde de natura substanței traversate de fascicul și de energia radiațiilor incidente (Ene & Pantelica, 2011a).

Puterea de penetrare a diferitelor tipuri de radiații

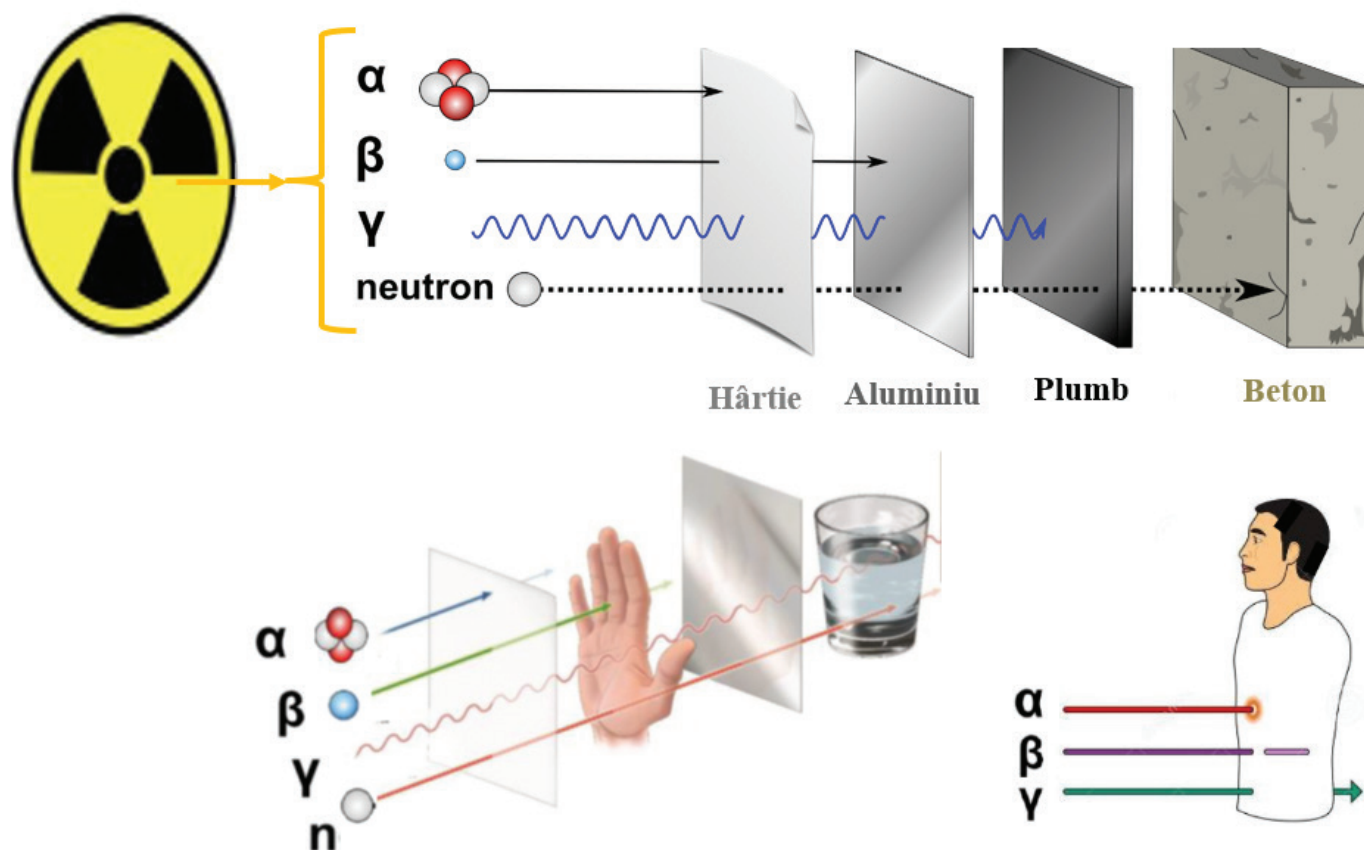


Figura 5.1. Moduri de interacție a fasciculelor de radiații nucleare (α , β , γ , n) cu materia

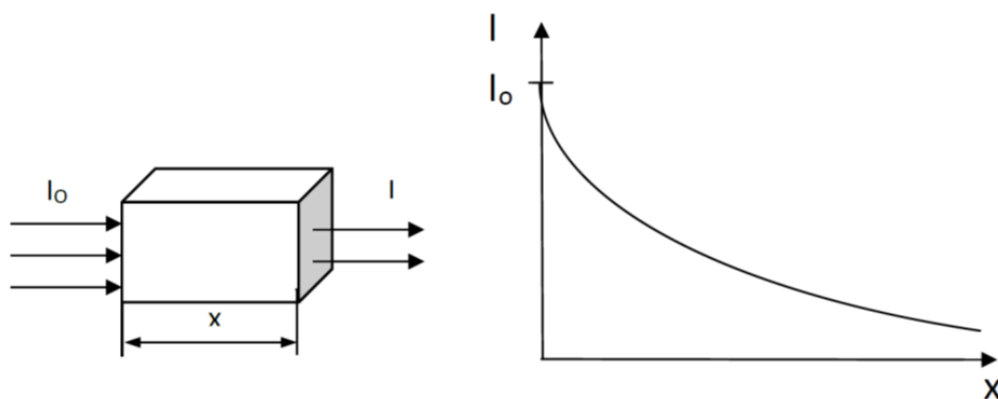


Figura 5.2. Exemplificarea legii de atenuare a unui fascicul de radiații în substanță

Structura materiei este formată din molecule care, la rândul lor, sunt formate din atomi. Timp de secole, fizicienii și chimiștii au crezut că atomul este cea mai mică parte a materiei, de unde și numele său, atom, care înseamnă „indivizibil”. Cu toate acestea, cercetările ulterioare au permis reprezentarea atomului ca fiind format dintr-un nucleu și electroni care se rotesc în jurul său.

Reprezentările concrete, cantitative cu privire la structura atomică au avut ca prim punct de abordare experiențele de împrăștiere a particulelor α (ioni de He) pe foițe metalice foarte subțiri realizate de „părintele teoriei atomice” - Ernest Rutherford. Concluzia la care s-a ajuns din aceste experiențe este că nucleul reprezintă partea centrală a atomului, în el fiind concentrată, practic, întreaga masă a atomului și deoarece atomul este neutru electric, el are sarcină electrică pozitivă. După descoperirea în 1932 de către Chadwick a neutronului, s-a stabilit că nucleul este constituit din două tipuri de nucleoni: *protoni și neutroni*. Protonii au o sarcină electrică pozitivă și electronii sarcină negativă, în timp ce neutronii sunt numiți astfel, deoarece nu sunt încărcăți electric. Protonii și electronii se atrag reciproc prin forțe de natură coulombiană.

Fizica nucleară, prin obiectul său de studiu privind constituția, proprietățile și transformările nucleului atomic, a stabilit complexitatea și proprietățile fizice deosebite ale acestuia. Unele dintre aceste proprietăți au o importanță principală, cum sunt cele legate de stabilitatea și structura nucleului și de mecanismele reacțiilor nucleare, iar altele sunt de interes practic, cum sunt de exemplu: obținerea și utilizarea reacțiilor nucleare, izotopilor radioactivi, sau energiei nucleare (Nat, 2005).

Nucleele se definesc prin două numere: *numărul atomic Z* care reprezintă numărul de protoni conținuți în nucleu, adică indică sarcina nucleului care este egală cu Z_e și prin *numărul de masă A* care este numărul de nucleoni din nucleu (protoni și neutroni),

fiind apropiat de masa atomică a elementului respectiv. Numărul de neutroni conținuți în nucleu este $N = A - Z$. Specia atomică definită printr-o anumită compoziție a nucleului, adică Z protoni și $(A-Z)$ neutroni se numește *nuclid*, simbolizat prin A_ZX . Nuclizii care au același A se numesc izobari, cei care au același Z sunt izotopi, cei cu același $N = A - Z$ sunt izotoni iar cei care au același A și același Z dar diferă prin proprietățile radioactive se numesc izomeri (Nat, 1998; Ene, 2002).

Nucleele atomice pot fi stabile și nestabile. Nucleele stabile rămân neschimbate în timp, iar cele nestabile suferă transformări spontane. Un nucleu cu un anumit număr de nucleoni A este stabil atunci când există un raport bine determinat între numărul Z de protoni și numărul $N = A - Z$ de neutroni, iar nivelele energetice nucleare corespund unei configurații energetice minime bine stabilită. Dacă aceste condiții nu sunt îndeplinite, nucleul este instabil și suferă spontan diferite tranziții pentru a ajunge mai devreme sau mai târziu la un nucleu stabil. Aceste tranziții se numesc *tranziții radioactive* și ansamblul lor, suportat de un nucleu instabil, reprezintă *dezintegrarea radioactivă*. Nuclidul *fiică* (rezultat din dezintegrare) s-ar putea să nu fie stabil și se descompune într-o terță parte, care poate continua procesul, până când în final se ajunge la un nuclid stabil. Se spune că nuclizii succesivi dintr-un set de dezintegrări formează o *serie radioactivă* sau o *familie radioactivă* (Marcu & Marcu, 1996).

Efectul dezintegrării radioactive este trecerea de la un atom cu un nucleu inițial cu energie mai mare la un atom cu un nucleu derivat cu energie mai mică, realizată prin una sau mai multe tranziții radioactive, numite *scheme de dezintegrare*. Diferența între cele două energii este eliberată în timpul dezintegrărilor sub formă de radiații nucleare: corpusculare (fascicule de particule elementare, nucleee atomice, ioni: particule α , particule β^- sau β^+ , protoni p (H^+), deuteroni ${}^2H^+$, tritoni

$^3\text{H}^+$, ioni grei Li^+ , Na^+ etc) sau radiații electromagnetice penetrante (radiațiile X și gama γ) (Nat & Ene, 2003a; Ene, 2006).

Dacă la momentul t există un număr N de nuclee dintr-o anumită specie atomică, **legea dezintegrării radioactive** se scrie astfel:

$$N = N_0 e^{-\lambda t} \quad (2)$$

unde N_0 este numărul de nuclee existente la momentul inițial ($t = 0$) iar λ este *constantă radioactivă*, ea caracterizând radionuclidul respectiv.

În practică se folosește și o altă mărime, numită *perioadă de înjumătățire* $T_{1/2}$ care reprezintă intervalul de timp în decursul căruia se dezintegrează jumătate din numărul de nuclee date. Perioada de înjumătățire este o mărime specifică fiecărui radionuclid și variază într-un domeniu foarte larg, de la 10^{-7} s la 10^{15} ani. Legătura dintre cele două mărimi caracteristice proceselor de dezintegrare ($T_{1/2}$, λ) este:

$$T_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda} \quad (3)$$

O sursă radioactivă este caracterizată prin *activitatea* sa, Λ , care reprezintă numărul de nuclee dezintegrate în unitatea de timp:

$$\Lambda = \left| \frac{dN}{dt} \right| \quad (4)$$

Dacă $\Lambda_0 = \lambda N_0$ este activitatea inițială, se poate scrie pentru mărimea Λ o relație asemănătoare cu (2):

$$\Lambda = \Lambda_0 e^{-\lambda t} \quad (5)$$

Unitatea de măsură a activității radioactive este *Becquerel*-ul (Bq), $1\text{Bq}=1$ dez/s, sau unitatea derivată, *Curie*-ul (Ci), $1\text{Ci}= 3,7 \cdot 10^{10}$ Bq.

Surse naturale și artificiale de radiații

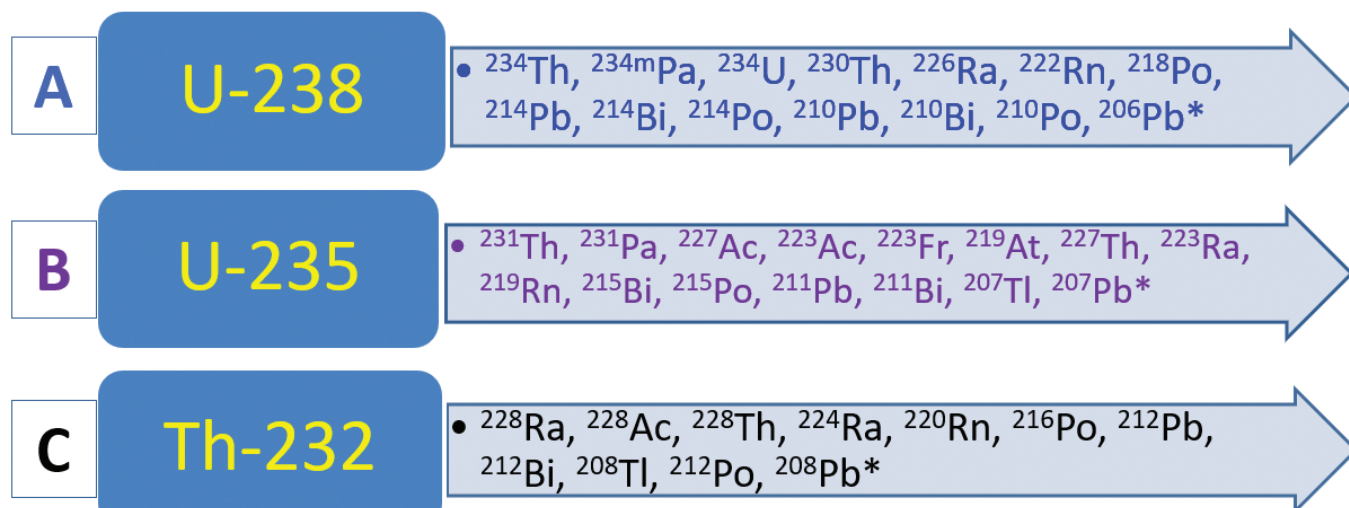
Viața pe Pământ a evoluat în prezența radiațiilor cosmice sau a celor generate de litosferă. Activitățile umane conduc la o creștere

treptată și continuă a cantității de radiații primite de organisme. Pe lângă sursele de radiații controlate din medicină, industrie și cercetare, există și anumite surse necontrolate de poluare radioactivă: căderile radioactive ca produse ale exploziilor nucleare și testelor armelor și reziduurile radioactive produse de activitățile economice și de cercetare. La sursele de iradiere artificială se adaugă radioactivitatea naturală. Se consideră că iradierea naturală este responsabilă pentru cel puțin o treime din totalul infirmităților genetice.

Radiațiile ionizante de origine naturală sunt prezente în natura înconjurătoare. În plus față de radiațiile cosmice, radiațiile ionizante sunt produse ca o consecință a prezenței materialelor radioactive existente în scoarța terestră. Trei sferturi din radioactivitatea din mediu provine din elemente naturale. Radioactivitatea naturală de origine terestră se bazează în principal pe radioactivitatea radionuclizilor K-40 și a celor din trei serii radioactive naturale, numite seriile uraniului (U-238), actiniului (U-235) și toriului (Th-232) (Marcu & Marcu, 1996; Nat & Ene, 2003a; Ene & Pantelica, 2011b; Pintilie et al., 2016; Moghazy et al., 2021). Radioizotopii care fac parte din cele trei familii radioactive naturale (notate cu A,B,C în Figura 5.3) sunt legați între ei de transformări succesive α și β , generatorul fiind radionuclidul cu un timp de înjumătățire ridicat.

Nu toate locurile de pe Pământ au același nivel de radioactivitate. În unele zone din India, de exemplu, radioactivitatea este de 10 ori mai mare decât media europeană. Motivul se află în nisipurile Indiei, care au un conținut ridicat de minereuri bogate în toriu. Lanțurile muntoase au, de asemenea, un nivel relativ ridicat de radioactivitate, datorită compoziției rocilor granitice. În plus față de această variabilitate geografică, anumite activități precum fabricarea de ceramică, producția de îngrășăminte sau extracția de gaze și petrol, pot crește dozele datorate acestor radionu-

Serii radionuclidice naturale în mediu



* Izotop stabil

Figura 5.3. Radionuclizii naturali din seriile U^{238} , U^{235} și Th^{232}

clizi de origine naturală, nu numai pentru lucrători, ci de asemenea, și pentru restul populației (UNSCEAR, 2000).

Radioactivitatea poate exista și în casele noastre, în principal din gazul *radon* (WHO, 2009). Acest gaz este produs ca o consecință a dezintegrării uraniului conținut în roci. Cantitatea de gaz de radon care se acumulează într-o casă depinde de situația acesteia, de materialele care au fost utilizate în construcția ei și de modul nostru de viață. Radonul este emanat din roci și este concentrat în interior, de aceea este foarte recomandat ca locuințele, spațiile publice și locurile de muncă să fie bine ventilate (Ene & Vodarici, 2020).

Pe de altă parte, radiația cosmică este generată în reacțiile nucleare care apar în interiorul soarelui și în alte stele. Atmosfera filtrează aceste raze și ne protejează de efectele lor periculoase, deoarece în afara atmosferei, în spațiu, nivelul de radioactivitate este mult mai mare. Când urcăm un munte, acea protecție se diminuează și radiația cosmică este mai intensă. La fel se întâmplă și atunci când călătorim cu avionul, fiind mai expuși la radiații.

Elementele radioactive există și în multe alimente (Pintilie et al., 2017, 2018a,b) și în apa potabilă (Pintilie et al., 2016). Chiar și corpurile noastre sunt o sursă de radiații, deoarece depozitează cantități mici de potasiu radioactiv, un produs necesar pentru corpul uman.

Radiațiile pot fi produse și artificial. În 1895, fizicianul Roëntgen, efectuând experimente cu raze catodice, a descoperit primul tip de radiație artificială pe care l-au utilizat oamenii: razele X. Acestea sunt unde electromagnetice cauzate de frânarea pe anumite materiale a fasciculelor de electroni accelerați în interiorul unui tub vidat.

Eliberarea de energie poate avea loc în urma unor reacții de fisiune nucleară, adică de rupere a nucleului atomului. Unele elemente sunt mai potrivite decât altele pentru a produce aceste tipuri de reacții. Acesta este cazul uraniului-235, cu tendința de a absorbi orice neutron care se ciocnește cu acesta. Când se întâmplă acest lucru, uraniul-235 câștigă în greutate, devine mai instabil și ajunge să se spargă în diferite fragmente, eliberând alți neutroni. Dacă acești neutroni sunt absor-

biți, la rândul lor, de alți atomi de uraniu-235, are loc o succesiune de reacții în lanț, generând cantități semnificative de radioactivitate și energie.

Odată ce proprietățile și potențialul radiației au început să fie cunoscute, au fost dezvoltate și aplicațiile sale, precum și tehnicile de obținere a materialelor radioactive artificiale. Razele X și gama sunt utilizate în medicină pentru a diagnostica multiple probleme fizice prin imagistică. Radiațiile sunt utilizate și în tratamentul cancerului și a altor boli. Industria beneficiază, de asemenea, de aplicații ale radiațiilor în tehnici de radiografie, de măsurare industrială, sterilizarea alimentelor, combaterea dăunătorilor etc. În plus, în centralele nucleare sunt provocate reacții de fisiune care eliberează o mare energie sub formă de radiații, permițând producerea de energie electrică.

Elemente de dozimetrie

Pentru exprimarea efectelor biologice produse de radiațiile nucleare s-a definit un sistem radiobiologic de mărimi și unități dozimetrice (Gaspar, 1996; Nat & Ene, 2003b; Angelescu et al., 2005; Creangă, 2005; Nat, 2005), cele mai importante fiind:

- **Doza de radiație absorbită D** se referă la orice tip de radiație ionizantă și reprezintă cantitatea de energie $d\varepsilon$ absorbită de unitatea de masă dm de țesut viu:

$$D = \frac{d\varepsilon}{dm} \quad (6)$$

Unitatea de măsură pentru doza absorbită D este *Gray-ul* (Gy; 1Gy=1J/1kg), sau unitatea tolerată, *rad* (1 rad = 10⁻² Gy).

- **Doza echivalentă (doza biologică) H :**

$$H = w_R D \quad (7)$$

este doza absorbită multiplicată printr-un factor de ponderare pentru radiație, w_R , adimensional, care exprimă eficacitatea biologică a unui tip de radiație.

Pentru cea mai mare parte a radiațiilor folosite în industrie sau medicină (X, γ , β^-) $w_R = 1$, astfel încât: $D=H$. Excepție fac particulele alfa ($w_R = 20$) și neutronii ($w_R = 2,5 - 21$) (Figura 5.4).

Unitatea de măsură a dozei echivalente este *Sievert-ul* (Sv) și reprezintă doza de radiație incidentă care produce în condiții identice aceleași efecte biologice ca și doza de 1 Gy provenită de la radiația X standard. Unitatea de măsură tolerată, des folosită în practică este *rem* (1 rem = 10⁻² Sv).

În practică se măsoară debitul (rata) echivalentului dozei, DR, este doza biologică dH corespunzătoare unității de timp de iradiere dt ,

$$DR = dH/dt$$

și care se exprimă în Sv/s (sau submultiplicii $\mu\text{Sv/h}$, nSv/h) sau rem/s. Valoarea maximă admisă a debitului de doză gama ambientală este de 0,250 $\mu\text{Sv/h}$.

- **Doza efectivă E** se definește ca suma pe întregul corp a dozelor echivalente din fiecare organ sau țesut, H_T , multiplicat cu un factor de ponderare per țesut, w_T :

$$E = \sum_T (w_T H_T) \quad (8)$$

Unitatea de măsură a dozei efective este *Sievert-ul* (Sv).

În Figura 5.4. este ilustrată diferența dintre doza echivalentă și cea efectivă, precum și dintre efectele diferitelor tipuri de radiații și sensibilitățile diferitelor organe la acțiunea acestora.

Aplicații ale radiațiilor ionizante

Aplicațiile radiațiilor ionizante se bazează pe interacțiunea cu materia și comportamentul radiațiilor în aceasta. Materialele radioactive și radiațiile ionizante sunt utilizate pe scară largă în medicină, industrie, agricultură, predare și cercetare.

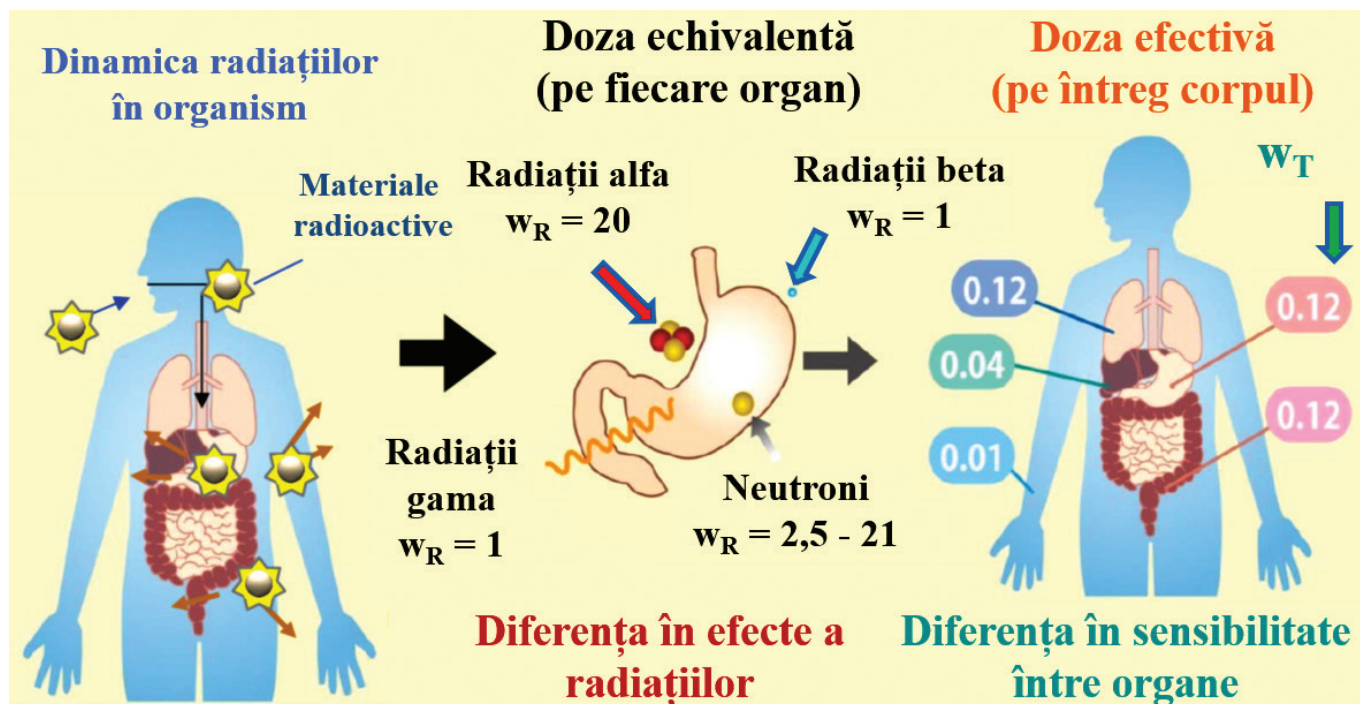


Figura 5.4. Diferența dintre doza echivalentă și cea efectivă, efectele radiațiilor și sensibilitatea diferitelor organe la acțiunea acestora

Adaptare după: <https://www.env.go.jp/en/chemi/rhm/basic-info/>

În medicină, utilizarea radiațiilor ionizante face parte din aplicarea tehnicilor de radiodiagnostic, radioterapie și medicină nucleară.

Radiodiagnosticul cuprinde setul de proceduri pentru vizualizarea și explorarea anatomiei umane folosind imagini și hărți. Unele dintre aceste aplicații sunt obținerea de radiografii prin intermediul razelor X pentru identificarea leziunilor și bolilor interne, utilizarea radioizotopilor în tomografia computerizată pentru a genera imagini tridimensionale ale corpului uman, fluoroscopie și radiologie intervențională, care permite monitorizarea vizuală a anumitor proceduri chirurgicale.

Radioterapia permite distrugerea celulelor tumorale și a țesuturilor prin aplicarea unor doze mari de radiații asupra acestora.

Medicina nucleară este o specialitate medicală care include utilizarea materialului radioactiv sub formă necapsulată pentru diagnostic, tratament și cercetare. Un exemplu este testul radioimunologic, o tehnică analitică de laborator utilizată pentru a măsura can-

titatea și concentrația de numeroase substanțe (hormoni, medicamente etc.) din probele biologice de la pacient.

În domeniul industrial, aplicațiile radiațiilor ionizante sunt multe și variate. Industria profită de capacitatea radiației de a trece prin obiecte și materiale și de faptul că activități neglijabile ale radionuclizilor pot fi măsurate rapid și cu precizie, oferind informații exacte despre distribuția lor spațială și temporală (Ene, 2006).

Unele dintre cele mai semnificative aplicații ale radiațiilor ionizante în industrie sunt sterilizarea materialelor; măsurarea grosimilor și densităților sau nivelurilor de umplere a rezervoarelor sau containerelor; măsurarea gradului de umiditate din materialele în vrac (nisip, ciment etc.) în producția de sticlă și beton; gammagrafie sau radiografie industrială pentru, de exemplu, verificarea îmbinărilor sudate în țevi; detectoare de securitate și supraveghere cu raze X în aeroporturi și clădiri oficiale; detectoare de fum; detectoare de scurgeri din conducte și analize de carbon-14

prin datare radioactivă pentru a determina cu exactitate vârsta diferitelor materiale.

Există, de asemenea, multe aplicații ale radiațiilor ionizante în agricultură și alimente, de exemplu pentru a determina eficiența absorbției îngrășămintelor de către plante, pentru a determina umiditatea unui teren și astfel pentru a optimiza resursele de apă necesare, pentru combaterea dăunătorilor și pentru a prelungi durata de valabilitate a alimentelor prin iradierea sa cu raze gama.

În afară de realizările tehnologice anterioare, utilizarea radiațiilor a reprezentat un avans incredibil în toate tipurile de activități de cercetare, cum ar fi studiile de biologie celulară și moleculară a cancerului, patologii moleculare, evoluția genetică, terapia genică, dezvoltarea medicamentelor etc.

Deșeuri radioactive

Deșeurile radioactive sunt generate ca urmare a proceselor desfășurate în diferitele tipuri de instalații nucleare și radioactive distribuite pe întreg teritoriul. Deșeurile radioactive pot fi generate ocazional ca urmare a incidentelor care implică materiale radioactive. Originea deșeurilor radioactive care sunt generate în prezent sau care au fost deja generate este următoarea:

- ❖ Funcționarea centralelor nucleare
- ❖ Funcționarea fabricilor de elemente de combustibil nuclear
- ❖ Funcționarea instalațiilor radioactive în scopuri industriale, medicale, agricole și de cercetare
- ❖ Exploatarea instalațiilor de depozitare definitivă a deșeurilor radioactive
- ❖ Reprocesarea combustibilului uzat de la centralele nucleare
- ❖ Demontarea și închiderea centralelor nucleare sau a unor instalații
- ❖ Sterilele din extracția uraniului și fabricarea concentratelor de uraniu
- ❖ Incidente care apar ocazional.

Aceste deșeuri sunt clasificate în diferite categorii, în funcție de tipul de management planificat sau implementat în prezent în diverse țări.

Regulamentul privind protecția sănătății împotriva radiațiilor ionizante definește activitățile și sarcinile care implică generarea, depozitarea sau manipularea deșeurilor care conțin radionuclizi naturali, mai bine cunoscute sub numele de **deșeuri NORM**.

Caracterizarea radiologică a deșeurilor constă în a verifica dacă conținutul radioactiv al acestora este sau nu mai mic decât nivelurile de declasificare legislate. Dacă conținutul radioactiv este mai mic sau egal cu nivelurile de declasificare, deșeurile pot fi gestionate prin mijloacele convenționale obișnuite, în conformitate cu reglementările legale aplicabile.

Nivelurile de declasificare pentru gestionarea deșeurilor NORM sunt cele recomandate de Uniunea Europeană în publicația sa *Aplicarea conceptelor de scutire și eliminare a surselor de radiații naturale* și au fost stabilite ținând cont de următoarele considerații:

- Doza efectivă anuală este de 300 μ Sv/an.
- Sunt luate în considerare toate căile de expunere la radiații (inhalare, ingestie, expunere externă).
- Sunt luate în considerare scenarii cuprinzătoare și parametri specifici.
- Sunt analizate toate căile de expunere în fiecare dintre scenariile luate în considerare, selectând cel mai restrictiv radionuclid pentru fiecare radionuclid și determinând activitatea specifică care ar da naștere la 300 μ Sv / an.

Ordinele ministeriale emise pe plan național impun ca gestionarea deșeurilor NORM să fie efectuată cu metode și proceduri pentru caracterizarea, clasificarea și gestionarea acestor deșeuri.

5.2. INTERACȚIA RADIAȚIILOR CU ȚESUTUL VIU ȘI RISCUL RADIOLOGIC

Interacția radiațiilor ionizante cu materia vie

Contaminarea radioactivă reprezintă transferul de material radioactiv din mediu la diferite structuri, obiecte sau organisme, fiind

externă (prin depunere pe suprafața receptorului) sau *internă* (prin pătrundere în interiorul receptorului).

Principalele căi de expunere a organismului uman la radiațiile ionizante sunt prin inhalare, ingerare, difuzie și penetrare a materialelor radioactive (contaminare internă), sau prin contact direct, cutanat, cu materiale radioactive depuse pe piele, păr, unghii (contaminare externă) (Bacalum, 2021) (Figura 5.5).

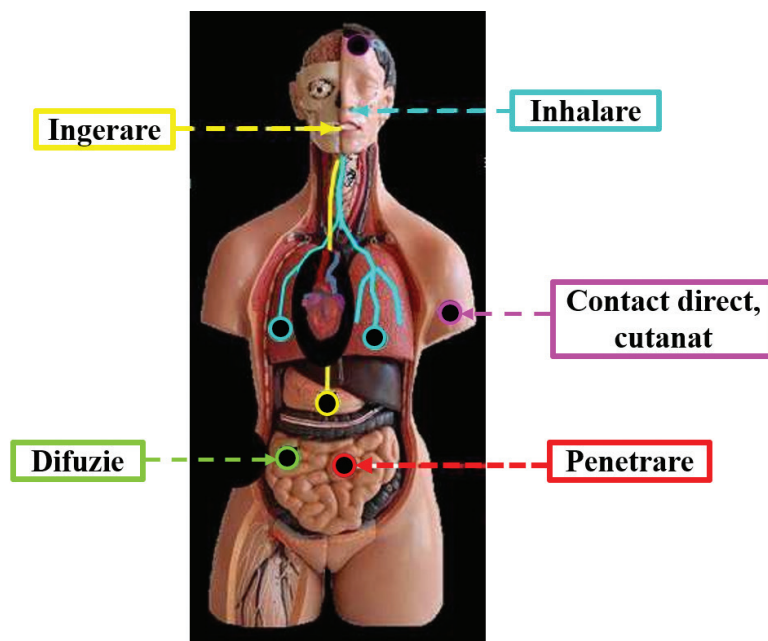


Figura 5.5. Căile de expunere a organismului uman la radiațiile ionizante

Figura 5.6. prezintă expunerea internă și externă a populației la radionuclizii și producții de fisiune rezultați din accidentele nucleare.

Radiația, atunci când pătrunde în materie și mai ales în cazul particulelor încărcate - alfa, protoni, fragmente de fisiune și electroni - tinde să rupă legăturile atomice care țin moleculele împreună în celule prin procesul de ionizare. Aceste modificări pot fi mai mult sau mai puțin grave, în funcție de doza de radiație primită.

Elementele esențiale în studiul **interacțiunii radiației cu materialul biologic** sunt legate de cantitatea de energie transferată și de tipul de energie transferată și de tipul de

energie în care se transformă, deci efectele iradierii depind de natura și energia radiației și de caracteristicile corpului care pot fi puse astfel în evidență (UNSCEAR, 2000; Creangă, 2005; Nat, 2005).

Principalele efecte sunt:

- excitări (electronice, nucleare, moleculare);
- ionizări;
- efecte chimice (reacții fotochimice, accelerarea unor reacții biochimice sau declanșarea altora, ruperi sau formări de legături etc);
- efecte termice (încălzire, denaturarea proteinelor, evaporarea apei, carbonizarea.

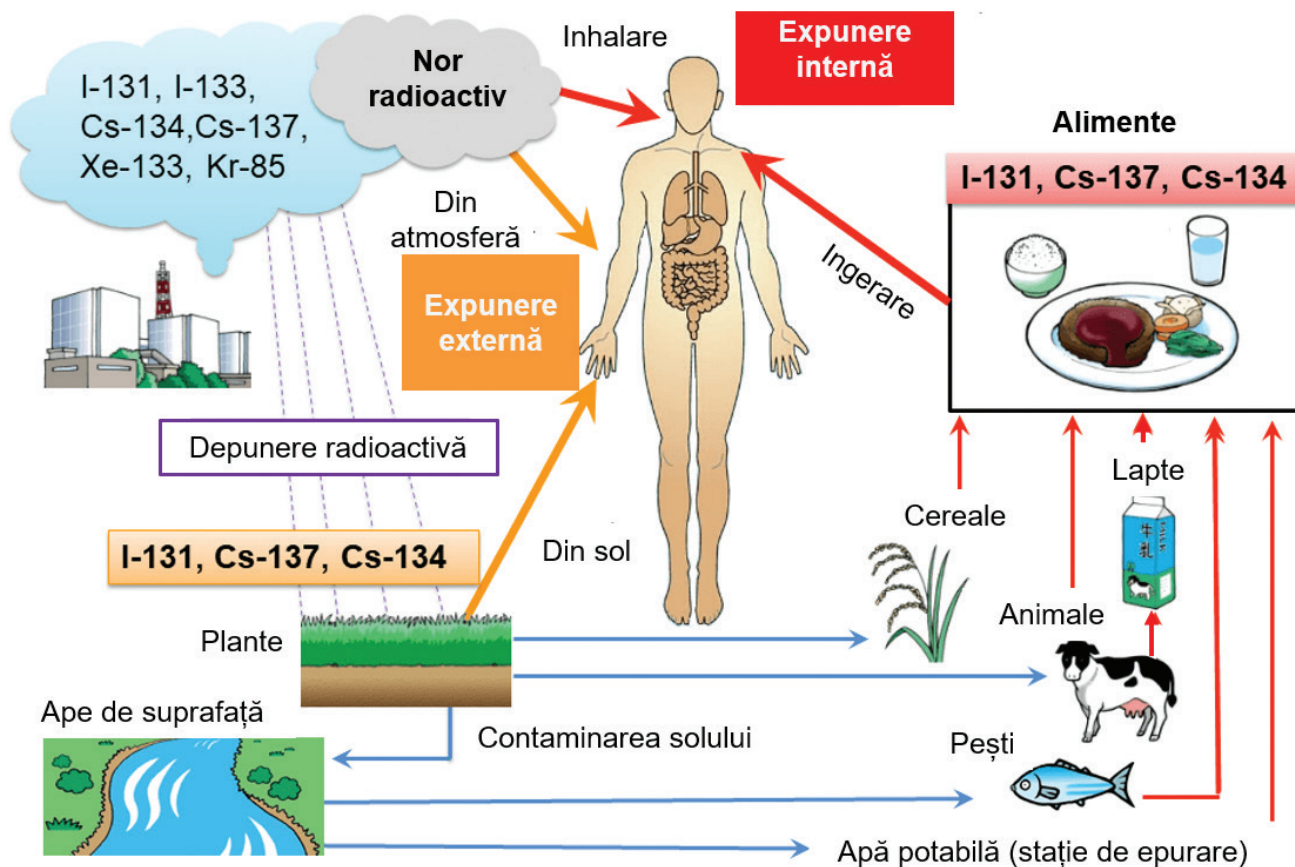


Figura 5.6. Expunerea internă și externă la radiații rezultate din accidentele nucleare
 Adaptare după: <https://www.env.go.jp/en/chemi/rhm/basic-info/>

Energia transferată organismului poate perturba, reversibil sau ireversibil, procese fiziologice.

Radiațiile penetrante pot acționa asupra substanței vii în trei moduri:

- prin acțiune directă,
- prin acțiune indirectă,
- prin acțiune la distanță.

Acțiunea directă apare ca urmare a excitațiilor și ionizărilor în celula vie și determină ruperea legăturilor chimice ceea ce conduce la distrugerea parțială sau totală a funcțiilor țesuturilor în organism, și implicit la perturbarea funcțiilor care lezează macromoleculele importante: proteine și aminoacizi.

Acțiunea indirectă conduce la apariția altor elemente chimice în urma proceselor radiochimice. Astfel, apa din țesuturi este ionizată, iar produsele de descompunere (ioni, radicali liberi etc.) devin agenți reducători sau oxidanți pentru moleculele din substanța vie.

Acțiunea la distanță provoacă răspândirea substanțelor radioactive și în zone neiradiate, contaminând radioactiv aceste zone.

Există două tipuri de efecte biologice ale radiațiilor ionizante (Nat, 2005):

- efecte somatice,
- efecte genetice.

Efectele somatice apar la individul iradiat sub formă de leziuni ale pielii, modificări ale compoziției sângelui, degradări ale oaselor, degradarea sistemului nervos, neoplasme etc.

Efectele genetice apar la generațiile următoare individului iradiat prin modificări ale codului genetic precum: malformații, aberații cromozomiale, deficiență mintală etc.

Efectul produs de radiațiile penetrante depinde de energia și intensitatea acestora, de timpul de expunere, dar și de sensibilitatea individului sau radiosensibilitatea sa.

Radiosensibilitatea este proprietatea celulelor, țesuturilor sau organelor de a răs-

punde prin modificări morfologice și funcționale, diferențiate calitativ și cantitativ în funcție de mărimea iradierii. Cele mai radiosensibile sunt celulele în fază de înmulțire (Nat, 2005).

Efectivitatea biologică este determinată de nivelul valorii energiei absorbite prin procese de iradiere, necesară pentru a produce un anumit efect biologic. Astfel, particulele care produc ionizare liniară mare sau au un *transfer liniar de energie* (TLE) mare (canti-

tatea de energie a radiației care se depozitează pe unitatea de lungime a parcursului său), precum particulele alfa sau protonii, conduc la efecte biologice mai puternice decât particulele care produc ionizare liniară mai mică, precum electronii.

În funcție de răspunsul (efecte) la doza de radiații primită, efectele biologice se împart în două grupuri (Figura 5.7) (Bacalum, 2021):

- Efecte deterministice
- Efecte stocastice

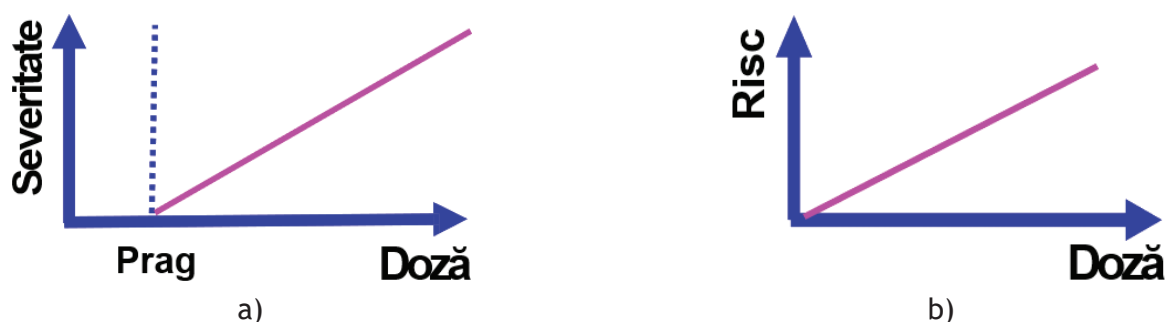


Figura 5.7. Relația doză-efect în cazul efectelor: a) deterministice; b) stocastice

Efectele deterministice se caracterizează printr-o relație de cauzalitate determinată (directă) între doză și efect iar reacțiile de răspuns ale organismului iradiat apar de la o anumită valoare minimă a dozei de radiații (*valoare prag*) și de aceea se mai numesc *efecte cu prag*. Acestea sunt evaluate în termeni de *severitate*: pentru orice valoare a dozei de radiații mai mare ca pragul, severitatea efectului devine mai accentuată pe măsura creșterii dozei (Figura 5.7a). Severitatea efectelor este dependentă de cantitatea de energie a radiațiilor care este absorbită de țesut, adică de TLE-; astfel, la radiațiile cu TLE mic (X, gama, particule beta de energie înaltă, țesutul absoarbe o fracție mică din energia incidentă, în timp ce la radiațiile cu TLE mare (particule alfa, neutroni), țesutul absoarbe o fracție mai mare din energia incidentă. Valoarea minimă a dozei de radiații la care efectul devine manifest variază de la un individ la altul și în raport cu condițiile de

iradiere, însă se manifestă numai la individul iradiat și nu se propagă și la descendenți (vizează numai celulele somatice, nu și celulele sexuale mature, implicate în funcția de reproducere) (Bacalum, 2021).

Efectele stocastice sunt reacții de răspuns ale organismului la orice nivel de iradiere, efectele putând să apară de la doze plasate sub dozele prag (*efecte fără prag* sau *efecte cu prag zero*). Acestea privesc consecințele iradierii la nivel populațional, fie că este vorba despre o populație de celule sau o populație de organisme ascultă de o *relație doză-efect de tip probabilistic*. Sunt evaluate în termeni de *risc*, riscul de apariție a lor într-o populație fiind proporțional cu doza încasată, șansele de a se produce mărindu-se pe măsura creșterii dozei, fără a influența însă și severitatea lor (Figura 5.7b). Efectele stocastice sunt asociate expunerilor pe termen lung (cronice) și la un nivel scăzut de iradiere. La nivelul organismului includ consecințele asu-

pra țesuturilor și organelor atunci când celulele nu sunt distruse ci doar transformate, când se produc modificări (mutații) în aparatul lor genetic, celulele mutante vor propaga în celulele rezultate din diviziunea lor o informație genetică alterată. Dacă iradierea are loc la nivelul celulelor somatice, atunci au loc *efecte corporale* (care se manifestă doar la individul iradiat); după o perioadă mai îndelungată și variabilă - pot conduce cel mai probabil spre cancerizare (neoplazie)/aparitia cancerului radioindus. Dacă iradierea are loc la nivelul celulelor sexuale, atunci au loc *efecte ereditare* (care sunt transmise la urmașii individului iradiat); după o perioadă mai îndelungată și variabilă - pot conduce cel mai probabil spre cancerizare (neoplazie)/aparitia cancerului radioindus (Bacalum, 2021).

În cazul în care materia este un țesut biologic cu un conținut ridicat de apă, ionizarea moleculelor de apă poate da naștere la așa-numiții *radicali liberi* care prezintă o mare reac-

tivitate chimică, suficientă pentru a modifica moleculele importante care fac parte din țesuturile ființelor vii. Aceste modificări pot include modificări chimice în ADN, molecula organică de bază care face parte din celulele care alcătuiesc corpul nostru (Figura 5.8).

În Figura 5.9. sunt prezentate tipurile de modificări celulare provocate de radiațiile ionizante.

Riscul asupra sănătății

Creșterea și diversificarea utilizării izotopilor radioactivi și a energiei nucleare determină și o amplificare a riscului de radiocontaminare a mediului și a organismelor vii. Radionuclizii care ajung în aer, apă și sol afectează biosfera prin lanțurile trofice și sunt transferați și în organismul uman (UNSCEAR, 2000). Investigarea nivelului de radioactivitate a mediului și evaluarea riscului pentru sănătate al radionuclizilor care emit diferite

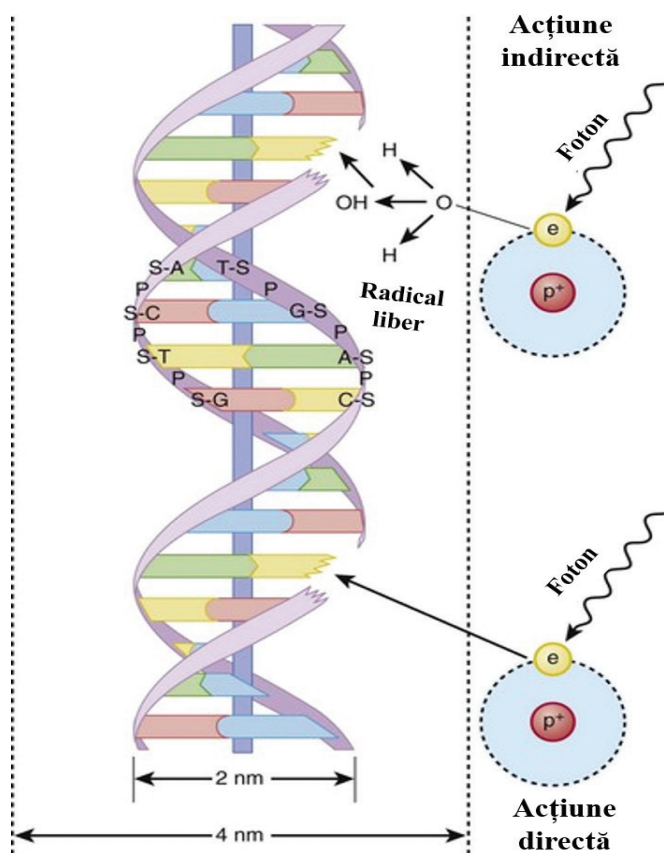


Figura 5.8. Modificări în ADN provocate de acțiunea directă și indirectă a radiațiilor ionizante

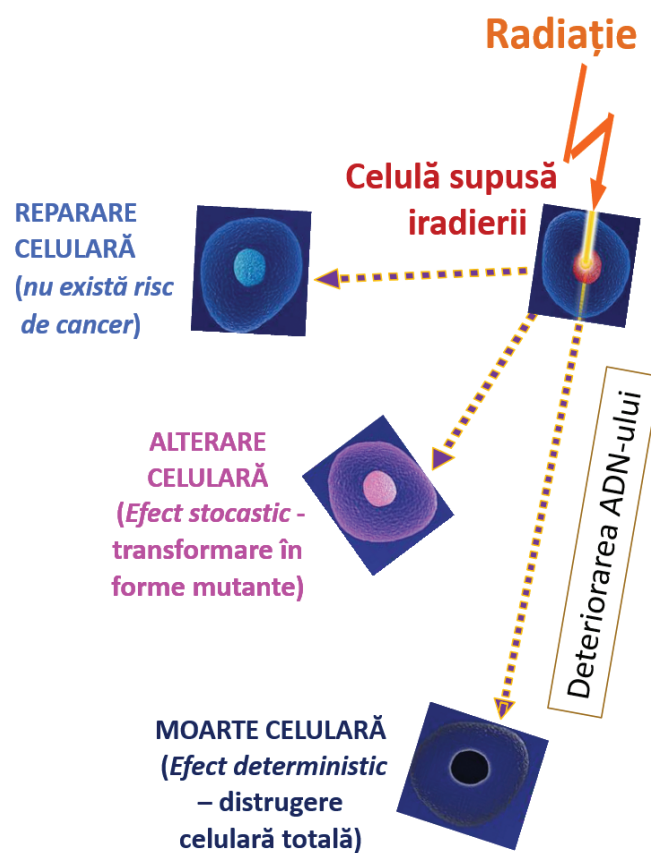


Figura 5.9. Modificări celulare provocate de radiațiile ionizante

tipuri de radiații sunt de o mare importanță în gestionarea mediului și evaluarea pericolelor radiologice pentru sănătatea populației și ecosisteme.

Comitetul științific al Națiunilor Unite privind efectele radiațiilor atomice (UNSCEAR, 2000) a estimat, la nivel global, că sursele naturale au o contribuție la doza efectivă anuală de 2,4 mSv an⁻¹; din aceasta, 1,2 mSv se datorează radonului, 0,5 mSv radiațiilor gamma terestre, 0,4 mSv radiațiilor cosmice și 0,3 mSv ingestiei de alimente și apă. La această doză se mai adaugă contribuția fondului artificial de radiații, de 0,6 mSv an⁻¹.

Comisia Internațională de Protecție Radiologică și OMS/WHO au inițiat măsuri de micșorare a expunerii populației și au prescris limite ale concentrațiilor radionuclizilor în alimente și apă potabilă și coeficienți de risc pentru populație (ICRP, 2007), pe categorii de vârstă (Pintilie et al., 2016, 2017, 2018a,b), precum și concentrații permise ale radonului în locuințe și spații publice (300 Bq m⁻³) (WHO, 2009).

Utilizând factorii de conversie publicați de Agenția Internațională pentru Energie Atomică (IAEA, 2014) și rata anuală a consumului unui aliment, se poate estima doza efectivă anuală, Def, folosind următoarea formula (Pintilie et al., 2016, 2018b):

$$Def = \sum (A_x \times R \times CF) \text{ Sv an}^{-1}$$

unde: A_x este concentrația radionuclidului X (X = 210Po, 210Pb, 238U, 232Th, 40K, 226Ra, etc.) (Bq kg⁻¹), R este consumul anual de aliment (kg an⁻¹) sau apă (L an⁻¹), iar CF este doza efectivă factor de conversie pentru adulți sau copii (Sv Bq⁻¹). Spre exemplu, pentru calcule se pot utiliza următorii factori de conversie a dozei pentru adulți (în Sv Bq⁻¹) (IAEA, 2014): $1,2 \times 10^{-6}$ pentru 210Po, $6,9 \times 10^{-7}$ Sv Bq⁻¹ pentru 210Pb, $4,5 \times 10^{-8}$ pentru 238U, $2,3 \times 10^{-7}$ pentru 232Th, $6,9 \times 10^{-9}$ pentru 40K și $2,8 \times 10^{-7}$ pentru 226Ra.

Evaluarea riscului de cancer pe toată durata vieții (LR) se efectuează utilizând formula:

$$LR = Def \times L \times RF$$

unde:

LR reprezintă riscul de cancer pe viață, Def este doza anuală efectivă (Sv an⁻¹), L este durata vieții (ani) și RF este factorul de risc pentru cancerul fatal pentru întreaga populație (Sv⁻¹). Doza efectivă anuală din ingestia de radionuclizi din seriile de uraniu și toriu raportată de UNSCEAR (2000) este 110 μSv an⁻¹ (pentru adulți). Valoarea coeficientului RF de risc nominal ajustat la detriment pentru cancer și efectele ereditare, publicat de Comisia Internațională pentru Protecție Radiologică (ICRP, 2007), este de $5,7 \times 10^{-2} \text{ Sv}^{-1}$.

În cazul radionuclizilor din soluri sau materiale de construcții, pe baza valorilor activității de concentrație a radionuclizilor naturali sau originari din seriile naturale, A_x , riscul de pericol trebuie calculat utilizând debitul total al dozei absorbite în aer liber la 1 m deasupra suprafeței solului datorită emisiilor de radiații γ în aer de către radionuclidul terestru X (X = ²²⁶Ra, ²³²Th, și ⁴⁰K), folosind următoarele ecuații (UNSCEAR, 2000; Ene & Pantelica, 2011b; Ene et al., 2020; Moghazy et al., 2021):

➤ **Activitatea echivalentă de raiu (Ra_{eq}):**

$$Ra_{eq} = A_{Ra} + 1,43A_{Th} + 0,077A_K \leq 370$$

➤ **Debitul dozei gama absorbite în aer (D), nGy/h:**

$$D = 0,462A_{Ra} + 0,621A_{Th} + 0,0417A_K < 57$$

➤ **Indicele nivelului de radioactivitate gama (I_γ):**

$$I_\gamma = \frac{A_{Ra}}{300} + \frac{A_{Th}}{200} + \frac{A_K}{3000} \leq 1$$

➤ **Indicele de hazard extern (H_{ex})**

$$H_{ex} = \frac{A_{Ra}}{370} + \frac{A_{Th}}{259} + \frac{A_K}{4810} \leq 1$$

➤ **Indicele de hazard intern (H_{in})**

$$H_{in} = \frac{A_{Ra}}{185} + \frac{A_{Th}}{259} + \frac{A_K}{4810} \leq 1$$

Bibliografie

- Angelescu T., Bercea S., Dului O., Haranguș L., Oncescu M., Pop M. (2005), Probleme rezolvate de dozimetrie și radioprotecție, Editura Universității din București, București;
- Bacalum M. (2021), Efectele biologice ale radiațiilor, Curs Securitate radiologică în practici cu surse de radiații ionizante, pregătire continuă (reciclare), nivel 2, CPSSD IFIN-HH, Măgurele.
- Creangă D. (2005) Elemente de radiobiologie, Editura Cermi, Iași.
- Ene, A. (2002), Fizica - volumul II, Editura Fundatiei Universitare Dunarea de Jos, Galati, 252 pag., ISBN 973-8352-73-8.
- Ene, A., 2006, Tehnici radiometrice de analiza si control (E-book), Editura Fundatiei Universitare Dunarea de Jos din Galati, 345 pagini, ISBN (10) 973-627-308-3 si ISBN (13) 978-973-627-308-7.
- Ene, A., Pantelica, A. (2011a), Tehnici analitice atomice și nucleare utilizate în monitorizarea mediului, Galati University Press, 100 pagini, ISBN 978-606-8348-17-9.
- Ene A. (2006) Tehnici radiometrice de analiză și control, Editura Fundatiei Universitare „Dunărea de Jos”, Galați ;
- Ene, A., Nat, A. (1999), Indrumar de laborator de fizica atomica si nucleara, Universitatea Dunarea de Jos, Galati, 154 pag.
- Ene, A., Pantelica, A., 2011a, Tehnici analitice atomice și nucleare utilizate în monitorizarea mediului, Galati University Press, 100 pag.
- Ene, A., Pantelica A., 2011b, Characterization of metallurgical slags using low-level gamma-ray spectrometry and neutron activation analysis, *Rom. Journal Phys.* 56 (7-8), 1011-1018.
- Ene A., Pantelica A., Frontasyeva M., Sloata F., 2020, Low-background high resolution gamma-ray spectrometry applied for assessment of natural and artificial radioactivity of industrial soils in Danube River region (SE Romania) and health risk, International Conference „Environmental Challenges in the Black Sea Basin: Impact on Human Health”, Galati, Romania, 23-26.09.2020.
- Ene A., Vodarici L., 2020, Active measurement methods of indoor radon and thoron in selected spaces in Galati town, MONITOX International Conference “Environmental Toxicants in Freshwater and Marine Ecosystems in the Black Sea Basin”, Kavala, Greece, September 8th-11th, 2020, p.34, S1.17, IL.B.6.
- Gaspar E., Șerban D. (1976) Elemente de radioprotecție, Editura tehnică, București;
- IAEA (2014), International Atomic Energy Agency, Radiation Protection and Safety of Radiation Sources: International Basic Safety Standards.
- ICRP (2007), International Commission on Radiological Protection, The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. Annals of ICRP, Publication 103.
- Marcu G., Marcu T. (1996) Elemente radioactive, Editura Tehnică București.
- Moghazy N.M., El-Tohamy A.M., Fawzy M. M., Awad H.A., Zakaly H.M.H., Issa S.A.M., Ene A., 2021, Natural Radioactivity, Radiological Hazard and Petrographical Studies on Aswan Granites Used as Building Materials in Egypt, *Applied Sciences* 11 (14), 6471.
- Nat A. (1998) Fizică atomică și nucleară, Universitatea „Dunărea de Jos”, Galați.
- Nat A. (2005), Biofizica medicală, Ed. Cartea Universitară, București.
- Nat, A., Ene, A. (2003a), Fizica atomica si nucleara. Culegere de probleme, Editura Cartea Universitara, Bucuresti, 354 pag, ISBN 973-7956-12-5.
- Nat, A., Ene, A., 2003b, Indrumar de laborator de fizica - editia II revizuita si adaugita, Editura Cartea Universitara, Bucuresti, 131 pag, ISBN 973-7956-42-7.
- Pantelica A., Apostol A., Ene A., 2019, Naturally occurring radionuclides in some phosphogypsum based building materials determined by gamma-ray spectrometry, International Symposium on Natural Radiation Sources - Challenges, Approaches and Opportunities, 21-24 May 2019, Bucharest, Romania.
- Pintilie V, Ene A, Georgescu P L, Moraru L, Iticescu C (2016) Measurements of gross alpha and gross beta activity in drinking water from Galati region, Romania. *Romanian Reports in Physics* 68(3), 1208-1220.
- Pintilie V, Ene A, Georgescu L P, Moraru D I (2017) Gross alpha, gross beta and ⁴⁰K activities and daily effective dose due to natural radionuclides from food supplements. *Romanian Journal of Physics* 62(7-8), 703.
- Pintilie V, Ene A, Georgescu L P, Moraru D I, Pintilie A. (2018a) Determination of gross alpha, gross beta, and natural radionuclides (²¹⁰Po, ²¹⁰Pb, ²³⁸U, ²³²Th and ⁴⁰K) activity concentrations in bread and their contribution to the effective dose. *Romanian Journal of Physics*, 63(1-2), 801.
- Pintilie V., Antoaneta Ene, et al., Gross alpha, gross beta and radionuclides (²¹⁰Po, ²¹⁰Pb, ²³⁸U, ²³²Th, ²²⁶Ra and ⁴⁰K) exposure assessment due to meat consumption, 2018b, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 318(2), 991-1000, DOI:10.1007/s10967-018-6156-y.
- UNSCEAR (2000), United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, *Report to the General Assembly, with scientific annexes*, Vol. 1: Sources and Effects of Ionising Radiation, 2000
- WHO (2009), WHO handbook on indoor radon: a public health perspective / edited by Hajo Zeeb and Ferid Shannoun.

Resurse internet

<https://www.env.go.jp/en/chemi/rhm/basic-info/>
<https://www.freepik.com/free-photos-vectors/radioactive>
<https://www.shutterstock.com/search/radiation+human+body>
<https://www.csn.es/usos-de-las-radiaciones>
<https://www.enec.gov.ae/discover/fueling-the-barakah-plant/what-is-radiation-/>
<http://www.anpm.ro/ro/efectele-radiatiilor-asupra-sanatatii-oamenilor>
<https://www.nuklearesicherheit.de/en/science/physics/ionising-radiation/types-of-ionising-radiation/>
<https://radiologykey.com/radiation-bioeffects-risks-and-radiation-protection-in-medical-imaging-in-children/>



The editor of the material:

Institute of Zoology, Republic of Moldova
Center of Research of Hydrobiocenoses
and Ecotoxicology,
1, Academiei Str., Chisinau, MD 2028
Phone: +373 22 737509
E-mail: izoolasm@yahoo.com
Website: <https://zoology.md>

Joint Operational Programme Black Sea Basin 2014-2020
Institute of Zoology
September 2021

Joint Operational Programme Black Sea Basin 2014-2020 is co-financed by the European Union through the European Neighbourhood Instrument and by the participating countries: Armenia, Bulgaria, Georgia, Greece, Republic of Moldova, Romania, Turkey and Ukraine.

This publication was produced with the financial assistance of the European Union. Its contents are the sole responsibility of *Institute of Zoology* and do not necessarily reflect the views of the European Union.