

**IOSUD – UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS” DIN GALAȚI**

**Școala doctorală de Inginerie mecanică și industrială**



# **TEZĂ DE DOCTORAT REZUMAT**

## **Studiu privind transportul poluanților industriali în ecosistemele acvatice**

**Doctorand,**

**Valentina - Andreea CĂLMUC**

**Conducător științific,**

**Prof. univ. dr. ing. Puiu-Lucian GEORGESCU**

**Seria I 4: Inginerie industrială Nr. 98**

**GALAȚI**

**2024**

IOSUD – UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS” DIN GALAȚI

Școala doctorală de Inginerie mecanică și industrială



# TEZĂ DE DOCTORAT

## REZUMAT

### Studiu privind transportul poluanților industriali în ecosistemele acvatic

Doctorand,

Valentina - Andreea CĂLMUC

<b>Președinte</b>	<b>Prof. univ. dr. ing. Eugen-Victor-Cristian RUSU</b> Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați
<b>Conducător științific</b>	<b>Prof. univ. dr. ing. Puiu-Lucian GEORGESCU</b> Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați
<b>Referenți științifici</b>	<b>Prof. univ. dr. habil. Cătălina ITICESCU</b> Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați <b>Prof. univ. dr. ing. Daniel CONDURACHE</b> Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” din Iași <b>Prof. univ. dr. ing. Cătălin Gabriel DUMITRAȘ</b> Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” din Iași

Seria I 4: Inginerie industrială Nr. 98

GALAȚI

2024

**Seriile tezelor de doctorat susținute public în UDJG începând cu 1 octombrie 2013 sunt:**

**Domeniul fundamental ȘTIINȚE INGINERESTI**

- Seria I 1: **Biotehnologii**
- Seria I 2: **Calculatoare și tehnologia informației**
- Seria I 3: **Inginerie electrică**
- Seria I 4: Inginerie industrială**
- Seria I 5: **Ingineria materialelor**
- Seria I 6: **Inginerie mecanică**
- Seria I 7: **Ingineria produselor alimentare**
- Seria I 8: **Ingineria sistemelor**
- Seria I 9: **Inginerie și management în agricultură și dezvoltare rurală**

**Domeniul fundamental ȘTIINȚE SOCIALE**

- Seria E 1: **Economie**
- Seria E 2: **Management**
- Seria E 3: **Marketing**
- Seria SSEF: **Știința sportului și educației fizice**
- Seria SJ: **Drept**

**Domeniul fundamental ȘTIINȚE UMANISTE**

- Seria U 1: **Filologie- Engleză**
- Seria U 2: **Filologie- Română**
- Seria U 3: **Istorie**
- Seria U 4: **Filologie - Franceză**

**Domeniul fundamental MATEMATICĂ ȘI ȘTIINȚE ALE NATURII**

- Seria C: **Chimie**

**Domeniul fundamental ȘTIINȚE BIOMEDICALE**

- Seria M: **Medicină**
- Seria F: **Farmacie**

## Mulțumiri

Realizarea prezentei teze de doctorat a putut fi posibilă cu implicarea mai multor persoane speciale care au avut o contribuție importantă atât la formarea mea profesională cât și la susținerea morală.

Cu această ocazie, doresc să aduc sincere mulțumiri conducătorului științific al tezei de doctorat, **dl. Prof. univ. dr. ing. Puiu - Lucian Georgescu** care mi-a oferit șansa de a face parte din echipa de cercetare coordonată de domnia sa, m-a sprijinit pe toată perioada doctoratului, mi-a împărtășit din vastele dumnealui cunoștințe și mi-a călăuzit pașii spre un drum presărat cu reușite și satisfacții în lumea nemărginită a cercetării, pentru toate aceste lucruri îi sunt veșnic recunoscătoare.

Mulțumiri deosebite doresc să aduc și membrilor comisiei de îndrumare printre care se numără **d-na Prof. univ. dr. habil. Cătălina Iticescu** care mi-a fost alături în toate momentele grele, dar și frumoase și care a reușit să mă motiveze de fiecare dată când unele lucruri păreau imposibil de realizat. De asemenea, doresc să adresez mulțumiri și **d-nei Conf. univ. dr. Mihaela Timofti** alături de care am petrecut mult timp valoros pentru a reuși să ducem la bun sfârșit proiectele care au contribuit la formarea mea ca viitor cercetător. Alese mulțumiri aduc și **d-lui Prof. univ. dr. habil. Gabriel Murariu** pentru îndrumarea științifică acordată pe toată perioada studiilor doctorale.

Profunde mulțumiri îi adresez **d-nei Prof. univ. dr. habil. Carmen Chițescu** care mi-a împărtășit cu multă dăruire din cunoștințele și experiența dumneaei în domeniul cromatografiei și pentru care îi sunt pe deplin recunoscătoare. Sincere mulțumiri îi aduc și **d-lui Conf. univ. dr. Alin Dîrțu** care a avut plăcerea de a îmi oferi informații prețioase referitoare la modul de realizare a analizelor de laborator.

Doresc să le mulțumesc referenților acestei teze de doctorat pentru acceptul și bunăvoința de a recenza această lucrare: **dl. Academician prof. univ. dr. ing. Eugen-Victor-Cristian Rusu** – „Universitatea Dunărea de Jos” din Galați, **d-na Prof. univ. dr. habil. Cătălina Iticescu** – „Universitatea Dunărea de Jos” din Galați, **dl. Academician prof. univ. dr. ing. Daniel Condurache** – Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” din Iași și **dl. Prof. univ. dr. ing. Cătălin Gabriel Dumitraș** – Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi”.

Pe această cale doresc să le mulțumesc colegilor mei: **Lect. univ. dr. Maxim Arseni, S.L. dr. Ștefan Petrea, S.L. dr. Ira Simionov, Lect. univ. dr. Adrian Roșu, Ing. dr. Daniel Constantin, Prof. univ. dr. habil. Dragoș Cristea** care au fost alături de mine pe întregul stagiul doctoral, m-au sprijinit în desfășurarea activităților de cercetare, m-au încurajat și mi-au oferit sfaturi prețioase care m-au ajutat să finalizez teza de doctorat.

Nu în ultimul rând, doresc să îi mulțumesc surorii mele, mamei mele și tatălui meu, îngerul meu păzitor, care mi-au fost mereu alături, m-au sprijinit, m-au înțeles și mi-au oferit încrederea de care am avut nevoie pentru a finaliza această etapă importantă a vieții mele.

Cu deosebit respect,  
**Drd. Valentina-Andreea Călmuc**

## Cuprins

*Rezumat Teză*

<b>Mulțumiri .....</b>	<b>IV</b>
<b>Cuprins.....</b>	<b>V</b>
<b>Introducere.....</b>	<b>VII</b>
<b>Capitolul 1. Poluarea mediului cu poluanți industriali. Stadiul actual al cercetării</b>	<b>10 21</b>
1.1    Tipuri de poluanți industriali și importanța monitorizării acestora .....	10 21
1.2    Poluarea mediului acvatic cu metale grele.....	10 21
1.2.1    Surse de poluare cu metale grele .....	10 21
1.2.2    Toxicitatea metalelor grele.....	10 23
1.3    Poluarea mediului acvatic cu substanțe farmaceutice.....	10 23
1.3.1    Surse de poluare a mediului cu compuși farmaceutici .....	11 25
1.3.2    Riscuri și efecte toxice ale produselor farmaceutice în mediul înconjurător .....	11 26
1.3.3    Reglementări legislative referitoare la compușii farmaceutici detectați în mediu .....	11 30
<b>Capitolul 2. Studiu privind transportul metalelor grele în sedimentele din straturile superficiale din bazinul inferior al fluviului Dunărea .....</b>	<b>12 33</b>
2.1    Obiectivele studiului.....	12 33
2.2    Zona de studiu.....	12 33
2.3    Materiale și metode .....	13 34
2.4    Rezultate și discuții.....	13 37
2.4.1    Distribuția spațio-temporală a Indicelui de geo-acumulare (Igeo).....	13 39
2.4.2    Distribuția spațio-temporală a Indicelui de încărcare cu poluare (PLI).....	14 40
2.4.3    Distribuția spațio-temporală a Indicelui de risc ecologic potențial (RI).....	15 43
<b>Capitolul 3. Studii privind prezența compușilor farmaceutici în ecosisteme acvatice .....</b>	<b>16 45</b>
3.1    Obiectivele generale ale studiului .....	16 45
3.2    Zonele de studiu .....	16 45
3.3    Materiale și metode .....	16 46
3.3.1    Extracția compușilor farmaceutici din probe lichide.....	17 48
3.3.2    Extracția compușilor farmaceutici din probe solide .....	17 51
3.3.3    Tehnici de analiză instrumentală a probelor de mediu .....	18 58
3.3.4    Metode de analiză calitativă și cantitativă a compușilor farmaceutici din probe de mediu .....	19 63
3.4    Rezultate experimentale și discuții privind prezența compușilor farmaceutici în bazinul inferior al fluviului Dunărea .....	20 66
3.4.1    Rezultatele aplicării metodelor de analiză.....	20 66

3.4.2	Distribuția spațio-temporală a compușilor farmaceutici în probe de apă de suprafață .....	22	73
3.4.3	Acumularea compușilor farmaceutici în sedimentele Dunării .....	29	86
3.4.4	Acumularea compușilor farmaceutici în țesut de pește .....	31	89
3.4.5	Instrument predictiv bazat pe un cadru analitic suport în vederea creșterii sustenabilității activității de monitorizare a poluanților industriali din apa bazinului inferior al Dunării .....	36	101
<b>Capitolul 4. Metode de degradare a compușilor farmaceutici.....</b>		<b>43</b>	<b>118</b>
4.1	Obiectivele studiului.....	43	118
4.2	Descrierea experimentală.....	43	118
4.3	Rezultate și discuții.....	44	121
<b>Capitolul 5. Concluzii finale, contribuții personale și direcții viitoare de cercetare .....</b>		<b>48</b>	<b>139</b>
<b>Bibliografie.....</b>		<b>56</b>	<b>147</b>

**Cuvinte cheie:** poluanți industriali, ecosisteme acvatice, metale grele, compuși farmaceutici, bazinul inferior al fluviului Dunărea, ihtiofaună, inteligență artificială, fotodegradare

## Introducere

Prezenta teză de doctorat intitulată "*Studiu privind transportul poluanților industriali în ecosistemele acvatice*" abordează o tematică de actualitate în domeniul Ingineriei industriale care vizează evaluarea impactului industriei asupra mediului acvatic utilizând tehnici avansate de analiză.

Contaminarea mediului acvatic reprezintă o consecință gravă a deversării poluanților industriali. Apa este una dintre cele mai valoroase resurse naturale de care dispune omenirea și care se află într-o continuă amenințare. Creșterea populației a adus cu sine și creșterea nevoilor care au putut fi satisfăcute printr-o industrializare rapidă [1]. La rândul său, industria a contribuit într-o mare măsură la generarea de deșeuri care au efecte toxice asupra mediului prin contaminarea apei, aerului și solului.

Cercetările efectuate au o abordare metodologică și structurală diferită față de forma clasică. Înainte de demararea cercetărilor propriu-zise pentru teza de doctorat, care s-a axat mai mult pe analiza compușilor farmaceutici din mediul acvatic, am fost implicată direct într-un studiu extins care a urmărit evaluarea prezenței metalelor grele în ecosistemele acvatice pe zona principală a Bazinului hidrografic al Dunării de Jos în anii 2018 și 2019. Prezența acestei structuri denotă și evoluția mea de la realizarea de experimente relativ simple până la sisteme integrate experimentale folosind echipamente analitice complexe de top la nivel mondial.

Astfel, în prezenta teză de doctorat s-au studiat două tipuri de poluanți care provin într-o proporție mare din activitățile industriale. În prima parte a tezei s-a studiat impactul industriei asupra nivelului de contaminare a sedimentelor din bazinul inferior al fluviului Dunărea cu metale grele întrucât zona studiată este expusă la importante surse care au potențial de poluare cu acest tip de contaminanți. O parte importantă din teza de doctorat s-a concentrat pe evaluarea prezenței unor clase de substanțe farmaceutice în mediul acvatic, având în vedere faptul că, industria farmaceutică este unul dintre sectoarele cu cea mai rapidă creștere din economia mondială datorită cererii mari pe piață prin prisma faptului că derivații farmaceutici se constituie în produse majore de consum și, pe cale de consecință, devin deșeuri regăsite în mediu [2].

Toate aceste argumente au stat la baza realizării prezentei teze de doctorat menită să aducă o contribuție importantă la nevoia existenței unei monitorizări continue a calității ecosistemelor acvatice și a impactului activităților industriale asupra mediului.

### **Obiectivele principale ale tezei sunt următoarele:**

- Realizarea unui studiu privind transportul metalelor grele în sedimentele din zona riverană municipiilor industriale Brăila, Galați și Tulcea;
- Evaluarea impactului activităților industriale asupra poluării sedimentelor cu metale grele și determinarea potențialului toxic al acestora utilizând indici de calitate;
- Studiarea unei clase de poluanți emergenți (compuși farmaceutici) insuficient investigată în zona patrimoniului mondial UNESCO, Delta Dunării;
- Optimizarea unor metode eficiente de extracție și analiză a compușilor farmaceutici din probe de mediu;
- Analiza transportului substanțelor farmaceutice în apa Dunării, în cea mai complexă arie studiată până în prezent, zonă care cuprinde tipuri diferite de ecosisteme acvatice de suprafață (fluvial, predeltaic și deltaic);
- Evaluarea variației temporale a prezenței compușilor farmaceutici în apa Dunării;

- Studiarea statistică a interdependențelor dintre diferiți compuși farmaceutici analizați din probe de apă;
- Analiza substanțelor farmaceutice din diferite specii de pești autohtone bazinului fluviului Dunărea;
- Integrarea studiilor apă-sediment-pești din bazinul inferior al Dunării privind analiza prezenței compușilor farmaceutici;
- Cercetări asupra unor metode de degradare a unor clase de substanțe farmaceutice sub influența radiațiilor UV-C care să poată fi adaptată stațiilor de epurare;

**Caracterul de noutate** al tezei de doctorat este reliefat de abordarea complexă a mai multor studii originale care s-au concentrat pe evaluarea impactului activităților antropice asupra calității ecosistemelor acvatice ale bazinului inferior al fluviului Dunărea, printre care se numără următoarele:

- Calculul indicilor de calitate pentru probele de sedimente studiate s-a realizat în premieră pe sectorul monitorizat în prezenta teză;
- Studiarea transportului și variației temporare a unei clase de poluanți industriali puțin studiate pe sectorul românesc al fluviului Dunărea, reprezentată de compuși farmaceutici;
- Studiarea efectelor generate de pandemia COVID-19 asupra nivelului de contaminare a apei de suprafață cu diferite clase de substanțe farmaceutice pe o zonă extinsă și complexă a bazinului Dunării de Jos;
- Dezvoltarea unui instrument predictiv în vederea creșterii eficienței activității de monitorizare a compușilor farmaceutici din apa bazinului inferior al Dunării;
- Cercetarea în premieră a comportamentului și transportului unor clase de substanțe farmaceutice în mediul natural prin abordarea integrată a analizei sistemului apă – sediment – biotă în zona Dunării;
- Testarea într-o manieră originală a unei metode de eliminare a unor clase de substanțe farmaceutice care să implice un consum redus de resurse;

Teza de doctorat este structurată pe 5 capitole, introducere și bibliografia care a fost consultată pentru a realiza o abordare cât mai complexă a studiilor prezentate.

În **Introducerea** tezei este prezentată motivația alegerii temelor de cercetare abordate, caracterul de noutate pe care îl aduce prezenta teză și obiectivele principale care au stat la baza realizării acesteia.

**Capitolul 1. Poluarea mediului cu poluanți industriali. Stadiul actual al cercetării** sintetizează informații despre importanța monitorizării transportului poluanților industriali prezenți în ecosistemele acvatice și aspecte generale despre contaminanții studiați. De asemenea, au fost menționate studiile relevante care s-au realizat până în prezent pe aceste clase de poluanți industriali.

**Capitolul 2. Studiu privind transportul metalelor grele în sedimentele din straturile superficiale din bazinul inferior al fluviului Dunărea** cuprinde o gamă largă de experimente realizate pe probe de sedimente prelevate în sezoane diferite din fluviul Dunărea pentru a evalua impactul pe care îl au activitățile antropice asupra nivelului de contaminare cu metale grele.

**Capitolul 3 Studii privind prezența compușilor farmaceutici în ecosisteme acvatice** cuprinde diferite cercetări care au avut ca principal scop identificarea și cuantificarea unor clase de compuși farmaceutici din probe biotice și abiotice colectate din ecosistemul acvatic natural. Primul studiu prezintă variația spațio-temporală a concentrațiilor de substanțe farmaceutice identificate în probele apă prelevate din bazinul inferior al fluviului Dunărea și



relațiile statistice stabilite între acestea. Celelalte sub-capitole studiază capacitatea acestor contaminanți de a se acumula în sedimente și specii de pești colectați din Dunăre.

În **Capitolul 4** intitulat *Metode de degradare a compușilor farmaceutici* sunt prezentate diferite experimente de laborator care au avut la bază testarea unei metode de degradare a diferitor clase de substanțe farmaceutice care să poată fi adaptată la stațiile de epurare a apelor uzate cu un consum minim de resurse. Această metodă a presupus expunerea la radiații UV-C a unor soluții de substanțe farmaceutice aflate în concentrații similare cu cele din apele uzate.

**Capitolul 5** *Concluzii finale, contribuții personale și direcții viitoare de cercetare* însumează cele mai importante rezultate obținute în urma efectuării studiilor care au stat la baza realizării tezei de doctorat printr-o contribuție personală majoră. De asemenea, au fost prezentate și viitoarele teme de cercetare care vor fi dezvoltate și pentru care prezenta teză de doctorat reprezintă un reper important.

## **Capitolul 1. Poluarea mediului cu poluanți industriali. Stadiul actual al cercetării**

### **1.1 Tipuri de poluanți industriali și importanța monitorizării acestora**

Creșterea exponențială a industrializării a determinat degradarea mediului înconjurător [3]. Mediul acvatic colectează o varietate largă de contaminați industriali toxici, printre care se numără: metale grele, solvenți, îngrășăminte, pesticide, produse de uz casnic (detergenți, vopsele), hidrocarburi petroliere, produse de îngrijire personală, substanțe farmaceutice de uz uman și veterinar, microplastice [4]. În ultima perioadă s-a pus accent pe importanța monitorizării poluanților emergenți din ecosistemele acvatice, printre care se numără compușii farmaceutici și microplasticele care au fost subiectul mai multor lucrări științifice a căror autor sau co-autor sunt [5–7]. Monitorizarea poluanților industriali în ecosistemele acvatice reprezintă un subiect important întrucât aceștia au potențial toxic asupra biotei acvatice, dar și asupra sănătății umane [8,9].

### **1.2 Poluarea mediului acvatic cu metale grele**

Metalele grele reprezintă una dintre clasele de poluanți industriali care ajung să se regăsească în mediul acvatic. În mod obișnuit, în mediu s-au identificat 23 de metale grele care în concentrații mari pot deveni toxice și periculoase [10]. Printre cele mai toxice metale care se regăsesc în mediu se numără următoarele: Cd, Ni, Zn, Pb, Cu.

#### **1.2.1 Surse de poluare cu metale grele**

Printre sursele principale de poluare cu metale grele din mediul acvatic se numără: industria, deșeurile municipale, apele uzate, pesticidele, îngrășămintele, arderea combustibililor fosili, activitățile de navigație, minerit, spațiile de depozitare din zona de influență a fluviului [11–13].

#### **1.2.2 Toxicitatea metalelor grele**

În concentrații normale, unele metale grele, precum: Ni, Cu, Zn, sunt vitale pentru organismul uman. Cu toate acestea, atunci când se depășesc concentrațiile maxime admise, metalele grele devin toxice pentru mediu și sănătatea umană, putând provoca următoarele afecțiuni: tulburări neuronale, hematologice și renale [14], boli cardiovasculare, afecțiuni ale sistemului respirator și anomalii genetice [15,16].

### **1.3 Poluarea mediului acvatic cu substanțe farmaceutice**

Consumul ridicat de medicamente se corelează cu prezența acestora în mediul acvatic, din acest motiv este foarte important să se monitorizeze această clasă de poluanți industriali. Statisticile realizate la nivel mondial în anul 2023 situează industria farmaceutică pe locul 4 în topul celor mai profitabile industrii din punct de vedere financiar, fapt ce implică existența unui consum mare de medicamente [17]. Compușii farmaceutici ajung deversați în mediul acvatic prin fabricarea, consumul, excreția, dar și prin eliminarea necorespunzătoare a produselor

expirate sau neutilizate. Din categoria poluanților emergenți fac parte substanțele care prezintă variații semnificative ale comportamentului și toxicității și care presupun aplicarea de tehnici speciale în procesul de tratarea/remediere a acestora [18]. Piața farmaceutică cuprinde un număr enorm de compuși, numai în Uniunea Europeană se utilizează frecvent un număr de aproximativ de 3000 de compuși farmaceutici, numărul acestora aflându-se într-o continuă creștere în întreaga lume. Deși compușii farmaceutici se găsesc la nivel de urme în mediu (ng/L), ele au potențial toxic asupra florei și faunei din cauza deversării continue a acestora și a faptului că pot interacționa între ei [19].

### **1.3.1 Surse de poluare a mediului cu compuși farmaceutici**

Compușii farmaceutici și metaboliții acestora sunt eliberați continuu în mediu din surse punctiforme și difuze. Principalele surse de contaminare cu poluanți emergenți, implicit și cu produși farmaceutici sunt: apele uzate industriale, scurgerile de suprafață de pe terenurile agricole și de la fermele de animale, levișurile de la depozitele de deșeuri, apa menajeră de la spitale și locuințe. De asemenea, deversările provenite din producția industrială contribuie la contaminarea mediului cu substanțe farmaceutice din cauza procesului inadecvat de tratare a apelor uzate. Dintre toate sursele de poluare a mediului acvatic cu substanțe farmaceutice, cea care are aportul cel mai mare este reprezentată de efluenții domestici urbani, urmată de efluenții din spitale și excrețiile provenite de la fermele de animale [20].

### **1.3.2 Riscuri și efecte toxice ale produselor farmaceutice în mediul înconjurător**

Cantitatea de medicamente consumate, proprietățile fizico-chimice și ecotoxicitatea sunt factori importanți în evaluarea riscurilor asupra mediului cauzate de substanțele farmaceutice. Studiile au arătat că microorganismele, flora și fauna sunt afectate de prezența reziduurilor farmaceutice în concentrații mici. Din cauza comportamentului complicat al diferitelor amestecuri de substanțe farmaceutice care se formează în mediu, produsele farmaceutice pot avea efecte dăunătoare asupra organismelor chiar și atunci când sunt prezente în concentrații foarte mici. Deversarea continuă a acestora în mediul acvatic poate avea un impact negativ asupra organismelor vii și a mediului, de exemplu, poate schimba comportamentul peștilor, influențând reproducerea, hrănirea și agresivitatea acestora [18].

Într-un studiu review a cărui co-autor sunt au fost precizate efectele pe care diferite clase de substanțe farmaceutice le au asupra stresului oxidativ la pești. De exemplu, expunerea îndelungată la antibiotice reduce activitatea de apărare antioxidantă (catalază, glutadion), iar contaminarea cu antiinflamatoare au arătat o scădere evidentă a activității enzimelor antioxidante la specia de pești *Cyprinus carpio* [21].

### **1.3.3 Reglementări legislative referitoare la compușii farmaceutici detectați în mediu**

Cu privire la subiectul poluării mediului cu compuși farmaceutici, Directiva 2013/39/UE face referire pentru prima dată la contaminarea apei și a solului cu deșeuri farmaceutice. La nivel european există o listă de supraveghere a poluanților cu potențial toxic aflată într-o continuă actualizare. Compușii farmaceutici care au fost incluși în ultima versiune a listei de supraveghere conform articolului 8b din Directiva 2008/105/CE sunt: clindamicina, ofloxacin, sulfametoxazol, trimetoprim, venlafaxină, o-desmetilvenlafaxină, metformin și produsul său de transformare guaniluree [22].

## Capitolul 2. Studiu privind transportul metalelor grele în sedimentele din straturile superficiale din bazinul inferior al fluviului Dunărea

### 2.1 Obiectivele studiului

Studiul realizat de Calmuc et. al, 2021 [23] a evaluat transportul metalelor grele în sedimentele de suprafață (stratul superficial din albia fluviului) din bazinul inferior al fluviului Dunărea, influența activităților antropice asupra nivelului de contaminare cu metale grele în sediment, precum și a riscurilor potențiale la care este expus ecosistemul acvatic. Pentru atingerea acestor obiective au fost utilizați și testați diferiți indici specifici de poluare importanți în evaluarea calității corpurilor de apă, și anume: Indicele de geo-acumulare (Igeo), Factorul de contaminare (CF), Indicele de încărcare a poluării (PLI) și Indicele de potențial risc ecologic (RI).

### 2.2 Zona de studiu

Au fost selectate 15 stații de prelevare pentru evaluarea transportului metalelor grele în sedimente și a nivelului de contaminare a sedimentelor cu metale grele (Figura 2.1) în funcție de sursele de poluare existente situate de-a lungul fluviului Dunărea între km 180 și km 60. În această zonă, fluviul Dunărea traversează 3 mari orașe din România (Brăila, Galați și Tulcea) cu un număr mare de locuitori și activitate industrială semnificativă: (șantierelor navale: Damen Galați, Vard Brăila, Vard Tulcea, Navrom Galați - companie de transport naval, Liberty Galați – industria fontei și oțelului). Monitorizarea și evaluarea calității sedimentelor de suprafață este importantă deoarece în acest perimetru se află zona pre-deltaică și deltaică cu impact asupra rezervației biosferei Delta Dunării, unică în Europa, și asupra multitudinii de lacuri și canale care găzduiesc o mare varietate de faună și floră. Probele de sedimente au fost prelevate lunar pe parcursul a două sezoane diferite, respectiv toamna anului 2018 și primăvara anului 2019.

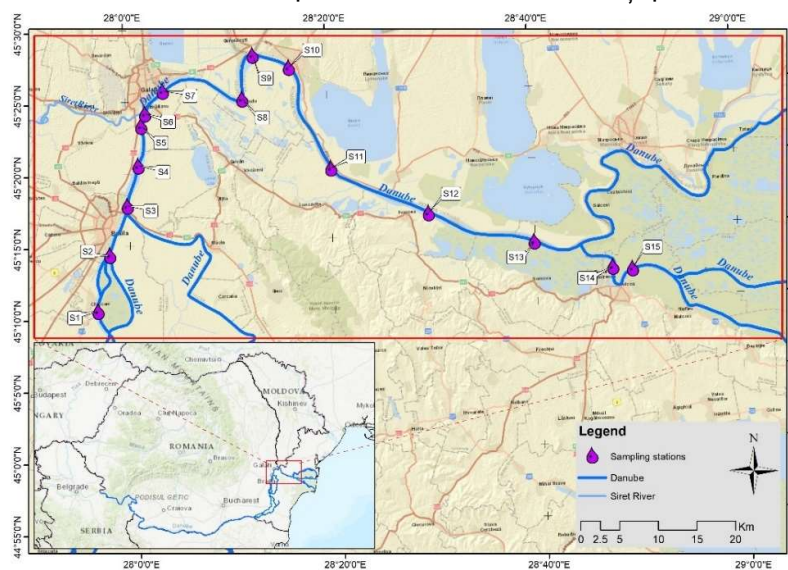


Figura 2.1 Stații de prelevare de-a lungul Dunării Inferioare

Stațiile de unde s-au făcut prelevările de sediment au fost codificate astfel (Figura 2.1):

- S1- localitatea Chiscani;
- S9 - Prut;

- S2 - trecere bac 2 Brăila;
- S3 - trecere bac 1 Brăila;
- S4 - insula Chici;
- S5 - Priza Dunării;
- S6 - Siret;
- S7 - Restaurant Libertatea;
- S8 - Cotul pisicii;
- S10 - localitatea Grindu;
- S11 - localitatea Luncavița;
- S12 - localitatea Isaccea;
- S13 - localitatea Somova;
- S14 - Șantierul naval Vard
- S15 - localitatea Tulcea;

## 2.3 Materiale și metode

Din fiecare stație au fost prelevați primii 10 cm de sediment folosind o dragă de tipul Van Veen (KC Denmark A/S, Silkeborg, Danemarca), probele fiind conservate în recipiente din polietilenă. În etapa preliminară, probele de sedimente au fost uscate la 105 °C până au ajuns la masă constantă, au fost mojarate și cernute cu o sită de 125 μm.

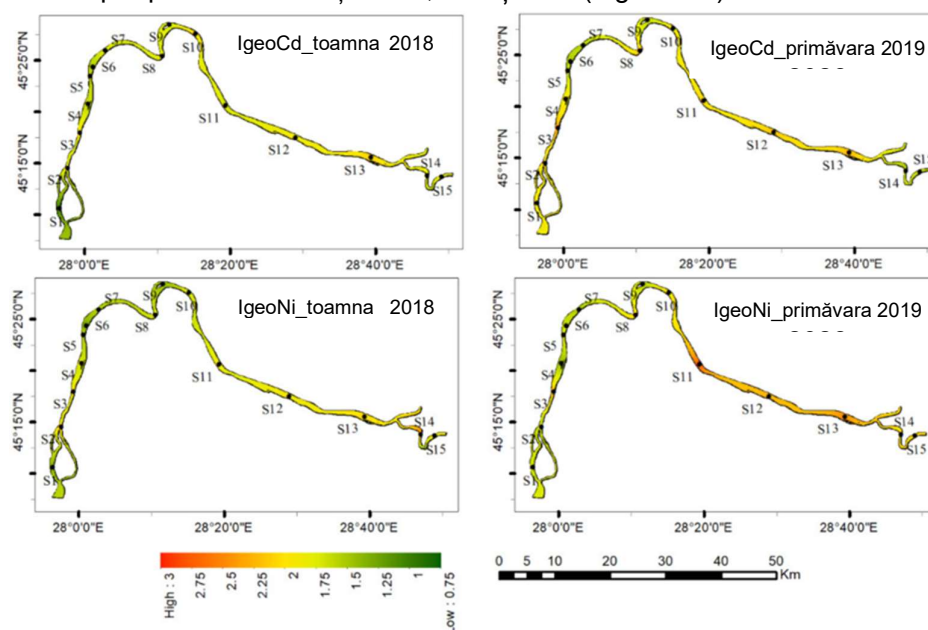
Mineralizarea probelor a fost efectuată folosind sistemul de digestie cu microunde Anton Paar. După etapa de pregătire a probei, concentrațiile de metale grele (Pb, Cu, Cd, Zn, Ni) au fost determinate în conformitate cu standardul SR EN ISO 17294–2, 2005. Analizele au fost efectuate folosind echipamentul ICP–MS (Spectrometria de masă cu plasmă cuplată inductiv) Perkin Elmer Elan DRC–e (PerkinElmer LAS (UK) Ltd, Seer Green, England, UK) aflat în dotarea Institutului Național de Cercetare Dezvoltare "Delta Dunării" – Tulcea [23].

Pentru a evalua transportul concentrațiilor de metale grele în sediment de la o stație la alta, și potențialul toxic al acestora, s-au calculat diferiți indici și au fost reprezentați sub forma unor hărți de distribuție a poluării.

## 2.4 Rezultate și discuții

### 2.4.1 Distribuția spațio-temporală a Indicelui de geo-acumulare (Igeo)

Pe baza valorilor Igeo obținute în toamna anului 2018, se poate observa o poluare cu cadmiu moderată spre puternică în stațiile: S3, S10 și S13 (Figura 2.2).



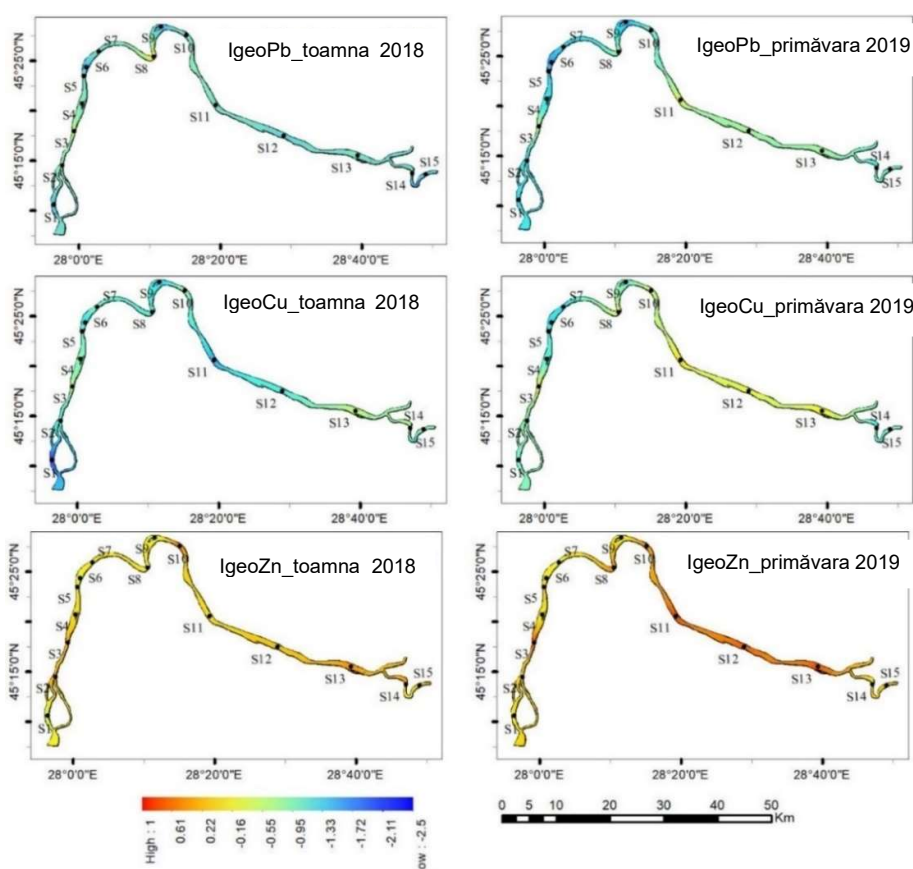


Figura 2.2 Distribuția spațio-temporală a Igeo pentru Cd, Ni, Pb, Cu și Zn [23]

În timpul primăverii, cele mai mari valori ale Igeo Cd ( $2 < Igeo < 3$ ) au fost înregistrate în stațiile S3, S8, S11, S12, S13. Aceste stații de monitorizare sunt situate în apropierea trecerii cu bacul (S3) și a terenurilor agricole (S8, S11, S12, S13). De obicei, industria, arderea combustibililor fosili și agricultura (îngrășămintele fosforice) reprezintă principalele surse de poluare a mediului cu cadmiu [24–27]. Valorile Igeo pentru Ni au variat între 1,07 (S6) și 2,54 (S14) în toamna lui 2018 și 1,27 (S4) –2,92 (S11) în primăvara anului 2019. Conform Igeo, poluarea cu Ni variază de la Clasa 2 (moderat poluat) la clasa 3 (poluat moderat până la puternic). Pentru acest metal, limita admisă conform Ordinului României 161/2006 ( $35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) a fost depășită în stațiile S3, S11, S13, S14. În sectorul monitorizat al Dunării de Inferioare, prezența și persistența poluării cu nichel poate avea mai multe cauze, cum ar fi transportul naval, industria, deșeurile municipale și industriale [28]. Valorile Igeo ale Pb au fost cuprinse în domeniul -1,78 – 0,34 în sezonul de toamnă și -2,00–1,03 în timpul primăverii și indică nivelul de sedimente nepoluat în majoritatea stațiilor de prelevare, cu excepția stației S8, unde sedimentul a fost clasificat ca fiind „nepoluat până la moderat poluat”. În plus, rezultatul calculului Igeo pentru sezonul de toamnă indică faptul că valorile metalului Cu pentru toate site-urile au fost încadrate în clasa necontaminată (Igeo 0). Pe de altă parte, două din cele 15 stații (S3, S11) au fost nepoluat până la moderat poluate cu metalul Cu în sezonul de primăvară. În ceea ce privește metalul Zn, valorile Igeo au variat între -0,56 (S1) și 0,75 (S10) (în toamna anului 2018) și -0,46 (S7) –1,03 (S3) (în primăvara anului 2019).

#### 2.4.2 Distribuția spațio-temporală a Indicelui de încărcare cu poluare (PLI)

Analizând distribuția spațială a PLI aferentă celor două sezoane monitorizate (toamna anului 2018 și primăvara anului 2019), se poate observa că valorile PLI au variat între 0,53 (S1) și 1,17 (S3) în lunile de toamnă, ceea ce indică absența poluării cu metale grele (PLI < 1) în 73% din stațiile monitorizate.

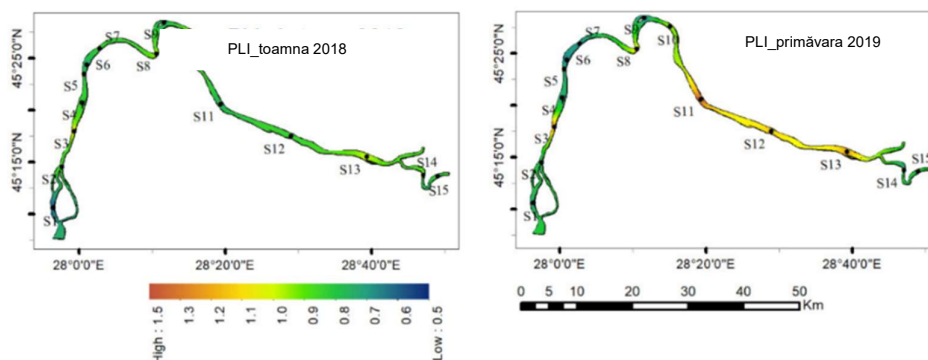


Figura 2.3 Distribuția spațio-temporală a indicelui PLI [23]

În primăvara anului 2019, Figura 2.3 ilustrează faptul că valorile PLI au variat între 0,57 (S6) și 1,53 (S11), indicând prezența poluării cu metale grele a sedimentelor, în special în stațiile de monitorizare S11–S13 (PLI > 1).

#### 2.4.3 Distribuția spațio-temporală a Indicelui de risc ecologic potențial (RI)

Indicele RI a fost calculat pe baza celor cinci metale grele (Pb, Zn, Cd, Cu și Ni), iar rezultatele reflectă în mod cuprinzător un nivel scăzut de risc ecologic pentru fiecare element ( $Er^{Me} \leq 40$ ), precum și un grad scăzut de risc ecologic general pentru ambele sezoane monitorizate. În plus, rezultatele RI în sedimentele de suprafață au variat între 15,00 (S1) și 35,50 (S13) în timpul sezonului de toamnă și 17,61 (S6) până la 45,96 (S3) în timpul sezonului de primăvară. Cu toate acestea, nu reprezintă un risc ecologic ridicat în sedimentele fluviului Dunărea, datorită faptului că valorile Cd măsurate sunt situate sub limita admisă conform OM 161/2006.

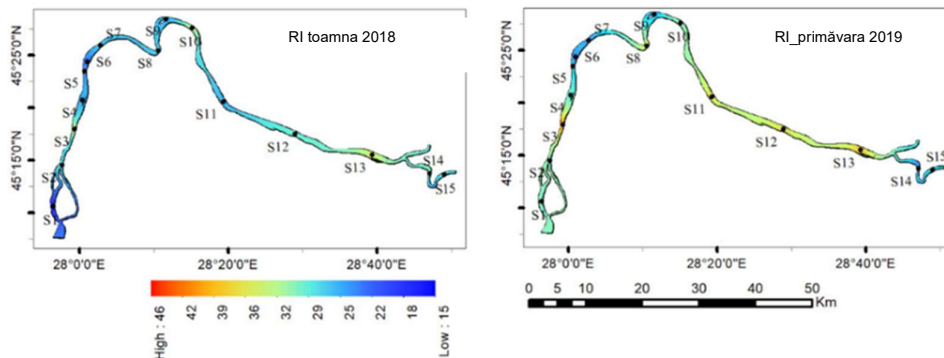


Figura 2.4 Distribuția spațială a RI în toamna anului 2018 și primăvara anului 2019 [23]

Similar cu indicele PLI, cele mai mari valori RI au fost înregistrate în timpul sezonului de primăvară pentru stațiile S3 și S11–S13 (Figura 2.4).

## Capitolul 3. Studii privind prezența compușilor farmaceutici în ecosisteme acvatice

### 3.1 Obiectivele generale ale studiului

În urma documentării realizată cu privire la studiile efectuate asupra transportului poluanților industriali în bazinul inferior al Fluviului Dunărea pe teritoriul României s-a observat o lacună în ceea ce privește clasa de poluanți emergenți reprezentată de compușii farmaceutici. Din acest motiv, am ales ca în prezenta teză de doctorat să dezvolt, mai în detaliu, subiectul care privește transportul compușilor farmaceutici de la o stație de prelevare la alta în apa Dunării și acumularea acestora în componentele acvatice (Figura 3.1).

De asemenea, în acest studiu s-au testat diferite modele Machine Learning pentru a încerca obținerea unui instrument predictiv care are la bază un cadru analitic suport cu scopul creșterii sustenabilității activității de monitorizare a compușilor farmaceutici din apa bazinului inferior al Dunării.

### 3.2 Zonele de studiu

Zonele de studiu sunt distribuite pe o distanță medie de aproximativ 370 km (Figura 3.1). Ca suprafață analizată, prezenta teză prezintă un studiu extins asupra prezenței compușilor farmaceutici realizat pe Dunăre, cuprinzând arii asupra cărora se exercită un puternic impact antropic (inclusiv industrial).

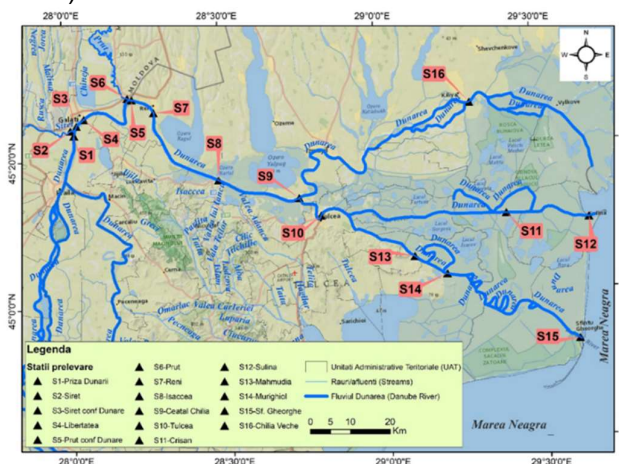


Figura 3.1 Stațiile de prelevare a probelor de apă din bazinul inferior al Dunării

### 3.3 Materiale și metode

În probele de mediu, compușii farmaceutici se regăsesc în concentrații foarte mici, de ordinul ng/L, de cele mai multe ori sub sau foarte aproape de limitele de detecție ale tehnicilor utilizate pentru efectuarea analizelor. Din acest motiv, alegerea metodelor/tehnicilor potrivite de pregătire a probelor și analiză a acestora, în funcție de tipul lor, este foarte importantă în obținerea de rezultate reale.

În prezenta teză de doctorat s-a utilizat un prelevator manual cu tijă telescopică pentru colectarea probelor de apă, iar pentru probele de sediment s-a folosit o dragă de tipul Van Veen care a fost manipulată de o macara instalată pe nava de cercetare REXDAN.



### **3.3.1 Extracția compușilor farmaceutici din probe lichide**

În studiul prezentat în teza de doctorat s-a folosit metoda de extracție în fază solidă – SPE utilizând un sistem automat de extracție Dionex™ AutoTrace™ 280. Cartușele SPE folosite sunt Branchia C18, 500 mg/ 6 mL.

*Etapele metodei dezvoltate pentru extracția compușilor farmaceutici din probe de apă de suprafață prelevate din bazinul inferior al fluviului Dunărea sunt următoarele:*

- Filtrarea preliminară a probelor de apă;
- Acidifierea probelor până la pH 3 cu acid acetic glacial;
- Condiționarea cartușelor cu 5 mL metanol;
- Condiționarea cartușelor cu 5 mL apă ultrapură;
- Uscarea cartușelor timp de 1 minut în atmosfera de N<sub>2</sub>;
- Încărcarea celor 100 mL din fiecare probă de apă în cartușe, cu un debit de 10 mL/min;
- Spălarea cartușelor cu 6 mL apă ultra pură;
- Spălarea cartușelor cu 6 mL amestec metanol apă 20 %;
- Uscarea cartușelor timp de 5 minute în atmosfera de N<sub>2</sub> (Figura 3.6);
- Eluția analiților cu 6 mL metanol și colectarea extractului;
- Concentrarea eluatului prin evaporare sub un flux de azot de puritate ridicată, la 42 ° C;
- Redizolvarea eluatului în 25 μL metanol și 225 μL apă.

### **3.3.2 Extracția compușilor farmaceutici din probe solide**

Pentru a extrage compușii farmaceutici din țesut muscular și icre s-au luat în analiză 5g de probă, pentru extracția compușilor din țesutul hepatic și branhiile s-au utilizat 2 g de probă, iar pentru extracția din sediment s-au cântărit 4 g.

**Etapele extracției QuEChERS a substanțelor farmaceutice din țesutul de pește și sediment:**

- Cântărirea, mărunțirea și omogenizarea probelor;
- Adăugarea solvenților și standardelor într-un tub de centrifugă de 50 mL: 1 mL apă ultra pură și 10 mL acetonitril, 50 μL acid formic și 50 μL amestec standard intern;
- Omogenizarea probei;
- Adăugarea amestecului de săruri de extracție (6 g sulfat de magneziu anhidru, 5 g clorură de sodiu, 1,5 g citrat de sodiu dihidrat și 0,75 g citrat de sodiu sesquihidrat) și agitarea intensă a amestecului;
- Centrifugarea amestecului obținut la 4000 rpm timp de 5 minute;
- Preluarea a 5 mL din supernatant (acetonitril) și purificarea extractului în fază solidă, metoda dispersivă (d-SPE) care conține 150 mg sulfat de magneziu anhidru, 50 mg PSA și 50 mg C18 + 15 mg cărbune activ grafitizat;
- Colectarea eluatului într-un tub de sticlă de 5 mL și concentrarea acestuia în curent de azot la 42 °C;
- Redizolvarea extractului cu 400 μL H<sub>2</sub>O ultra pură și 100 μL metanol – țesut pește și 200 μL H<sub>2</sub>O ultra pură și 50 μL metanol - sediment;
- Filtrarea extractului obținut utilizând filtre cu dimensiunea porilor de 0.2 μm;

### 3.3.3 Tehnici de analiză instrumentală a probelor de mediu

- **Lichid cromatografia cuplată cu spectrometria de masă**

Analiza instrumentală implică adesea o etapă de separare cromatografică pentru a izola analitul țintă de substanțele chimice din matrice urmată de identificarea și confirmarea speciilor chimice utilizând spectrometria de masă.

Compușii farmaceutici (PhAC) sunt în mare parte polari și nevolatili și stabili termic, ceea ce face imposibilă determinarea lor directă de către GC (Gaz cromatograf), fără a utiliza derivatizarea. Cuplarea cromatografiei lichide cu spectrometrul de masă combină avantajele cromatografiei (selectivitate ridicată și eficiență de separare) cu performanțele spectrometriei de masă (informații structurale și asupra masei molară, precum și selectivitate, detectabilitate crescute).

Instrumentul pe care l-am utilizat pentru analiza probelor de mediu care au stat la baza realizării unei părți importante din teza de doctorat este Lichid cromatograful Vanquish Flex cuplat cu spectrometru de masă de înaltă rezoluție și masă exactă Orbitrap Exploris 120. Acest echipament se află în dotarea laboratorului de cromatografie al Infrastructurii de cercetare REXDAN a Universității Dunărea de Jos din Galați, în cadrul căruia ocup postul de asistent de cercetare (Fig.3.2).

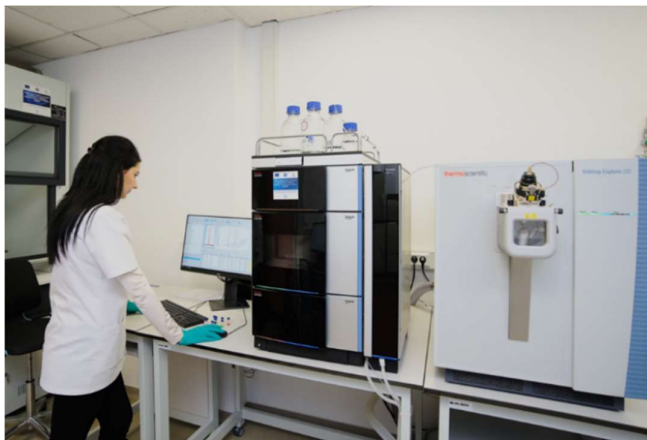


Figura 3.2 UHPLC Vanquish Flex cuplat cu Spectrometrul de masa (MS/MS) de înaltă rezoluție și masă exactă Orbitrap Exploris 120 - Thermo Fisher Scientific (foto original)

Tehnologia Orbitrap HRAM oferă precizie a masei la concentrații foarte scăzute, permițând detectarea precisă și selectivă a analiților țintă, iar întreaga gamă de masă este de  $m/z = 40-3000$ .

- **Tehnica microscopiei electronice cu scanare (SEM)**

Microscopia electronică cu scanare este cea mai utilizată metodă în obținerea de informații legate de caracteristicile morfologice ale unei probe [29]. Principiul de funcționare are la bază scanarea unor suprafețe prin utilizarea unui fascicul de electroni. Acești electroni interacționează cu atomii probei pentru a produce semnale care să ofere informații cu privire la topografia suprafeței și compoziția probei [30].



Figura 3.2 a Echipament SEM TESCAN VEGA (foto Georgiana Ghisman)

În prezenta teză de doctorat, pentru a caracteriza din punct de vedere morfologic diferite tipuri de sediment prelevate din bazinul inferior al fluviului Dunărea, s-a utilizat modelul de echipamentul SEM TESCAN VEGA (Fig. 3.2a), care se află în dotarea Facultății de Inginerie a Universității Dunărea de Jos din Galați și a fost achiziționat în cadrul proiectului Excelență și implicare în dezvoltarea inteligentă bazată pe cercetare și inovare la Universitatea Dunărea de Jos din Galați (UDJG) – DINAMIC, 12PFE/30.12.2021.

### **3.3.4 Metode de analiză calitativă și cantitativă a compușilor farmaceutici din probe de mediu**

Substanțele farmaceutice analizate în prezenta teză de doctorat sunt: metformin, trimetoprim, cafeina, sulfametoxazol, clindamicina, carbamazepina, claritromicina, ketoprofen și diclofenac.

Întrucât determinarea acestei clase de contaminanți este consumatoare de timp și foarte costisitoare, am ales să mă concentrez pe compușii considerați a fi cei mai problematici pentru mediul acvatic. Substanțele farmaceutice clindamicina, sulfametoxazol, trimetoprim și metformin se află pe lista europeană de supraveghere a substanțelor prioritare, carbamazepina este considerat unul dintre cei mai persistenți compuși în mediu, cafeina este frecvent identificată în mediu, iar antiinflamatoarele ketoprofen și diclofenac au potențial toxic ridicat pentru organismele acvatice observându-se o creștere semnificativă a consumului lor în ultimul deceniu. Conceptul de doctorat este legat de prezent, dar într-o mare măsură de viitor. Lista europeană de supraveghere a substanțelor prioritare va presupune într-un viitor apropiat determinări de precizie și monitorizarea continuă cu proceduri optimizate în laboratoare performante. Acestea sunt argumentele selecției claselor de substanțe din lista experimentală din prezenta teză de doctorat.

În cele ce urmează sunt prezentați parametri setați în metoda de instrument ai lichid cromatografului și ai spectrometrului de masă pentru a asigura atingerea celor mai înalte performanțe analitice în separarea, identificarea, confirmarea și cuantificarea compușilor de interes.

#### **Parametri UHPLC:**

- Temperatura compartiment coloană: 40 °C;
- Durata analizei: 20 minute;
- Debit fază mobilă: 0,4 mL/min;

- Faze mobile: A – apă ultrapură cu acid formic 0,1 %; B- Metanol cu acid formic 0,1 %;
- Gradient faza mobilă:
  - 0-1 minute: 90% A – 10% B;
  - 1-2,5 minute: 90% A – 10% B;
  - 2,5-10 minute: 60% A- 40% B;
  - 10 – 13 minute: 0% A – 100% B;
  - 13 – 15 minute: 0% A – 100% B;
  - 15- 20 minute: 90% A – 10% B;
- Volum de injecție: 10 µl;

**Parametri MS:**

- Sursa de ioni HESI (Heated Electrospray);
- Debit sheath gas: 50;
- Debit aux gas: 10;
- Debit sweep gas: 1;
- Temperatura Ion Transfer Tube: 325°C;
- Temperatura de vaporizare: 350 °C;
- Energia de coliziune HCD: diferită în funcție de compus;
- Rezoluție MS Orbitrap: 120 000;
- RF Lens: 70 %;
- Scan parameters: Full Scan și MS/MS;

Calibrarea externă de masă și de sistem a spectrometrului de masă s-a realizat prin injectarea de soluții de calibrare în mod de funcționare pozitiv și negativ înainte de realizarea fiecărei serii de analiză. Separarea compușilor în HPLC a fost facilitată de utilizarea unei coloane cromatografice de tipul Accucore C18 (100 x 2.1 mm, 2.6 µm).

Achiziționarea datelor s-a realizat pentru ionizarea pozitivă și negativă atât în modul full-scan folosit pentru cuantificarea compușilor de interes cât și în modul MS/MS pentru a se realiza confirmarea prezenței compusului în probă. Achiziția, procesarea și prelucrarea datelor s-a realizat utilizând software-ul Chromeleon CSD - Thermo Fisher Scientific.

Pentru analiza cantitativă a compușilor farmaceutici identificați în probele de apă s-au folosit standarde analitice produse de Sigma-Aldrich.

### **3.4 Rezultate experimentale și discuții privind prezența compușilor farmaceutici în bazinul inferior al fluviului Dunărea**

#### **3.4.1 Rezultatele aplicării metodelor de analiză**

În urma aplicării metodelor de analiză, descrise anterior, s-au identificat toți compușii farmaceutici care au fost analizați în prezenta teză de doctorat. În cele ce urmează sunt prezentate rezultatele obținute după efectuarea analizelor UHPLC-MS/MS. În Tabelul 3.1 sunt enumerate formulele moleculare după care s-au calculat masele moleculare, masele ionilor obținute după ionizarea compușilor în modul pozitiv și timpii de retenție la care a eluat fiecare analit.

Tabel 3.1 Compușii farmaceutici analizați cu UHPLC - MS/MS

Compus	Formula	Adduct	m/z	Timp de retenție (min)
Metformin	C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub>	+ H	130,1087	0,44
Trimetoprim	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	+ H	291,1452	3,21
Cafeina	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	+ H	195,0877	3,38
Sulfametoxazol	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	+ H	254,0594	3,69
Clindamicina	C <sub>18</sub> H <sub>33</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S	+ H	425,1871	4,91
Carbamazepina	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	+ H	237,1022	5,72
Claritromicina	C <sub>38</sub> H <sub>69</sub> NO <sub>13</sub>	+ H	748,4842	6,50
Ketoprofen	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	+ H	255,1016	6,65
Diclofenac	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	+ H	296,024	8,03

În figura 3.3 sunt reprezentate cromatogramele obținute pentru fiecare compus farmaceutic analizat și timpii de retenție la care aceștia au eluat.

Primul compus care a eluat este medicamentul metformin care a avut timpul de retenție 0,44. Ceilalți compuși analizați au eluat în următoarea ordine: trimetoprim (3,21), cafeina (3,38), sulfametoxazol (3,69), clindamicina (4,91), carbamazepina (5,72), claritromicina (6,5), ketoprofen (6,65) și diclofenac 8,03 (Figura 3.21).

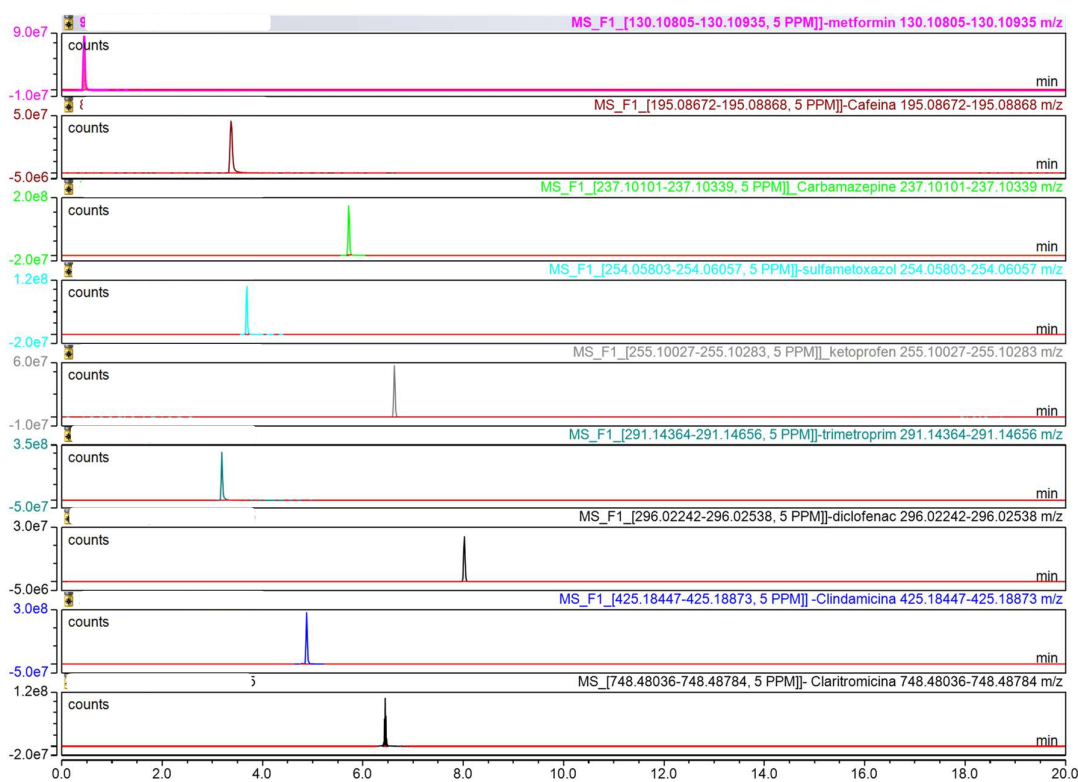


Figura 3.3 Cromatograma Full Scan a compușilor identificați

Prezenta teză de doctorat, așa cum am mai menționat, urmărește, printre altele, și optimizarea unor proceduri în vederea transpunerii acestora la nivelul unor monitorizări repetitive care să asigure consumuri minime și cu efort uman de același ordin. În afara obținerii unor separări eficiente, cu tipuri de retenție precise și masă exactă la a 5 a zecimală am

urmărit, prin încercări succesive, definirea unor condiții de separare care să permită analiza întregului set de compuși într-o singură injecție ceea ce respectă condițiile optime definite mai sus.

Pentru fiecare compus analizat, în vederea confirmării prezenței acestuia în probă, s-a identificat cel puțin un fragment specific acestora. Optimizarea fragmentării speciilor chimice cercetate presupune adaptarea energiilor de coliziune de manieră să se obțină fragmente elocvente, ușor identificabile în MS. Acest lucru este imposibil cu asigurarea constantă a unei singure valori a energiei de coliziune, prin urmare, în cadrul experimentului am reușit să definim valori optime, "personalizate" pentru fiecare compus în parte printr-o programare judicioasă a comenzilor sistemului MS/MS

### 3.4.2 Distribuția spațio-temporală a compușilor farmaceutici în probe de apă de suprafață

În prezentul subcapitol sunt descrise rezultatele obținute în urma analizei unor clase de substanțe farmaceutice din probe de apă prelevate din Bazinul Dunării Inferioare începând cu afluentul Siret și terminând cu stațiile situate pe cele 3 brațe ale Deltei Dunării. Probele de apă au fost prelevate în sezonul de vară în anii 2021, 2022 și 2023.

Scopul principal al acestui studiu este de a analiza transportul compușilor farmaceutici în apa de suprafață a bazinului inferior al fluviului Dunărea. Pentru a evidenția mai bine acest lucru, rezultatele au fost reprezentate sub forma unor hărți de distribuție a poluanților.

#### ***Distribuția spațială a Carbamazepinei în Bazinul Dunării Inferioare în perioada 2021-2023***

Pentru compusul farmaceutic carbamazepina, în anul 2021, cea mai mare concentrație s-a înregistrat în stația S10 (17,79 ng/L), în anul 2022 s-a obținut în stația S1 (10,42 ng/L), iar în anul 2023 în stația S4 (3,42 ng/L) (Fig. 3.4).

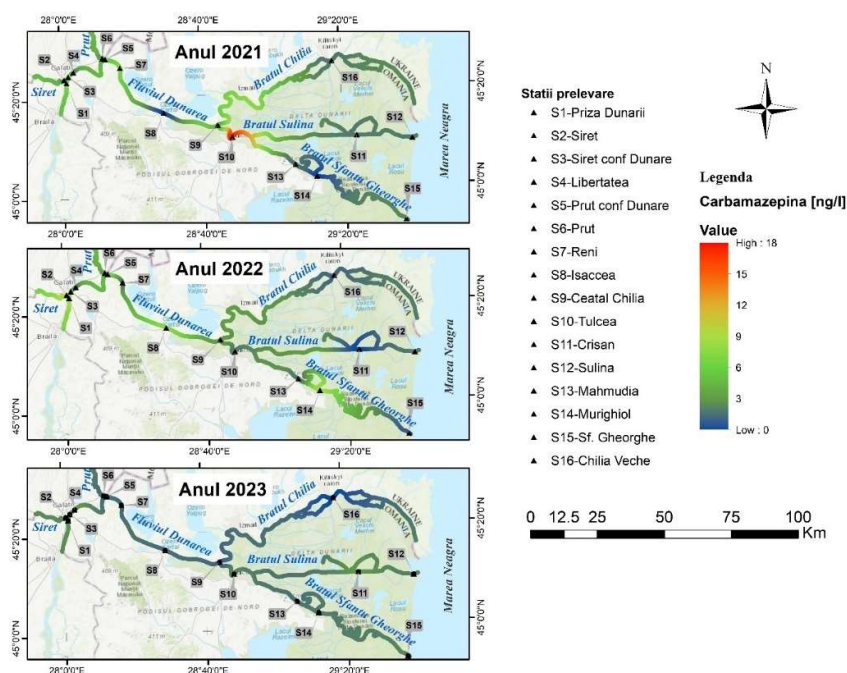


Figura 3.4 Distribuția spațio-temporală a Carbamazepinei în Bazinul Dunării Inferioare

Acest medicament s-a detectat aproape în toate stațiile monitorizate iar, conform literaturii de specialitate, carbamazepina este unul dintre cele mai persistente produse farmaceutice din mediul înconjurător [31]. Într-un studiu realizat de Chitescu, et al., în 2014, în România, pe probe de apă prelevate din Dunăre și afluenții ei, carbamazepina a fost identificată în toate probele, iar cea mai mare concentrație a fost de 40 ng/L (râul Argeș) [32].

### ***Distribuția spațială a Metforminului în Bazinul Dunării Inferioare în perioada 2021-2023***

De-a lungul timpului, consumul de metformin a crescut foarte mult din cauza utilizării acestuia pentru tratarea diabetului de tip 2, cancerului și sindromului ovarelor polichistice [33]. Studiile estimează faptul că peste 451 milioane de persoane din întreaga lume suferă de diabet dintre care aproximativ 90% au diabet de tipul 2 [34].

În anul 2021, valorile concentrațiilor de metformin au variat în intervalul 0,56 ng/L (S16) - 3,54 ng/L (S10), în anul 2022, valorile au fost cuprinse în intervalul 0,34 ng/L (S9) - 2,08 ng/L (S5), iar în anul 2023, concentrațiile s-au aflat în ecartul 1,13 ng/L (S3) - 2,31 ng/L (S4) (Fig.3.5). Acest compus a fost identificat în majoritatea stațiilor monitorizate, rezultate care se corelează cu literatura de specialitate unde se menționează faptul că metforminul este al doilea compus farmaceutic detectat în lume. Acest lucru se datorează faptului că metforminul se află pe lista primilor 20 de compuși farmaceutici prescriși și produși la nivel mondial [35].

Totodată, frecvența crescută cu care a fost identificat acest compus în probele de apă poate fi explicată de faptul este doza zilnică de administrare este de 2 g și este excretat într-o proporție de aproximativ 70 % nemodificat în urină, iar restul în fecale [36].

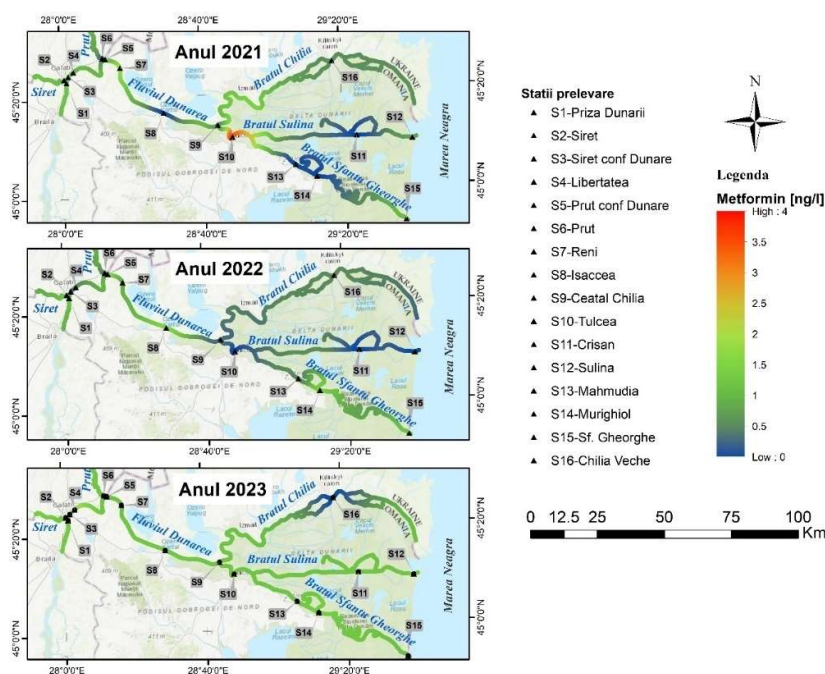


Figura 3.5 Distribuția spațio-temporală a Metforminului în Bazinul Dunării Inferioare

### ***Distribuția spațială a Cafeinei în Bazinul Dunării Inferioare în perioada 2021-2023***

Cafeina este considerat cel mai utilizat compus farmaceutic din lume luând în considerare remediile multiple pentru care acest compus este utilizat în amestec cu alte principii active [37].

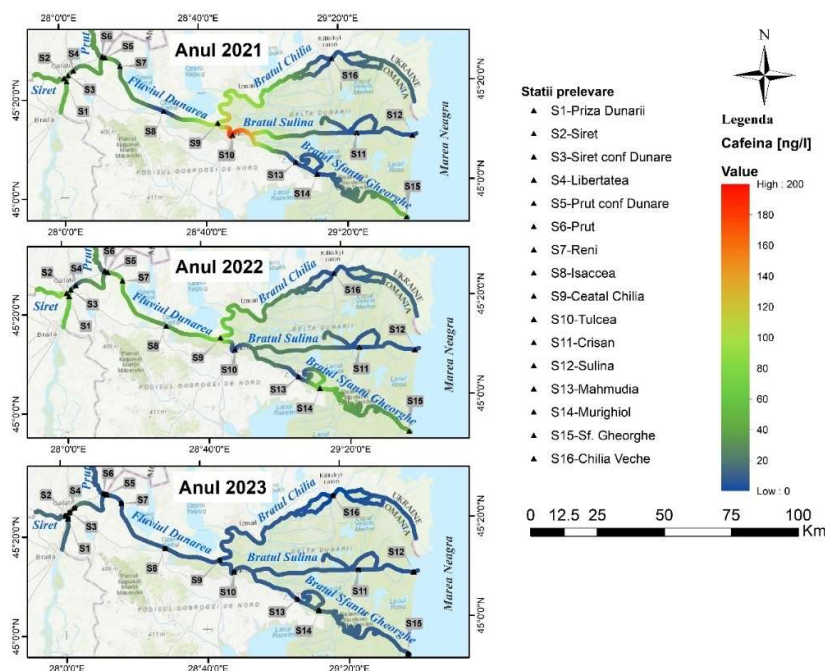


Figura 3.6 Distribuția spațio-temporală a Cafeinei în Bazinul Dunării Inferioare

Alcaloidul cafeina a fost identificat în toate probele de apă analizate. În anul 2021, valorile concentrației de cafeină au variat de la 3,22 ng/L (S14) la 184,15 ng/L (S10). În anul 2022, valorile concentrației de cafeină au fost cuprinse în intervalul 3,52 ng/L (S10) - 118,52 ng/L (S2), în timp ce, în anul 2023 valorile cafeinei s-au situat în domeniul 3,79 ng/L (S12) - 29,25 ng/L (S4) (Fig.3.6).

Studiile de specialitate consideră cafeina ca fiind cel mai reprezentativ compus farmaceutic datorită abundenței sale ridicate în mediu și îl clasează ca fiind un indicator al poluării antropice care poate indica faptul că sursele de poluare a apelor de suprafață sunt deversările din stațiile de tratare municipale în efluenți [38]. Prezența acestui compus farmaceutic a fost sesizată și în zone care se află în afara impactului antropic, precum Antarctica [37]. Reziduurile de cafeina sunt foarte stabile în mediu, având timp de înjumătățire de la 100 până la 240 de zile [39]. De asemenea, acest stimulent psihic este persistent în mediu datorită solubilității sale ridicate în apă (21,7 g/L) și coeficientului mic de partiție octanol-apă ( $K_{ow} = 0,01$ ) [40].

### ***Distribuția spațială a Diclofenacului în Bazinul Dunării Inferioare în perioada 2021-2023***

În figura 3.7 este reprezentată distribuția spațială a diclofenacului pentru care s-au obținut, în anul 2021, valori doar în stațiile S3, S9 și S10, cea mai mare concentrație fiind de 5,81 ng/L (S3). În anul 2022 s-au înregistrat concentrații de diclofenac în stațiile S3, S6, S9, S14, valorile fiind cuprinse în intervalul 4,91 ng/L și 6,45 ng/L. Pentru probele de apă prelevate în anul 2023, diclofenacul a fost cuantificat cu o frecvență scăzută, doar în stațiile S1, S4, S10 și S14, concentrațiile situându-se în intervalul 1,02 ng/L - 1,91 ng/L.



Conform literaturii de specialitate, prezența diclofenacului în ecosistemele acvatice poate avea efecte toxice asupra biotei acvatice. De exemplu, la pești, diclofenacul poate provoca afecțiuni ale rinichilor, branhiilor și modificări histopatologice ale ficatului [41].

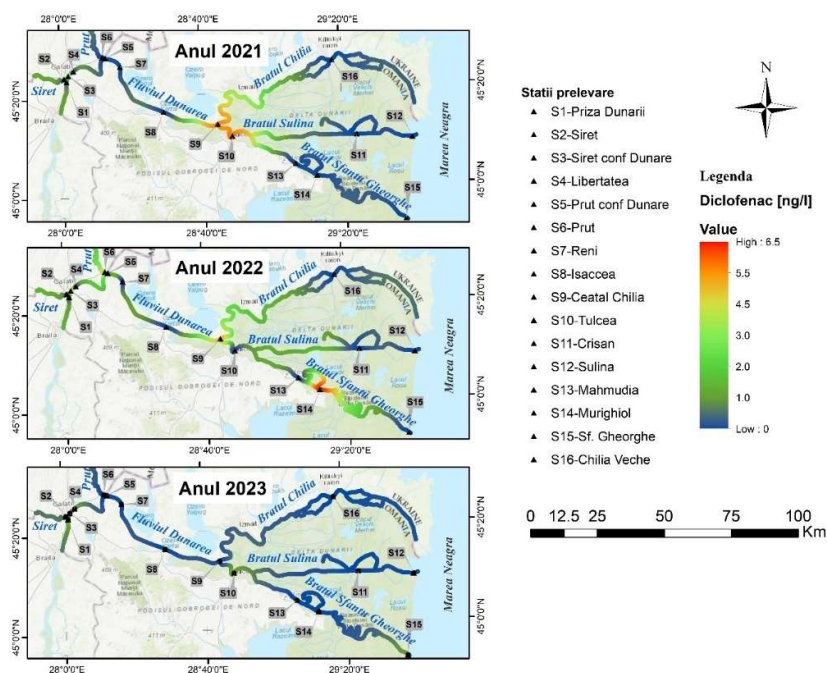


Figura 3.7 Distribuția spațio-temporală a Diclofenacului în Bazinul Dunării Inferioare

***Distribuția spațială a Ketoprofenului în Bazinul Dunării Inferioare în perioada 2021-2023***

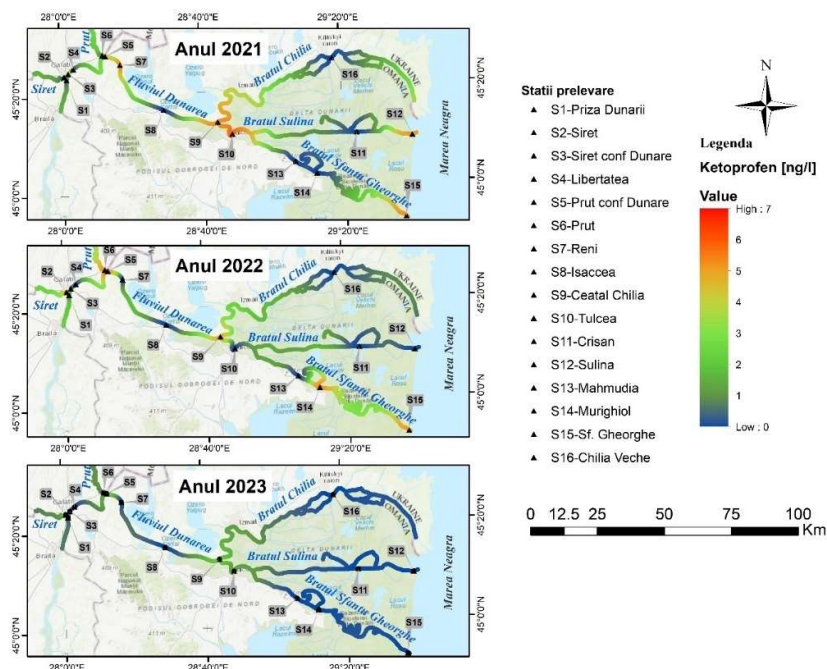


Figura 3.8 Distribuția spațio-temporală a Ketoprofenului în Bazinul Dunării Inferioare

Ketoprofenul este considerat al treilea cel mai utilizat antiinflamator nesteroidian atât în medicina umană cât și cea veterinară [42].

În anul 2021, valorile concentrațiilor de Ketoprofen au variat în intervalul 5,14 ng/L - 5,77 ng/L și s-au înregistrat în 7 din cele 16 stații de prelevare. În anul 2022, concentrațiile au fost cuprinse în intervalul 5,00 ng/L - 7,03 ng/L, iar în anul 2023 rezultatele s-au situat în domeniul 1,24 ng/L – 3,15 ng/L și s-au identificat cu o frecvență redusă, în doar 4 stații (S2, S5, S9, S10). Frecvența scăzută cu care a fost detectat acest compus se poate datora faptului că are o persistență scăzută în mediu, timpul de înjumătățire al acestuia fiind de ordinul orelor [43]. Cu toate acestea, studiile de toxicitate au demonstrat faptul că acest compus are efecte toxice asupra organismelor vii chiar și în concentrații scăzute [19].

### ***Distribuția spațială a Trimetoprimului în Bazinul Dunării Inferioare în perioada 2021-2023***

Pentru compusul farmaceutic trimetoprim (Figura 3.9), în anul 2021, s-au înregistrat valori cuprinse în domeniul 0,20 ng/L - 9,17 ng/L. În anul 2022, concentrațiile de trimetoprim au variat de la 0,2 ng/L la 10,09 ng/L, iar în 2023 valorile au fost cuprinse în intervalul 0,25 ng/L – 4,12 ng/L. În toți cei trei ani monitorizați, acest compus a fost identificat cu o frecvență de aproximativ 50 %.

Perioada pandemică 2020-2021 și post pandemică 2022 au înregistrat pe lângă utilizarea substanțelor cu efect antiviral și o creștere a consumului unor antibiotice. Se observă că în afara creșterilor importante ale concentrației trimetoprimului la vărsarea Siretului ( S1, S2) pe parcursul Dunării în toate celelalte stații, concentrațiile acestuia sunt scăzute. Una din cauze ar putea fi faptul că trimetoprimul are un efect nefrototoxic [44] cunoscut motiv pentru care a fost eliminat din tratamentul infecțiilor bacteriene asociate COVID 19.

Prezența antibioticelor în ecosistemul acvatic poate determina încetinirea creșterii bacteriilor, algelor și a plantelor acvatice [45].

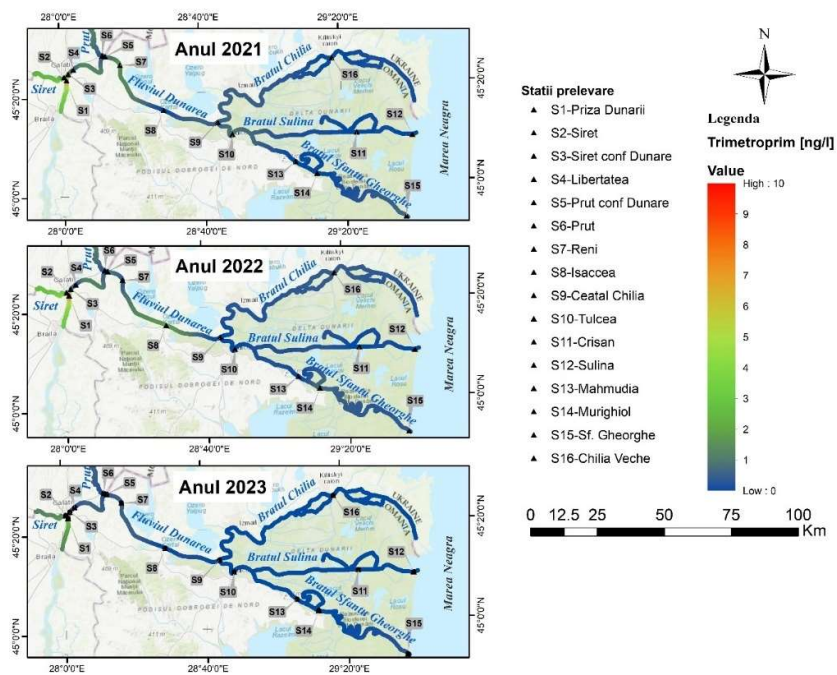


Figura 3.9 Distribuția spațio-temporală a Trimetoprimului în Bazinul Dunării Inferioare

### ***Distribuția spațială a Claritromicinei în Bazinul Dunării Inferioare în perioada 2021-2023***

În anul 2021 pentru antibioticul claritromicină s-au obținut concentrații doar în două stații de prelevare: S7 (5,41 ng/L) și S10 (5,41 ng/L). În anul 2022, s-au înregistrat valori în stațiile S5 (5,50 ng/L) și S7 (5,93 ng/L), iar în anul 2023 s-au obținut rezultate cuprinse în intervalul 2,07 ng/L - 2,17 ng/L (Fig. 3.10).

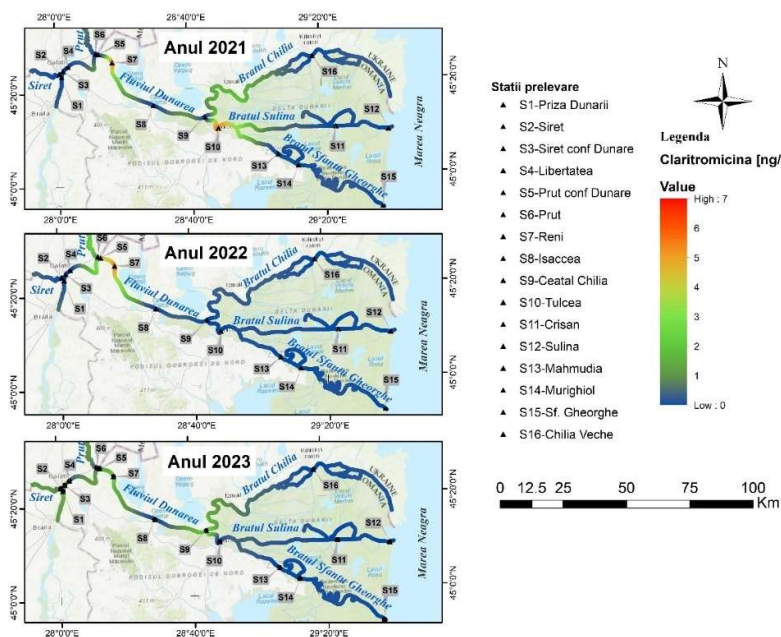


Figura 3.10 Distribuția spațio-temporală a Claritromicinei în Bazinul Dunării Inferioare

De asemenea, în cazul claritromicinei, se constată în perioada pandemică creșteri importante în zona S9, S10. Se poate face o corelație cu practica medicală care consideră macrolidul claritromicina ca fiind potențial util în prevenirea infecțiilor secundare ale Covid-19 prin efectul antimicrobian și antiviral [46].

Frecvența scăzută a detectării acestui compus în mediul acvatic se poate datora faptului că doar 40 % din claritromicină consumată este excretată sub forma compusului de bază, restul de 60% se elimină sub formă de metaboliți [47].

### ***Distribuția spațială a Clindamicinei în Bazinul Dunării Inferioare în perioada 2021-2023***

În anul 2021, compusul farmaceutic clindamicină a fost detectat în 8 din cele 16 stații monitorizate, iar concentrațiile au variat de la 3,32 ng/L la 3,75 ng/L. În anul 2022, acest antibiotic a fost identificat în următoarele stații de prelevare: S1, S5, S7, S8, S9, S14, S15, valorile concentrațiilor fiind cuprinse în intervalul: 3,22 ng/L (S9) - 3,68 ng/L (S5). Pentru probele de apă prelevate în anul 2023, valorile concentrației de clindamicină s-au situat în domeniul 2,12 ng/L (S15) - 3,12 ng/L (S7).

În cazul clindamicinei, frecvența medie de identificare a acesteia în probele de apă prelevate în cei 3 ani monitorizați a fost de aproximativ 42%, în anul 2023 înregistrându-se cele mai puține valori (Figura 3.11).

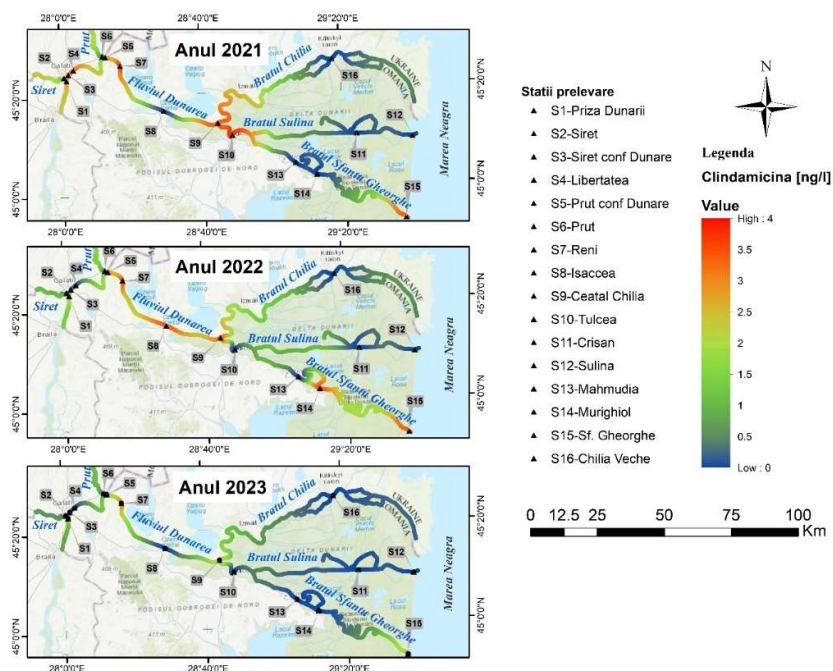


Figura 3.11 Distribuția spațio-temporală a Clindamicinei în Bazinul Dunării Inferioare

***Distribuția spațială a Sulfametoxazolului în Bazinul Dunării Inferioare în perioada 2021-2023***

În anul 2021, sulfametoxazolul a fost detectat în 10 din cele 16 stații monitorizate, valorile concentrațiilor variind în intervalul 3,44 ng/L - 4,57 ng/L, în timp ce, în anul 2022, concentrațiile de sulfametoxazol au fost cuprinse în domeniul 3,10 ng/L (S9) - 5,97 ng/L (S14).

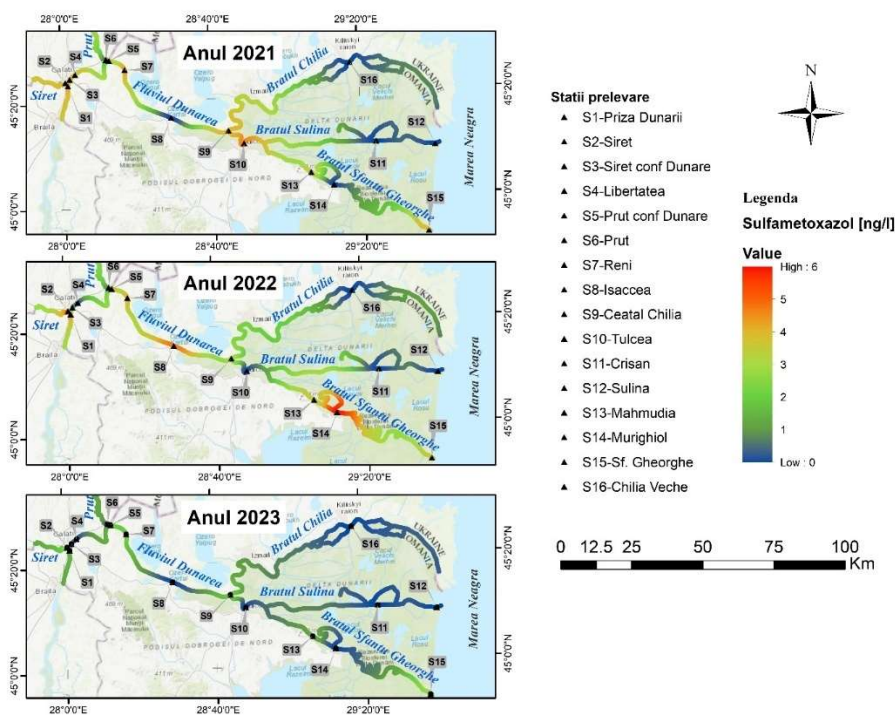


Figura 3.12 Distribuția spațio-temporală a Sulfametoxazolului în Bazinul Dunării Inferioare

Pentru anul 2023 s-au înregistrat valori care s-au situat în ecartul 1,22 ng/L – 3,25 ng/L. Cele mai ridicate valori ale acestui compus s-au înregistrat în stațiile de prelevare situate în apropierea aglomerațiilor urbane (Galați, Isaccea, Tulcea, Murighiol) (Figura 3.12).

În comparație cu celelalte antibiotice, sulfametoxazolul a fost cel mai des identificat, frecvența medie de detecție a acestuia în probele de apă prelevate în cei 3 ani analizați fiind de 56 %. Aceste rezultate se corelează și cu literatura de specialitate unde se menționează faptul că sulfametoxazolul este unul dintre antibioticele cel mai frecvent identificate în mediile acvatice [48]. Sulfametoxazolul are efecte clinice și se dovedește eficient în diminuarea imunodeficienței diagnosticate în infecții virale ceea ce conduce la concluzia că prezenta acestuia în probele analizate se datorează consumului asociat COVID 19 [49].

### 3.4.3 Acumularea compușilor farmaceutici în sedimentele Dunării

Pentru a studia comportamentul substanțelor în ecosistemul acvatic s-au analizat și probe de sediment prelevate din diferite stații situate în bazinul inferior al Dunării, astfel:

- S1- confluența Prut-Dunărea;
- S2 - Cotul Pisicii;
- S3 - loc. Reni;
- S4 - loc. Isaccea;
- S5 - loc. Somova;
- S6 - loc. Tulcea;
- S7 - loc. Mahmudia;
- S8 - loc. Murighiol;
- S9 - loc. Sf. Gheorghe.

În tabelul 3.2 este prezentată distribuția spațială a compușilor farmaceutici în probele de sediment prelevate din bazinul inferior al Fluviului Dunărea, după ce s-a realizat analiza cromatografică asociată cu spectrometria de masă (Fig. 3.12). Din rezultatele obținute se observă faptul că, dintre toți compușii investigați s-au identificat următorii trei: carbamazepina, metforminul și cafeina. Compusul cel mai des identificat este alcaloidul cafeina care s-a regăsit în toate probele analizate, în concentrații cuprinse în domeniul 0,6 ng/g - 15,1 ng/g. Studiile indică faptul că pentru cafeina, consumul mediu pe cap de locuitor este de 70 mg/zi. Din acest motiv, cafeina este considerată ca fiind unul dintre cei mai omniprezenți compuși activi farmaceutici în mediu, fapt demonstrat și în prezenta teză de doctorat [50].

Tabelul 3.2 prezintă o selecție a concentrațiilor identificate în sedimente, deoarece pentru celelalte specii analizate (trimetoprim, sulfametoxazol, clindamicină, claritromicină, ketoprofen și diclofenac) nu s-au putut detecta urmele prezente în sedimente.

Tabel 3.2 Distribuția spațială a compușilor farmaceutici în sediment

Stație prelevare	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
<b>Compuși</b>									
<b>Carbamazepina (ng/g)</b>	ND	0,5	ND	ND	0,7	ND	ND	0,9	ND
<b>Metformin (ng/g)</b>	ND	ND	ND	ND	0,2	ND	ND	4,3	0,5



În Figura 3.14 **a** este reprezentată imaginea obținută pentru proba S8 cu o mărire de 131 de ori, iar în Figura 3.14 **b** este aceeași probă care a fost mărită de 541 de ori. Pentru proba S3, cu granulația cea mai mare, imaginea obținută în urma măririi de 133 de ori este reprezentată în Figura 3.14 **c**, în timp ce, în Figura 3.14 **d** imaginea obținută pentru aceeași probă este mărită de 537 de ori.

Pentru a vedea dacă structura morfologică a sedimentelor influențează gradul de acumulare a compușilor farmaceutici s-au realizat analize SEM (Microscopia electronica cu scanare) pe două tipuri diferite probe de sediment, cu granulația cea mai fină și cu granulația cea mai mare. În Figurile 3.14 **b** și 3.14 **d** și se observă diferența de granulație dintre cele două tipuri de probe de sediment analizate, proba de sediment prelevată din stația S8 prezintă granulația cea mai mică, în timp ce, proba din stația S3 prezintă o granulație mult mai mare. Din rezultatele obținute în urma determinării substanțelor farmaceutice din probele de sediment, se constată faptul că în stația S8, stația cu granulația cea mai mică, s-au identificat cei mai mulți compuși din toți cei investigați aflați și în concentrația cea mai mare în comparație cu celelalte stații în care aceștia au mai fost identificați. În proba cu granulația cea mai mare, prelevată din stația S3 s-a identificat doar cafeina în concentrația cea mai mică. Studiile evidențiază faptul că particulele fine de sedimente (<63 μm) sunt cele mai active din punct de vedere chimic și rețin eficient nutrienții, metalele și contaminanții organici [53].

#### **3.4.4 Acumularea compușilor farmaceutici în țesut de pește**

Este cunoscut faptul că prezența compușilor farmaceutici în mediul acvatic chiar și în concentrații mici poate avea efecte toxice asupra biotei acvatice. De asemenea, unele studii raportează faptul că, în anumite condiții, acești poluanți industriali se pot acumula în organismele acvatice. În literatura de specialitate sunt raportate puține studii realizate pe specii de pești colectate din mediul natural pentru a evalua gradul de acumulare a substanțelor farmaceutice în țesut de pește. Până în prezent, pe fluviul Dunărea nu s-au realizat studii complexe care să cuprindă date cu privire la proprietatea unor clase farmaceutice care se regăsesc în apă de a se acumula în ihtiofauna. Cele mai multe studii care au urmărit capacitatea de acumulare a substanțelor farmaceutice în biota acvatică s-au realizat în condiții de laborator, în care substanțele farmaceutice au fost prezente în mediul experimental în concentrații mult mai mari decât cele reale.

În acest subcapitol s-a urmărit tendința compușilor farmaceutici studiați în prezenta teză de doctorat de a se acumula în organele diferitor specii de pești ce au ca habitat natural fluviul Dunărea. Astfel, au fost analizate șase specii de pești, pentru care s-a investigat prezența anumitor clase de substanțe farmaceutice în organe, precum: mușchi, branhiile, ficat și icre.

Speciile de pești supuse analizei au fost:

- *Alosa immaculata* (Scrumbia de Dunăre);
- *Carassius gibelio* (Caras);
- *Hypophthalmichthys molitrix* (Sânger);
- *Perca fluviatilis* (Biban);
- *Abramis brama* (Plătica);
- *Vimba vimba* (Morunaș).

- **Analiza compușilor farmaceutici din *Alosa immaculata***

Scrumbia este o specie de pește migratoare cu o valoare economică ridicată, datorită cantităților mari prezente în Dunăre, Delta Dunării și Marea Neagră și calității nutritive ridicate

a cărnii sale [54]. Cu toate acestea, studiile arată faptul că abundența acestei specii este în continuă scădere din cauza distrugerii habitatelor, exploatării necontrolate, prezenței speciilor invazive, poluării mediului acvatic și schimbărilor climatice. Conform Directivei Europene Habitate Anexa II și V, starea de conservare a *Alosa immaculata* în Bazinul Fluviului Dunărea - Marea Neagră este clasificată ca fiind nefavorabilă și inadecvată [55]. Mai mult decât atât, această specie este inclusă pe Lista roșie IUCN (Uniunea Internațională pentru Conservarea Naturii) ca fiind specie vulnerabilă, cu tendința populației în scădere sub presiune antropică [56]. În prezentul studiu au fost supuse analizei 3 exemplare de scrumbie pentru care s-a investigat prezența compușilor farmaceutici în țesut muscular, țesut hepatic, branhii și icre pentru a urmări tendința de acumulare a acestora în organele peștilor.

Tabel 3.3 Compușii farmaceutici investigați în *Alosa immaculata*

Compuși farmaceutici analizați	Exemplare pești analizați			
	Organe pești	<i>Alosa immaculata_1</i>	<i>Alosa immaculata_2</i>	<i>Alosa immaculata_3</i>
Cafeina (ng/g)	Țesut muscular	6,31	8,80	8,14
	Țesut hepatic	6,65	8,77	4,77
	Branhii	44,29	7,75	4,68
	Icre	6,08	5,85	5,34
Clindamicina (ng/g)	Țesut muscular	0,3	ND	ND
	Țesut hepatic	ND	ND	ND
	Branhii	ND	ND	ND
	Icre	ND	ND	ND
Claritromicina (ng/g)	Țesut muscular	1,9	ND	ND
	Țesut hepatic	ND	ND	ND
	Branhii	ND	ND	ND
	Icre	ND	ND	ND
Carbamazepina (ng/g)	Țesut muscular	0,24	0,25	0,24
	Țesut hepatic	ND	ND	ND
	Branhii	ND	ND	ND
	Icre	0,34	0,83	0,99

ND - Nedetectat

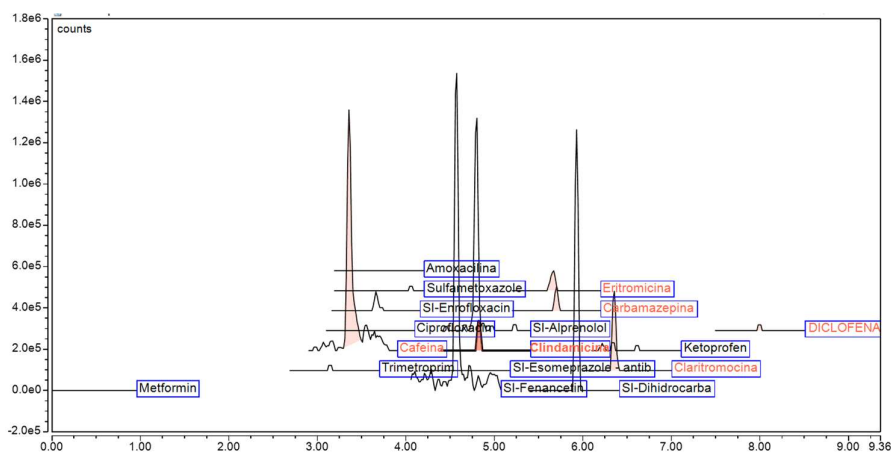


Figura 3.15 Cromatograma compușii farmaceutici identificați în țesutul muscular *Alosa immaculata\_1*



Rezultatele obținute în urma analizei probelor de țesut de pește de la specia *Alosa immaculata* au evidențiat prezența cafeinei în toate cele 3 exemplare de pește analizate și în toate cele 4 tipuri de organe investigate. Valorile concentrației de cafeină s-au situat în domeniul 4,68 ng/g – 44,29 ng/g, cea mai mare concentrație s-a înregistrat în branhiile extrase din exemplarul care a avut cea mai mare greutate.

De asemenea, urme de carbamazepina s-au observat și în țesuturile musculare provenite de la cei 3 pești în concentrații aflate în intervalul 0,34 ng/g - 0,99 ng/g. În țesutul muscular provenit de la exemplarul *Alosa immaculata\_1* s-au regăsit cei mai mulți compuși farmaceutici și anume: cafeina, clindamicina, claritromicina, carbamazepina și diclofenacul. În Figura 3.15 sunt reprezentate cromatogramele compușilor farmaceutici identificați în țesutul muscular de la exemplarul de scrumbie\_1 și standardele interne adăugate în probă pentru a se realiza cuantificarea acestora. Exemplarul de scrumbie în care s-au identificat cei mai mulți compuși farmaceutici este cel care a avut greutatea și lungimea cea mai mare în comparație cu celelalte 2 scrumbii analizate.

- **Analiza compușilor farmaceutici din *Carassius gibelio* (Caras)**

*Carassius gibelio* - Carasul este considerat ca fiind o specie abundentă în Fluviul Dunărea cu o importanță ridicată în pescuitul comercial [57]. În România, carasul este considerat ca fiind cel mai consumat pește local de apă dulce [58].

Pentru a identifica prezența compușilor farmaceutici în specia *Carassius gibelio* s-au luat în analiză 3 exemplare de pești și s-au realizat extracții din țesutul muscular, țesutul hepatic, branhiile și icre. Mai apoi, probele au fost injectate în echipamentul UHPLC-MS/MS și s-au căutat compușii farmaceutici studiați în prezenta teză de doctorat. Dintre toți compușii investigați, cafeina a fost cea care s-a regăsit în toate organele analizate din cei 3 pești, cu valori situate în domeniul 0,56 ng/g - 3,97 ng/g. Concentrațiile cele mai ridicate s-au înregistrat în branhiile. Întrucât branhiile sunt în contact direct cu mediul acvatic acestea pot reflecta nivelul de contaminare al acestuia [59].

Tabel 3.4 Compușii farmaceutici investigați în *Carassius gibelio*

Compuși farmaceutici analizați	Organe pești	Exemplare pești analizați		
		<i>Carassius gibelio_1</i>	<i>Carassius gibelio_2</i>	<i>Carassius gibelio_3</i>
Cafeina (ng/g)	Țesut muscular	1,04	1,28	0,81
	Țesut hepatic	1,62	1,88	1,31
	Branhii	1,58	3,97	1,72
	Icre	0,59	0,53	1,20

ND – Nedetectat

Ținând cont de faptul că această specie este utilizată în consumul uman cel mai important în zona Dunării și de faptul că există similitudini importante între mecanismele de afectare/acumulare a poluanților în țesuturile speciei și în unele din țesuturile umane (intestin și rinichi) studiul prezent se constituie într-o bază importantă de cercetări care se pot extinde la efectul asupra sănătății umane mai ales pentru locuitorii din zonele adiacente Dunării, pentru care Carasul este considerat uneori o delicatose.

- **Analiza compușilor farmaceutici din *Hypophthalmichthys molitrix* (Sânger)**

*Hypophthalmichthys molitrix* este una dintre cele mai frecvent crescute specii de pești de ape dulci din întreaga lume datorită costurilor reduse de producție în acvacultură, disponibilității sale mari și valorii nutriționale. Această specie este bogată în proteine, acizi grași polinesaturați, micronutrienți și vitamine liposolubile.

Tabel 3.5 Compușii farmaceutici investigați în *Hypophthalmichthys molitrix*

Compuși farmaceutici analizați	Organe pești	Exemplare pești analizați		
		<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> _1	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> _2	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> _3
Cafeina (ng/g)	Țesut muscular	5,31	2,78	2,91
	Țesut hepatic	1,27	1	3,51
	Branhii	3,97	3,30	4,61

ND – Nedetectat

Analizele realizate pe exemplarele care aparțin speciei *Hypophthalmichthys molitrix* au evidențiat faptul că din toate substanțele farmaceutice investigate în organele analizate doar cafeina a fost identificată. În tabelul 3.5 se observă că în țesutul muscular, țesutul hepatic și branhiile prelevate de la cei trei pești analizați s-au măsurat concentrații scăzute de cafeină. În țesutul muscular valorile concentrației de cafeina au variat de la 2,78 ng/g la 5,31 ng/g, în țesutul hepatic concentrațiile s-au situat în intervalul 1 ng/g - 3,51 ng/g, iar în branhiile s-au înregistrat valori cuprinse în domeniul 3,30 ng/g – 4,61 ng/g. În general se poate observa faptul că în branhiile se acumulează cafeina într-o proporție mai mare în comparație cu celelalte organe. Acest lucru poate fi datorat faptului că branhiile au rolul de a filtra apa favorizând astfel și acumularea compușilor în aceste organe.

- **Analiza compușilor farmaceutici din *Perca fluviatilis* (Bibanul)**

Bibanul european (*Perca fluviatilis*) este un pește răpitor originar din cea mai mare parte a Europei și din nordul Asiei. Peștii care aparțin acestei specii au valoare nutritivă ridicată și conținut scăzut de grăsimi de 1% ceea ce îi face a potrivii pentru includerea în dieta [60,61].

În Tabelul 3.6 sunt prezentați compușii care au fost investigați în organele peștilor care aparțin speciei *Perca fluviatilis* și valorile obținute pentru acești compuși care au fost identificați în probe. Rezultatele experimentale au demonstrat prezența cafeinei în țesutul muscular a celor trei exemplare de biban, în concentrații cuprinse în domeniul 1,73 ng/g - 3,57ng/g. Pentru această specie, cele mai mari concentrații de cafeina s-au înregistrat în țesutul hepatic, valorile fiind situate în intervalul 1,35 ng/g – 7,41 ng/g. Ficatul este considerat un indicator de mediu important datorită rolului său în acumularea și transferul poluanților [61]. În probele de icre colectate de la cele 3 exemplare de biban s-a observat prezența cafeinei în concentrații cuprinse în ecartul 0,75 ng/g – 2,47 ng/g. În țesutul muscular colectat de la exemplarul *Perca fluviatilis*\_2 s-a identificat o concentrație de 0,4 ng/g pentru compusul diclofenac. Pentru ceilalți compuși care au fost investigați în țesuturile biotice prelevate de la exemplarele care aparțin speciei *Perca fluviatilis* nu s-au obținut valori. Acest lucru se datorează faptului că unele substanțe farmaceutice se găsesc în concentrații foarte scăzute în probele de apă de suprafață și cu o frecvență redusă. Mai mult decât atât, această clasă de poluanți industriali prezintă

afinitate scăzută pentru probele solide, în comparație cu alți poluanți precum metale grele, pesticide, compuși perfluoroalchiali.

Tabel 3.6 Compușii farmaceutici investigați în *Perca fluviatilis*

Compuși farmaceutici analizați	Exemplare pești analizați			
	Organe pești	<i>Perca fluviatilis_1</i>	<i>Perca fluviatilis_2</i>	<i>Perca fluviatilis_3</i>
Cafeina (ng/g)	Țesut muscular	3,57	2,98	1,73
	Țesut hepatic	7,41	5,78	1,35
	Branhii	ND	4,01	ND
	Icre	0,75	1,44	2,47

ND – Nedetectat

- **Analiza compușilor farmaceutici din *Abramis brama* (Plătică)**

*Abramis brama* cunoscută sub numele de Plătică este o specie bentonică de apă dulce, larg răspândită în fluviul Dunărea, cu o abundență de 16% raportat la totalitatea capturilor și folosită frecvent în alimentația umană [62]. Această specie este cunoscută ca fiind una dintre cele mai valoroase din punct de vedere comercial [63].

Această specie este des utilizată ca bioindicator al mediului acvatic datorită abundenței mari și potențialului său ridicat de acumulare a poluanților. Până în prezent, în literatura de specialitate s-au raportat în special studii care demonstrează capacitatea acestei specii de a acumula metale grele [62,64]. Prezenta teză de doctorat și-a propus să evalueze gradul de acumulare în pești din specia *Abramis brama* pentru diferite clase de compuși farmaceutici identificați în probele de apă prelevate din fluviul Dunărea. Rezultatele obținute demonstrează prezența cafeinei în organele colectate de la exemplarele de plătică luate în analiză. Valorile concentrației de cafeină s-au situat în intervalul 2,98 ng/g – 13,94 ng/g.

Studiile de specialitate evidențiază faptul că alcaloidul cafeina a fost detectat în organismele acvatice datorită capacității de bioacumularea a acestuia în țesuturi după expunerea în termen lung în apa contaminată [50]. S-au identificat concentrații de cafeină în specii de pești colectați din Marea Roșie, precum: *Gerres oyena*, *Chanos chanos*, *Lethrinus nebulosus*, *Lethrinus nebulosus*, *Oreochromis niloticus*, dar și în microalge marine [65]. Într-un studiu care a avut ca principal obiectiv analiza diferitor exemplare de pești din specia Crap colectați dintr-un râu din Spania care este contaminat direct cu apă uzată provenită de la stația de epurare s-a observat că în 9 din cei 10 pești analizați s-a identificat cafeina în concentrații cuprinse în intervalul 0,44 ng/g – 24,5 ng/g [66].

Tabel 3.7 Compușii farmaceutici investigați în *Abramis brama*

Compuși farmaceutici analizați	Exemplare pești analizați		
	<i>Abramis brama_1</i>	<i>Abramis brama_2</i>	
	<b>Organe pești</b>		
Cafeina (ng/g)	Țesut muscular	5,79	12,37
	Țesut hepatic	8,37	ND
	Branhii	5,16	3,02
	Icre	13,94	2,98

ND – Nedetectat

Pentru ceilalți compuși analizați nu s-au observat tendințe de acumulare în organele peștilor care aparțin speciei *Abramis brama*, fapt ce reprezintă un aspect pozitiv pentru consumatorii de pești din mediul acvatic natural.

- **Analiza compușilor farmaceutici din *Vimba vimba* (Morunaș)**

*Vimba vimba* cunoscut sub numele de Morunaș este o specie bentofagă, de talie mică, anadromă, din familia Crapului care în mediul natural prezintă sensibilitate crescută la modificările habitatului și poluare [67,68]. Aceasta este cunoscută ca fiind una din speciile ihtiofaunei europene aflată pe cale de dispariție, în special, din cauza pescuitului excesiv [69].

În prezenta teză de doctorat s-a urmărit gradul de acumulare a unor clase de substanțe farmaceutice și în exemplare de pești care aparțin speciei *Vimba vimba* colectate din fluviul Dunărea. Din rezultatele obținute se observă faptul că și pentru această specie cafeina este cea care a fost detectată în toate organele analizate. Pentru exemplarul *Vimba vimba* \_1 valorile cafeinei s-au situat în intervalul 16,69 ng/g - 22,55 ng/g, cea mai mare concentrație s-a obținut în branhiile. În al doilea morunaș, s-au identificat concentrații mai mici de cafeina comparativ cu primul, valorile situându-se în domeniul 2,16 ng/g - 11,24 ng/g.

Tabel 3.8 Compușii farmaceutici investigați în *Vimba vimba*

Compuși farmaceutici analizați	Exemplare pești analizați		
	Organe pești	<i>Vimba vimba</i> _1	<i>Vimba vimba</i> _2
Cafeina (ng/g)	Țesut muscular	16,69	10,17
	Țesut hepatic	19,91	11,24
	Branhii	22,55	2,16

ND – Nedetectat

Din Tabelul 3.8 se poate observa faptul că pentru exemplarele din specia *Vimba vimba* în afara cafeinei, nu s-au detectat și alți compuși farmaceutici din lista celor studiați. Coeficientul de partiție octanol/apă al fiecărui compus farmaceutic analizat confirmă faptul că potențialul de bioacumulare și bioconcentrare a acestora în biotă este scăzut.

În literatura de specialitate nu sunt raportate studii care să urmărească analiza acestui tip de poluanți industriali în specia *Vimba vimba*. Cu toate acestea, într-un studiu în care sunt co-autor s-a constatat faptul că această specie de pește are capacitatea de a acumula metale grele existente în mediul acvatic natural, în special Hg, pentru care s-au obținut valori mari (0,28 mg/kg) [64].

### **3.4.5 Instrument predictiv bazat pe un cadru analitic suport în vederea creșterii sustenabilității activității de monitorizare a poluanților industriali din apa bazinului inferior al Dunării**

Prezentul studiu își propune să realizeze un cadru predictiv complex, bazat pe multipli algoritmi matematici, în scopul elucidării unor relații complexe dintre diverși compuși farmaceutici din apă, oferind astfel baza necesară pentru dezvoltarea ulterioară a unor senzori virtuali în vederea creșterii sustenabilității activităților de monitorizare la nivelul bazinului inferior al Dunării.

Noutatea absolută a studiului este susținută îndeosebi de structura și componența bazei de date, aceasta fiind formată dintr-un număr de 9 compuși farmaceutici emergenți care se afla pe lista de priorități la nivelul organismelor de decizie europene și internaționale, ca fiind potențial adăugați pe listele de specii chimice în Directiva Cadru Apă. Este de menționat că însăși identificarea și cuantificarea acestor produși a fost o provocare mai ales din punctul de vedere al exigentelor analitice și al strategiilor de optimizare a procedurilor utilizate. Compușii în cauză au fost cuantificați cu o frecvență diferită, fapt ce a generat un număr variat de input-uri la nivelul fiecărui parametru, scenariu provocator în contextul folosirii algoritmilor de Inteligență Artificială (IA).

În vederea realizării cadrului analitic au fost testate tehnici supervizate și nesupervizate de IA. Modelele nesupervizate vizează identificarea modului de acțiune al algoritmului și scopul acestora este de a consemna toate tipurile de rezultate, analizând, în ansamblu toate relațiile existente la nivelul intrărilor. În cazul de față se pot identifica o serie de algoritmi de învățare nesupervizați, ce pot fi folosiți pentru clusterizarea bazei de date în grupuri de date cu același comportament statistic. Dat fiind acest lucru, Analiza Componentelor Principale (PCA) a fost luată în calcul, aceasta fiind precedată și de analiza corelativă și statistică.

Învățarea supervizată este generată de o serie de algoritmi capabili să identifice relații între multipli predictorii, denumiți și variabile independente, și o variabilă dependentă numită variabilă prezisă și asociată sensorului virtual ce urmează a fi dezvoltat. Astfel, în cadrul prezentului studiu au fost testate o serie de 12 modele de învățare supervizată, după cum urmează:

- Linear Regression;
- Ridge;
- RANSAC Regressor;
- Voting Regressor;
- Stacking Regressor;
- Support vector Regression – SVR;
- XGBoost Regressor -XGB;
- AdaBoost Regressor;
- RandomForest Regressor;
- Decision Tree Regressor;
- Gaussian Process Regressor;
- Linear GAM;

Indicatorii metrici de acuratețe a modelelor mai sus menționate sunt următorii: mean squared error (eroarea medie pătratică), root mean squared error (eroarea medie a rădăcinii pătrate), R-squared, Adjusted R-squared.

### ➤ **Analiza corelativă și statistică**

Graficul are în abscisă și ordonată dreptunghiuri în dreptul fiecărei specii chimice, gradul de corelare fiind descris prin legenda, valoare minimă fiind -1, iar valoare maximă +1.

Din analiza matricei de corelații realizate între cei 9 compuși se observă o corelație puternic pozitivă între ketoprofen și clindamicina, precum și corelații pozitive (coeficient de corelație >0,5) între carbamazepina și metformin, sulfametoxazol și claritromicină.



Figura 3.16 Matricea de corelații a compușilor farmaceutici

Singura corelație negativă cu un coeficient mai mare decât 0,5 este înregistrată între trimetoprim și diclofenac (Figura 3.16).

➤ **Tehnici nesupervizate de Inteligență artificială**

- Analiza PCA a compușilor farmaceutici

Analiza PCA a compușilor farmaceutici scoate în evidență 7 componente distincte la nivelul bazei de date.

Astfel, cafeina, carbamazepina și metforminul sunt principalii compuși din cadrul primei componente, aceștia explicând mai mult de 80% din variația componentei. În cadrul celei de-a doua componente, clindamicina și ketoprofenul explică peste 90% din variabilitate, în timp ce, pentru componenta a 3 a, trimetoprimul este componenta centrală (Figura 3.17).

Variables	Components							Total
	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	
Caf	0.26	0.01	0.04	0.14	0.13	0.24	0.17	1.00
Car	0.30	0.03	0.00	0.07	0.03	0.13	0.44	1.00
Cli	0.08	0.34	0.00	0.10	0.06	0.27	0.15	1.00
Ket	0.01	0.48	0.00	0.01	0.21	0.24	0.06	1.00
Met	0.29	0.00	0.00	0.02	0.42	0.11	0.16	1.00
Sul	0.06	0.10	0.17	0.52	0.15	0.00	0.01	1.00
Tri	0.00	0.04	0.78	0.15	0.01	0.01	0.01	1.00

Figura 3.17 Clasificarea pe componente a bazei de date

Primele două componente explică mai mult de 65% din variabilitatea întregului set de date (Fig. 3.18). Sunt consemnate relații apropiate de variație dintre metformin și cafeina, acestea fiind legate de componenta 1 (PC1), precum și între trimetoprim și ketoprofen, acestea condiționând într-o bună măsură variația PC2.

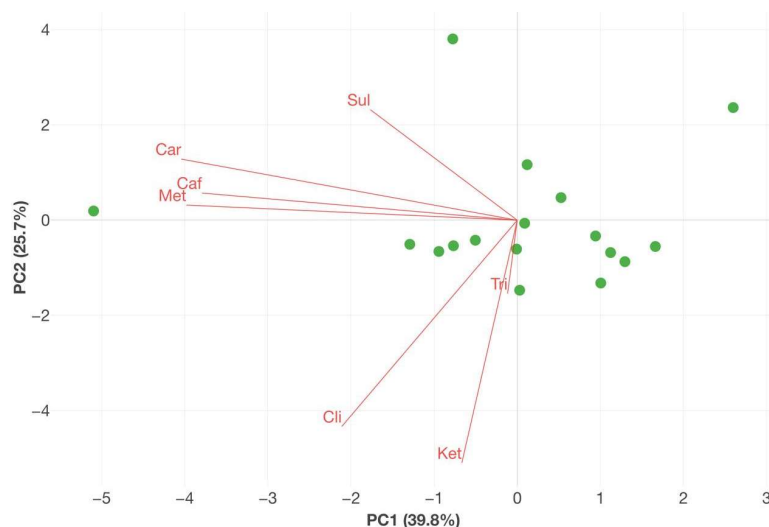


Figura 3.18 Analiza PCA a compușilor farmaceutici

- **Modelarea supervizată – Machine Learning**

- **Componenta 1 a cadrului analitic**

- **Model de predicție a Cafeinei**

Algoritmii de Machine Learning prezentați anterior au fost folosiți pentru generarea unor modele predictive ce au drept scop predicția concentrației de cafeină în funcție de carbamazepină și metformin.

Luând în considerare algoritmii cu interpretabilitate ridicată prin prisma valorilor de feature importance, putem afirma faptul că carbamazepina este predictorul principal pentru determinarea concentrației de cafeina din apa, fapt confirmat atât de AdaBoost Regressor și Decision Tree Regressor, XGBoost Regressor -XGB.

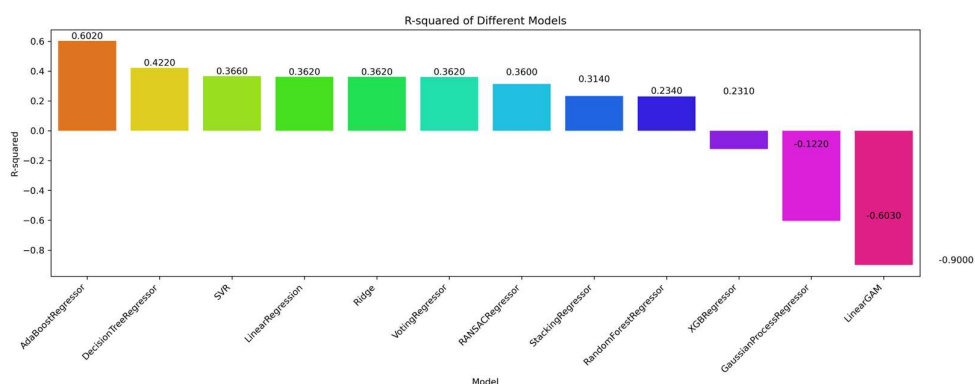


Figura 3.19 R-squared obținut pentru predicția cafeinei – componenta 1

Astfel, analizând metricele de acuratețe ale modelelor testate (Figura 3.19) se poate constată faptul că, algoritmii AdaBoost Regressor și Decision Tree Regressor consemnează cele mai bune performante de predicție, în timp ce indicatorii Gaussian Process Regressor și Linear GAM au valori R-sq negative.

Tabel 3.9 Valorile feature importance asociate algoritmilor de Machine Learning cu interpretabilitate ridicată pentru predicția cafeinei

Feature	RandomForest	AdaBoost	DecisionTree	XGBoost
Carbamazepina	0,843	0,634	0,893	0,953
Metformin	0,157	0,366	0,107	0,047

Se constată o similitudine ridicată a rezultatelor de feature importance în condițiile folosirii Decision Tree Regressor și RandomForest Regressor (Tabelul 3.9). Putem concluziona faptul că Decision Tree Regressor oferă o acuratețe superioară și este singurul model de acuratețe superioara validat de un alt model asemanator și anume RandomForest Regressor.

- **Componenta 2 a cadrului analitic**

- ✚ **Model de predicție a Carbamazepinei**

Algoritmii de Machine Learning prezentați anterior au fost folosiți pentru generarea unor modele predictive ce au drept scop prezicerea concentrației de carbamazepinei în funcție de cafeina, metformin, trimetoprim, clindamicina și sulfametoxazol.

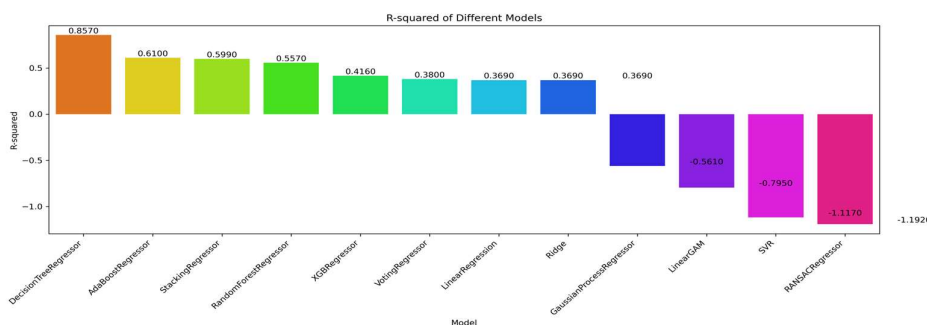


Figura 3.20 R-squared obținut pentru predicția carbamazepinei - componenta 2

Contrar situației întâlnite în cadrul componentei 1, pentru modelarea carbamazepinei, în componenta 2 diversificarea numărului de predictorii induce o creștere a metricilor de acuratețe ale modelelor de predicție. Astfel, rezultatele cele mai bune sunt înregistrate în dreptul Stacking Regressor; AdaBoost Regressor; RandomForest Regressor, Decision Tree Regressor. Dintre acești algoritmi, 3 sunt clasati în zona celor cu interpretabilitate ridicată, 2 fiind similari în ceea ce privește ranking-ul feature importance.

Cafeina se dovedește a fi cel mai important predictor pentru prezicerea carbamazepinei conform RandomForest Regressor si Decision Tree Regressor urmat fiind de metformin. Astfel se validează rezultatul consemnat in componenta 1 și se concluzionează faptul ca un cadru analitic mai diversificat (număr ridicat de predictorii) poate potentă acuratețea metricilor de predicție pentru acest compus (Figura 3.20).

- ✚ **Model de predicție a Sulfametoxazolului**



Algoritmii de Machine Learning prezentați anterior au fost folosiți pentru generarea unor modele predictive ce au drept scop prezicerea concentrației de sulfametoxazol în funcție de cafeină, metformin, trimetoprim, clindamicină și carbamazepină.

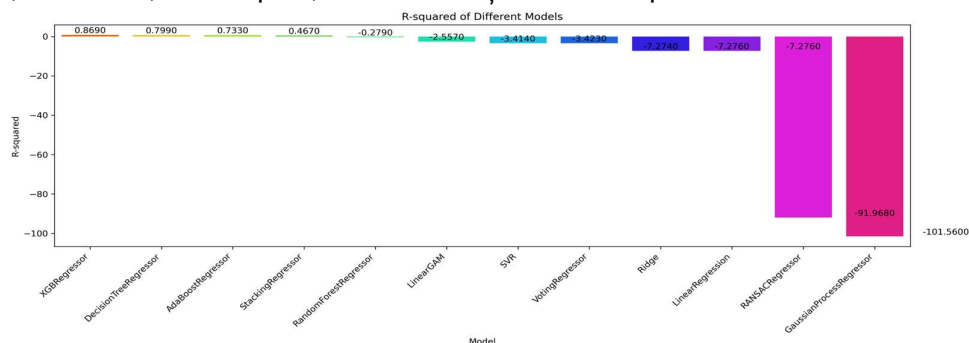


Figura 3.21 R-squared obținut pentru predicția sulfametoxazolului - componenta 2

Pentru modelarea sulfametoxazolului, în componenta 2 diversificarea numărului de predictorii induce o creștere a metricilor de acuratețe ale modelelor de predicție. Astfel, rezultatele cele mai bune sunt înregistrate în dreptul Stacking Regressor; AdaBoost Regressor; RandomForest Regressor, Decision Tree Regressor. Dintre acești algoritmi, 3 sunt clasificați în zona celor cu interpretabilitate ridicată. Carbamazepina, urmată de trimetoprim și clindamicina se dovedesc a fi cei mai importanți predictorii pentru prezicerea sulfametoxazolului conform AdaBoost Regressor; RandomForest Regressor, Decision Tree Regressor și XGBoost Regressor -XGB. Astfel, modelul de predicție reprezintă un instrument suport eficient pentru predicția sulfametoxazolului, bazat pe comportamentul de variație al celor 5 predictorii consemnați anterior (Fig. 3.21).

- **Componenta 3 a cadrului analitic**

- **Model de predicție a antiepilepticilor**

Gruparea parametrilor pe clase de compuși farmaceutici s-a realizat din două considerente, primul motiv generat de necesitatea depășirii factorului limitativ legat de numărul redus de imput-uri asociat fiecărui compus și al doilea motiv ce este declanșat de designul metodologic asumat, acela de a valida rezultatele obținute în scenariile de modelare a compușilor (componenta 1 și componenta 2), folosind scenarii de modelare a claselor de substanțe farmaceutice.

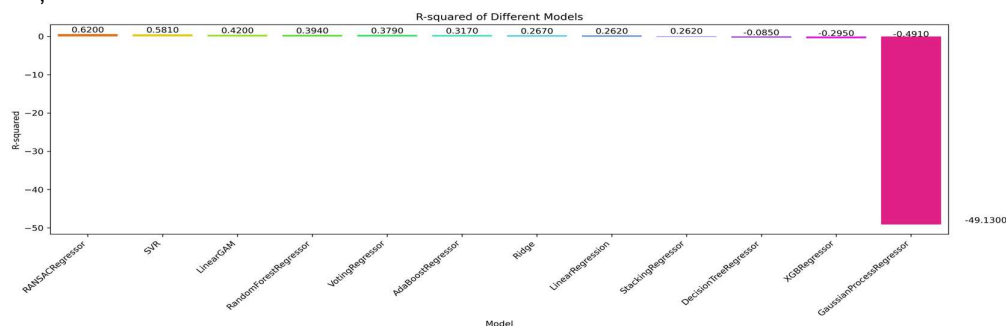


Figura 3.22 R-squared obținut pentru predicția antiepilepticilor - componenta 3

Metricele modelului de predicție a antiepilepticelor în funcție de alcaloizi și antibiotice sunt superioare celor asociate modelului de predicție a carbamazepinei din cadrul componentei 1. Astfel, RANSAC Regressor și Support vector Regression – SVR înregistrează cele mai mari valori pentru R-sq, în timp ce din rândul algoritmilor cu interpretabilitate mare, AdaBoost Regressor, RandomForest Regressor sunt cei mai preciși în predicție. În concluzie, analizând valorile feature importance ale ultimilor 2 se constată o similitudine ridicată a acestora, reliefând, așadar, influența ridicată a antibioticelor asupra antiepilepticelor.

Tabel 3.10 Valorile feature importance asociate algoritmilor de Machine Learning cu interpretabilitate ridicată pentru predicția antiepilepticelor

Feature	RandomForest	AdaBoost	DecisionTree	XGBoost
Alcaloizi	0,383	0,398	0,344	0,168
Antibiotice	0,617	0,602	0,656	0,832

Rezultatele predicției confirmă parțial valorile feature importance ale cafeinei, respectiv clasa de alcaloizi, asupra carbamazepinei, respectiv grupului de antiepileptice și, în același timp, oferă perspective noi de dezvoltare a cadrului predictiv pe direcția antibioticelor drept predictorii principali (Fig.3.22).

#### ✚ Model de predicție a alcaloizilor

Algoritmul de predicție a alcaloizilor în funcție de antiepileptice și antibiotice relevă performanțe bune în dreptul RANSAC Regressor, Stacking Regressor Support vector Regression – SVR, Linear GAM, precum și XGBoost Regressor -XGB, AdaBoost Regressor, RandomForest Regressor dintre modelele cu interpretabilitate ridicată (Fig. 3.23).

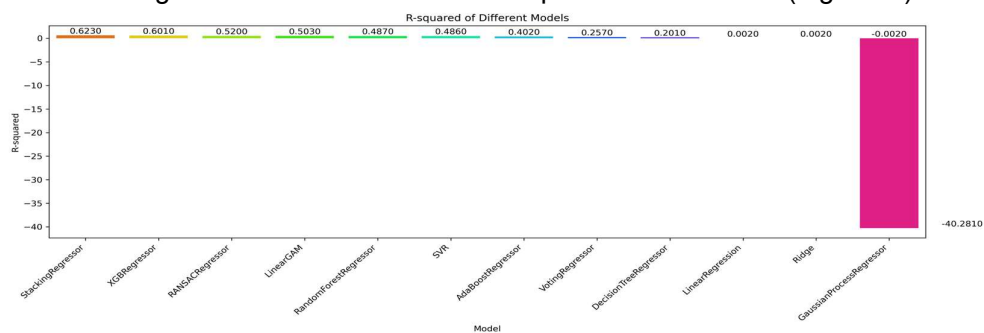


Figura 3.23 R-squared obținut pentru predicția alcaloizilor - componenta 3

Tabel 3.11 Valorile feature importance asociate algoritmilor de Machine Learning cu interpretabilitate ridicată pentru predicția alcaloizilor

Feature	RandomForest	AdaBoost	DecisionTree	XGBoost
Antiepileptice	0,657	0,514	0,650	0,577
Antibiotice	0,343	0,486	0,350	0,423

Se observă o concordanță a valorii feature importance asociată celor 2 clase de predictorii antiepileptice, antibiotice, atunci când se iau în considerare ultimii algoritmi menționați. Astfel, antiepilepticele sunt considerate principalii predictorii pentru alcaloizi, confirmat ipoteza demonstrată și în cadrul componentei 1, conform căreia carbamazepina este predictorul principal pentru cafeina (Tabelul 3.11).

## Capitolul 4. Metode de degradare a compușilor farmaceutici

### 4.1 Obiectivele studiului

În capitolele anterioare a fost demonstrată prezența unor substanțe farmaceutice persistente, în special în apă, care pot afecta calitatea ecosistemelor acvatice de suprafață, a biotei și, în mod direct, sănătatea umană ținând cont că pe teritoriul României există peste 6 milioane de persoane care au drept sursă principală de apă potabilă, apa Dunării.

Capitolele anterioare au avut ca obiectiv, în prima parte, optimizarea metodelor de monitorizare și aplicarea acestora pe probe de mediu. Un alt obiectiv al tezei de doctorat în inginerie industrială este constituit de găsirea unor soluții practice care să permită diminuarea sau eliminarea substanțelor farmaceutice evidențiate la capitolele anterioare. Un principiu care a stat la baza alegerii metodei de tratare a apelor uzate este referitor la sustenabilitatea proceselor respectiv la suportabilitatea economică a acestora cu un raport cost - beneficiu rezonabil care să nu ridice costurile de exploatare peste anumite limite suportabile.

În afară de aceste considerente, selecția metodelor de tratare a avut în vedere posibilă multifuncționalitate, mai precis capabilitatea metodelor de a asigura și eliminarea microorganismelor cu potențial toxic.

### 4.2 Descrierea experimentală

Majoritatea stațiilor de tratare a apelor utilizează, în dezinfectia apelor, oxidanți chimici, precum clorul, fapt ce implică o serie de dezavantaje, printre care, cel mai important este obținerea de subproduse de dezinfectie cu toxicitate foarte mare pentru mediu și sănătatea umană. Din acest motiv, în ultima perioadă, s-a acordat o atenție deosebită în dezvoltarea unor procese avansate care să nu implice afectarea mediului și sănătății umane.

Stațiile avansate de tratare a apei uzate folosesc ca metodă eficientă de dezinfectie aplicarea de lămpi UV-C. Din acest motiv, prezentul studiu își propune valorificarea acestei tehnologii prin cercetarea capacității sale de a realiza fotoliza diferitor clase de substanțe farmaceutice [70]. Având în vedere cele de mai sus, metoda care corespunde condițiilor descrise anterior presupune expunerea unor clase de substanțe farmaceutice care se regăsesc în ape uzate la radiații UV-C cu lungime de undă de 254 nm, metodă care are capacitatea de a reacționa atât pe speciile chimice având legături covalente multiple cât și pe microorganisme.

Compușii supuși fotolizei au fost: sulfametoxazolul, carbamazepina, ketoprofenul, diclofenacul, trimetoprimul, claritomicina, ciprofloxacina, clindamicina, cafeina și metforminul. Pentru fiecare compus s-au preparat soluții standard individuale de concentrație 100 ng/mL, s-a ales această concentrație pentru a fi aproape de concentrațiile reale în care se găsesc cel mai des acești compuși în apele uzate. Soluțiile rezultate au fost expuse la o lampa UV-C cu puterea de 20 W pe următoarele intervale de timp: 0 minute, 5 minute, 15 minute, 25 minute, 45 minute, 60 minute și 90 minute. În literatură există experiențe similare, dar cu valori ale concentrațiilor substanțelor chimice de 1000 de ori mari decât cele din apele uzate reale, ceea ce conduce la incertitudini asupra reproductibilității experimentelor în condiții reale. Ținând cont de multitudinea poluanților chimici industriali care conțin sisteme de legături multiple (cromofori) sensibili la atacul UV-C, experimentele îndeplinesc condițiile pentru transferul în stațiile de tratare a apelor uzate cu costuri tehnologice minime.

### 4.3 Rezultate și discuții

- **Degradarea Sulfametoxazolului sub acțiunea radiațiilor UV-C**

Experimentul de degradare a compusului farmaceutic sulfametoxazol a constatat în expunerea unei soluții de concentrație 100 ng/mL la radiație UV-C la următoarele intervale de timp: T0-proba fără expunere la radiație UV-C, T1- expunere timp de 5 minute la radiație UV-C, T2- expunere timp de 15 minute la radiație UV-C, T3 - expunere timp de 25 minute la radiație UV-C, T4 - expunere timp de 45 minute la radiație UV-C, T5 - expunere timp de 60 minute la radiație UV-C și T9 - expunere timp de 90 minute la radiație UV-C (Fig.4.1).

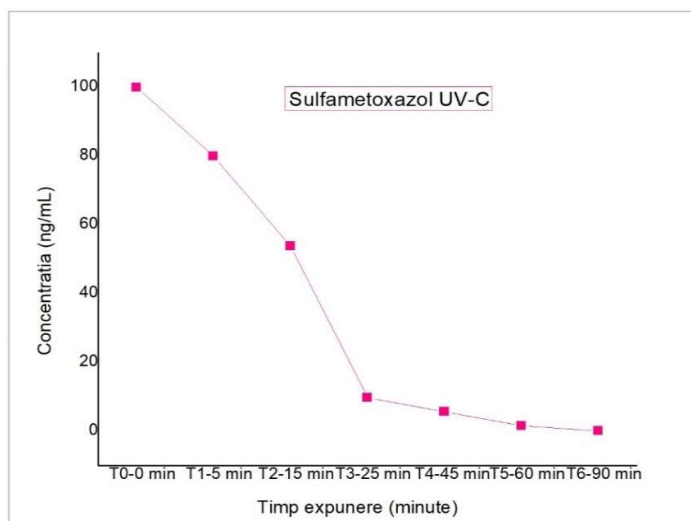


Figura 4.1 Variația concentrației de Sulfametoxazol în funcție de timpul de expunere la UV-C

Pentru acest compus se observă o scădere a concentrației de sulfametoxazol care este direct proporțională cu timpul de expunere la radiația UV-C. După 5 minute de expunere a probei la lampa, concentrația de sulfametoxazol a scăzut cu 20,16%, după 15 minute concentrația a scăzut de la 79,94 ng/mL la 53,83 ng/mL. O scădere semnificativă a concentrației de sulfametoxazol s-a observat după o expunere a probei timp de 25 de minute la radiația UV-C, atunci când concentrația s-a diminuat cu aproximativ 90%. După o expunere de 90 de minute la radiația UV-C compusul sulfametoxazol a fost degradat complet.

În experimentul realizat în prezenta teză de doctorat pe soluția de sulfametoxazol de concentrație scăzută de 100 ng/mL s-a observat odată cu expunerea la radiația UV-C apariția unui izomer al sulfametoxazolului la timpul de retenție 1,6 care este reprezentat de produsul principal de degradare al acestui compus și anume, 4-amino-N-(5-metiloxazol-2-il) benzensulfonamidă -  $C_{10}H_{11}N_3O_3S$  care a fost raportat și în literatura de specialitate. Producții secundari de degradare menționați în studiile de specialitate nu au fost identificați în prezentul studiu, aceștia aflându-se sub limita de detecție a echipamentului LC-MS. Acest lucru poate evidenția faptul că pentru concentrații scăzute de sulfametoxazol, de ordinul ng/mL, concentrația acestui compus și a produșilor săi de degradare scade semnificativ, în urma fotolizei, sub limita de detecție a echipamentelor de înaltă performanță și rezoluție.

- **Degradarea Diclofenacului sub acțiunea radiațiilor UV-C**

Pentru fotoliza compusul diclofenac s-au respectat aceleași condiții experimentale care s-au aplicat și în cazul compusului sulfametoxazol. În Figura 4.2 se poate observa faptul că după 5 minute de expunere la radiație UV-C concentrația de diclofenac a scăzut cu 16,94%, iar după 15 minute s-a înregistrat o scădere semnificativă cu aproximativ 62,8% față de T0. După 25 minute de expunere la radiația UV-C, concentrația de diclofenac a ajuns la 14,91 ng/mL, iar după 45 de minute s-a obținut concentrația de 1,09 ng/mL. Expunerea la mai mult de 60 de minute a degradat complet compusul diclofenac, așa cum se poate observa în figura 4.2.

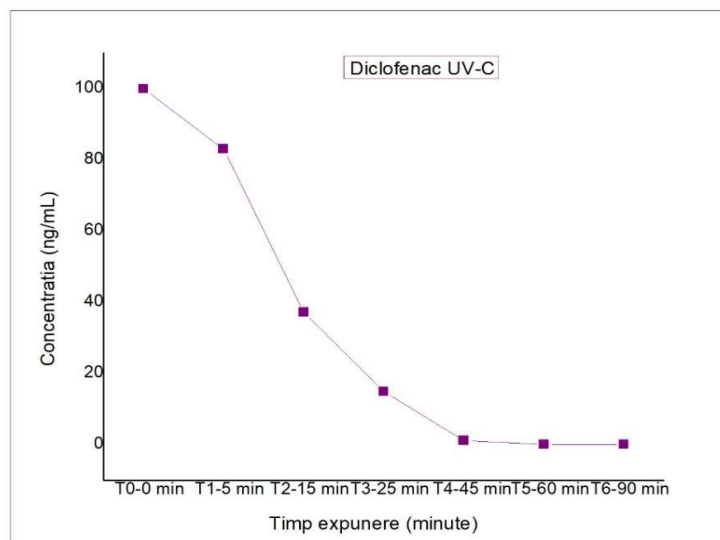


Figura 4.2 Variația concentrației de Diclofenac în funcție de timpul de expunere la UV-C

În studiile de specialitate realizate pe fotoliza diclofenacului aflat în concentrații de ordinul mg/L s-au obținut diferiți produși de degradare ai acestuia. Produsul primar de degradare al diclofenacului obținut în urma expunerii la radiației UV-C este acidul 2-(8-clor-9H-carbazol-1-il) acetic -  $C_{14}H_{10}ClNO_2$  ( $m/z=260,04783$ ) care suferă o transformare ulterioară în acidul (8-hidroxi-9H-carbazol-1-il) acetic -  $C_{14}H_{11}NO_3$  ( $m/z=242,08169$ ) [71,72]. În prezenta teză de doctorat, la timpul de retenție 7,54, după expunerea diclofenacului timp de 5 minute la radiație UV-C s-a observat apariția produsului primar de degradare al acestuia ( $C_{14}H_{10}ClNO_2$ ,  $m/z=260,04783$ ) care a fost identificat și în probele expuse timp de 15, 25 și 45 minute. De asemenea, și produsul de degradare secundar  $C_{14}H_{11}NO_3$  ( $m/z=242,08172$ ) a fost identificat la timpul de retenție 6, în probele expuse timp de 5, 15, 25, 45 și 60 de minute cu o scădere a intensității ariei odată cu creșterea timpului de expunere. În proba care a fost degradată timp de 90 de minute nu a mai fost identificat niciunul din cei doi produși de degradare ai diclofenacului menționați anterior.

- **Degradare Ketoprofenului sub acțiunea radiațiilor UV-C**

Degradarea antiinflamatorului nesteroidian Ketoprofen sub acțiunea radiației UV-C s-a dovedit a fi foarte eficientă chiar după primele 5 minute de expunere. Concentrația inițială a ketoprofenului de 100 ng/mL a scăzut semnificativ cu aproximativ 90,49 % după ce a fost supusă fotolizei timp de 5 minute. După o expunere de 15 minute a soluției de ketoprofen la radiația UV-C, acest compus nu a mai fost identificat în probă, fapt observat și în soluțiile care au fost expuse timp de 15, 25 și 45 minute (Fig. 4.3).

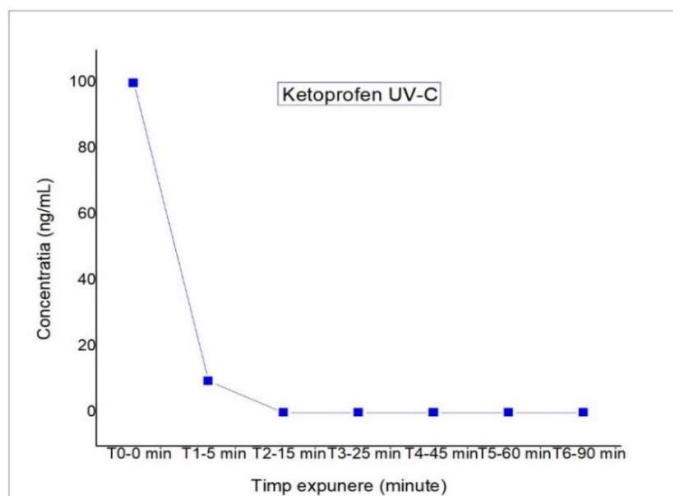


Figura 4.3 Variația concentrației de Ketoprofen în funcție de timpul de expunere la UV-C

Eficiența procesului de degradare directă a ketoprofenului de radiație UV-C este dată de prezența inelului benzenic care se află în structura sa. Fotoliza directă a ketoprofenului favorizează ruperea grupării hidroxil legată de gruparea carbonil care conduce la formarea de radicali  $\cdot\text{OH}$  [73]. Într-un studiu realizat pe degradarea ketoprofenului aflat într-o soluție de concentrație de 1 mg/L sub acțiunea radiației UV-C s-a evidențiat obținerea următorilor produși de degradare: acid 2-(3-(carboxiometil)-fenil) propanoic -  $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_5$  ( $m/z=223$ ), acid 2-(3-(carboxi(hidroxi)-metil)fenil) propanoic -  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_5$  ( $m/z=225$ ) [74]. În prezentul studiu nu au fost identificați produșii de degradare menționați în literatura de specialitate fapt ce se poate datora concentrației scăzute de ketoprofen supusă degradării (100 ng/mL), iar produșii de degradare fiind, cel mai probabil, sub limita de detecție a echipamentului.

- **Degradarea Ciprofloxacinei sub acțiunea radiațiilor UV-C**

Un alt antibiotic supus fotolizei este ciprofloxacina care a fost expus la radiație UV-C în aceleași condiții experimentale ca și ceilalți compuși descriși anterior.

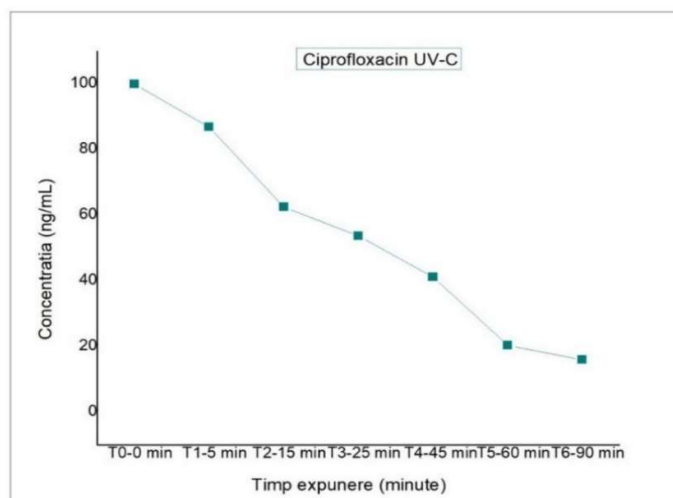


Figura 4.4 Variația concentrației de Ciprofloxacin în funcție de timpul de expunere la UV-C

Din graficul 4.4 se observă o diminuare a concentrației inițiale cu 13,08%, chiar după 5 minute de expunere a probei la radiația UV-C. După 15 minute de degradare, concentrația de ciprofloxacina a scăzut cu aproximativ 46 %, iar după 25 de minute concentrația s-a înjumătățit. Expunerea acestui compus farmaceutic la 45 și 60 de minute a condus la degradarea acestuia cu 59%, respectiv 79%. Rezultatele obținute au evidențiat faptul că nici după 90 de minute nu s-a realizat degradarea totală a acestuia, concentrația măsurată în ultima probă fiind de 15,89 ng/mL. După ce s-a realizat analiza probelor supuse fotolizei și s-a observat diminuarea concentrației compusului ciprofloxacina s-au căutat în spectrul de masă produșii de degradare ai acestuia. S-a identificat, la timpul de retenție 3,1 minute, produsul principal de degradare care are  $m/z = 330.14538$  și pentru care s-a observat o creștere a intensității ariei odată cu creșterea timpului de expunere la radiația UV-C.

Un alt produs de degradare al ciprofloxacinei este compusul cu formula moleculară  $C_{17}H_{17}N_3O_5$  și  $m/z = 344,12465$  care s-a identificat la timpul de retenție 3,9 minute și pentru care s-a observat cea mai mare intensitate a ariei în proba care a fost degradată timp de 90 de minute.

Pentru ceilalți compuși farmaceutici supuși fotolizei directe cu UV-C nu s-a observat degradarea acestora.

## **Capitolul 5. Concluzii finale, contribuții personale și direcții viitoare de cercetare**

Rezultatele prezentate în această teză de doctorat s-au obținut în urma efectuării mai multor studii care au avut o contribuție personală importantă în generarea următoarelor concluzii relevante menite să evidențieze importanța studierii transportului poluanților industriali în ecosistemele acvatice:

- activitățile industriale au o contribuție importantă la contaminarea sedimentelor cu metale grele;
- evaluarea nivelului de contaminare cu metale grele a sedimentelor din bazinul hidrografic al Dunării, utilizând indici de calitate s-a dovedit a fi o metodă eficientă și apreciată la nivel internațional;
- indicele de geo-acumulare și Factorul de contaminare calculați pentru fiecare metal analizat au indicat existența unei contaminări a sedimentelor în special cu metalele grele Ni și Cd;
- indicele de risc ecologic potențial are valori moderate și indică existența unui impact ecologic scăzut pentru probele de sedimente prelevate și analizate din sectorul inferior al fluviului Dunărea;
- studiile și cercetările științifice a căror rezultate sunt menționate în prezenta teză vin să completeze unele lacune (geografice și temporale) în ceea ce privește monitorizarea în bazinul Dunării pe teritoriul României a unei clase importante de poluanți emergenți, reprezentată de compușii farmaceutici;
- industria farmaceutică, prin producția importantă de produse cu uz uman și animal are o contribuție majoră la prezența compușilor farmaceutici în ecosistemele acvatice;
- identificarea unor substanțe farmaceutice, precum: metformin, cafeina, carbamazepina, trimetoprim, sulfametoxazol, clindamicină, claritromicină, diclofenac și ketoprofen în probe de apă de suprafață prelevate din bazinul inferior al Dunării a deschis calea unor noi studii pe termen mediu și lung care să vină în completarea listelor prioritare ce vor fi în documentele normative la nivel național și european;
- poluanții farmaceutici au atât origine industrială cât și origine rezultată din cantitățile de substanțe nemetabolizate; ca urmare, apele uzate deversate din stațiile de epurare municipale au o contribuție majoră în contaminarea cu substanțe farmaceutice a Dunării; rezultă în mod evident necesitatea adaptării tehnicilor de tratare a apelor uzate la prezența unor clase de poluanți noi, în special a celor cu utilizare farmaceutică;
- experimentele realizate în vederea determinării fotosensibilității unor clase de substanțe farmaceutice au condus la concluzii referitoare la posibilitatea optimizării tratării apelor uzate implicând radiațiile UV-C în eventuala combinație cu alte metode fizice sau cu prezența unor oxidanți puternici, producători de radicali liberi care să nu afecteze calitatea apelor după tratare;
- analiza substanțelor farmaceutice din probele de sediment colectate din fluviul Dunărea a demonstrat existența unei afinități scăzute a acestei clase de poluanți industriali pentru faza solidă a mediului acvatic;
- analiza morfologică a sedimentelor a evidențiat faptul că sedimentele cu granulația cea mai mică au capacitatea superioară de absorbție a compușilor farmaceutici comparativ cu cele cu granulație mare;



- cercetările efectuate asupra acumulării compușilor farmaceutici în țesuturile diferitelor specii de pești colectați din ecosistemul natural al Dunării au evidențiat existența unor specii chimice în anumite organe; se constată că pentru unele specii chimice, concentrațiile substanțelor medicamentoase sunt sub nivelul de detecție, fapt care nu elimină riscul prezentat de acestea, dar conduce la necesitatea continuării studiilor în acest sens.
- specia chimică identificată ca având frecvența cea mai ridicată în ihtiofaună este cafeina; specia *Alosa immaculata* (Scrumbia) este aceea care a acumulat cei mai mulți compuși farmaceutici din cei analizați în prezentul studiu; rezultă necesitatea aprofundării studiilor privind speciile migratoare din fluviul Dunărea;
- folosirea algoritmilor de Machine Learning s-a dovedit a fi promițătoare în prezicerea compușilor farmaceutici, respectiv a claselor de substanțe farmaceutice. Cu toate acestea, baza de date folosită a prezentat o serie de limitări reliefate atât dimensional cât și calitativ. În acest context, s-au identificat o serie de linii directe referitoare la algoritmi optimi ce pot fi folosiți pentru obținerea unor posibile metrice de predicție satisfăcătoare, în condiții suport, prielnice.

### **Direcții viitoare de cercetare**

Întrucât cercetările în industria farmaceutică sunt într-o continuă dezvoltare, iar compușii farmaceutici se găsesc într-o varietate foarte mare pe piața de consum, este necesară realizarea de noi studii care să urmărească transportul și comportamentul acestora în mediul acvatic, precum:

- extinderea monitorizării asupra altor clase de compuși farmaceutici raportați în literatura de specialitate ca având potențial toxic asupra mediului acvatic;
- dezvoltarea bazei de date prin extindere și diversificare în vederea maximizării performanțelor de predicție asociate cadrului analitic suport inițiat și dezvoltat în prezentul studiu;
- furnizarea de concepte și tehnologii noi de tratare a apelor uzate municipale, inclusiv realizarea de experimente care să presupună testarea diferitor metode de degradare a compușilor farmaceutici prin asocierea radiației UV-C cu alți oxidanți;
- studierea compușilor rezultați în urma aplicării mai multor metodelor de tratare a apelor uzate, inclusiv a produselor rezultate din interferența substanțelor farmaceutice cu oxidanții utilizați în mod frecvent, de exemplu clorul și derivații acestuia;
- extinderea geografică a cercetărilor pe toată zona românească a Dunării, precum și în amonte de aceasta prin utilizarea eficientă a Infrastructurii REXDAN, inclusiv a navei de cercetare;
- în vederea definirii controlate a acumulării substanțelor farmaceutice în ihtiofaună, în perioada următoare la nivelul echipei vom proceda la amenajarea unui laborator natural (iaz) care va fi populat cu pești (puiet) provenind din zone independente de Dunăre, iar acumularea substanțelor farmaceutice va fi monitorizată periodic pe exemplare cipate, iazul având apa exclusiv provenind din Dunăre;
- cercetările inițiate prin prezenta teză de doctorat vor fi continuate cu introducerea substanțelor farmaceutice în factori de impact din WQI, într-o formă integrată care să permită extinderea modului în care acest indice reflectă, global, calitatea ecosistemelor acvatice;

- ținând cont de faptul că Dunărea reprezintă o sursă principală sau secundară pentru apa potabilă a 6 milioane de consumatori, o direcție de dezvoltare va fi predicția impactului pe care acumularea de substanțe farmaceutice le poate avea pentru sănătatea umană.

**Contribuții personale:**

**WOS: H – Index = 6 ; Google Academic: H – Index = 7**

**Listă proiecte implementate în perioada doctoratului**

1. Proiect tip POC „Sistem integrat pentru cercetarea și monitorizarea complexă a mediului în aria fluviului Dunărea REXDAN”, cod SMIS 127065;
2. Proiect tip POIM Îmbunătățirea condițiilor hidrologice în habitatele naturale acvatice din Rezervația Biosferei Delta Dunării pentru conservarea biodiversității și a resurselor halieutice - Complexele lacustre Gorgova-Uzlina, Roșu-Puiu”, POIM 120890;
3. Proiect tip POIM „Îmbunătățirea condițiilor hidrologice în habitatele naturale acvatice din RBDD pentru conservarea biodiversității și a resurselor halieutice - Complexele lacustre Dunăvăț-Dranov, Razim-Sinoie, Zona Sinoie-Istria-Nunțași”;
4. Proiect tip POIM, “Îmbunătățirea condițiilor hidrologice în habitatele naturale acvatice din RBDD pentru conservarea biodiversității și a resurselor halieutice - Complexele lacustre Șontea-Furtună, Matița-Merhei, Somova Parcheș” Cod SMIS 2014+ 120889;
5. Proiect tip POIM „Revizuirea planului de management și a regulamentului RBDD” Cod MYSMIS 2014+ 123322
6. Proiect „Advanced nanotechnology based approaches to waste water purification from organic pollutants and their monitoring in water bodies”, 2SOFT/1.2/139;
7. Proiectul „HORIZON-MISS-2021-OCEAN-02, DANUBE REGION WATER LIGHTHOUSE ACTION”, Proiect: 101094070 — DALIA;
8. Proiectul PNRR „Integrated research and sustainable solutions to protect and restore Lower Danube Basin and coastal Black Sea ecosystems” ResPonSE 760010/30.12.2022;
9. Proiect HORIZON „Restoration of wetland complexes as life supporting systems in the Danube Basin (Restore4Life)” finanțat din fonduri europene nerambursabile, contract de finanțare nr. 101112736/01.06.2023.
10. Proiect: 101156533 „Innovative sediment management framework for a SUsTainNable DANube black SEa system” ( SUNDANSE)— HORIZON-MISS-2023-OCEAN-01
11. Contract cu terți cu mediul socio- economic - Analiza concentrațiilor de metale grele din probe de sol utilizând tehnica ICP-MS – Director proiect;
12. Contract cu terți cu mediul socio- economic - Analiza substanțelor farmaceutice din 18 probe de apă și 16 probe de sediment” - contract de finanțare nr. 820/27.03.2024 - Director proiect;
13. Participare stagiu formare – În luna mai 2022 am participat la un stagiu de formare la institutul INCDO-INOE 2000 Filiala Institutul de Cercetări pentru Instrumentație Analitică ICIA .

### Articole științifice indexate Web of Science

1. **Calmuc V. A.**, Calmuc M., Arseni M., Topa C. M., Timofti M., Burada A., Iticescu C. and Georgescu L. P., Assessment of Heavy Metal Pollution Levels in Sediments and of Ecological Risk by Quality Indices, Applying a Case Study: The Lower Danube River, Romania, *Water*, 2021, 13, 1801. <https://doi.org/10.3390/w13131801> (IF= 3.103).
2. **Calmuc, V.-A.**, Calmuc, M., Arseni, M., Simionov, I.-A., Antache, A., Milea, Ștefania-A., Iticescu, C., GEORGESCU, P.-L., 2023. Spatial distribution of pharmaceuticals in the lower danube river water, 2023, *Scientific Papers. Series E. Land Reclamation, Earth Observation & Surveying, Environmental Engineering. Vol. XII*, Print ISSN 2285-6064, CD-ROM ISSN 2285-6072, Online ISSN 2393-513 IF =0.4.
3. Procop, I., Calmuc, M. \*, Pessenlehner, S., Trifu, C., (d), Cantaragiu Ceoromila, A., **Calmuc, V.**, Fetecău, C., Iticescu, C., Musat, V. \*, Liedermann M., The First Spatio-Temporal Study of the Microplastics and Meso-Macroplastics Transport in the Romanian Danube, acceptat spre publicare în *Environmental Sciences Europe*, SpringerOpen (IF = 6);
4. Calmuc, M., **Calmuc, V.**, Arseni, M., Topa, C., Timofti, M., Georgescu, L.P., Iticescu, C., 2020. A Comparative Approach to a Series of Physico-Chemical Quality Indices Used in Assessing Water Quality in the Lower Danube. *Water* 12, 3239. <https://doi.org/10.3390/w12113239> (IF =2.544).;
5. Georgescu, P.-L., Moldovanu, S., Iticescu, C., Calmuc, M., **Calmuc, V.**, Topa, C., Moraru, L., 2023. Assessing and forecasting water quality in the Danube River by using neural network approaches. *Sci. Total Environ.* 879, 162998. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162998> (IF=9.8)
6. Simionov, I.-A., Călmuc, M., Iticescu, C., **Călmuc, V.**, Georgescu, P.-L., Faggio, C., Petrea, Ș.-M., 2023. Human health risk assessment of potentially toxic elements and microplastics accumulation in products from the Danube River Basin fish market. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 104, 104307. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2023.104307> IF=4.2.
7. Milea, S.-A., Lazar, N.-N., Simionov, I.-A., Petrea, S.-M., Calmuc, M., **Calmuc, V.**, Georgescu, P.-L., Iticescu, C., 2023. Effects of cooking methods and co-ingested foods on mercury bioaccessibility in pontic shad (*Alosa immaculata*). *Curr. Res. FOOD Sci.* 7, 100599. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100599> IF=6.3
8. Madalina Calmuc, **Valentina Calmuc**, Maxim Arseni, Ira-Adeline Simionov, Alina Antache, Constantin Apetrei, Puiu-Lucian Georgescu, Catalina Iticescu, Identification and characterization of plastic particles found in the lower Danube river, *Scientific Papers. Series E. Land Reclamation, Earth Observation & Surveying, Environmental Engineering*, ISSN 2285-6064.
9. Alina Antache, **Valentina Calmuc**, Stefan-Mihai Petrea, Ira-Adeline Simionov, Madalina Calmuc, Aurelia Nica, Dragos Cristea, Mihaela Neculita, The influence of pharmaceutical residues from surface waters on fish oxidative stress: A review, *Scientific Papers. Series E. Land Reclamation, Earth Observation & Surveying, Environmental Engineering*, ISSN 2285-6064 IF =0.4.
10. Simionov, I.-A., **Calmuc, V.**, Petrea, S.M., Antache, A., Aurelia, N., Iticescu, C., Georgescu, P.-L., Cristea, V., 2023, Evaluation of heavy metals concentrations in the black sea turbot and elements correlation analysis 2023, *Scientific Papers. Series E. Land Reclamation, Earth Observation & Surveying, Environmental Engineering. Vol.*

- XII, 2023, Print ISSN 2285-6064, CD-ROM ISSN 2285-6072, Online ISSN 2393-5138, ISSN-L 2285-6064 IF =0.4.
11. Calmuc, M., **Calmuc, V.-A.**, Lazar, N.N., Arseni, M., Simionov, I.-A., Mihaela, T., Georgescu, P.-L., Iticescu, C., Study on microplastics occurrence in the lower Danube river water, Scientific Papers. Series E. Land Reclamation, Earth Observation & Surveying, Environmental Engineering. Vol. XII, 2023 Print ISSN 2285-6064, CD-ROM ISSN 2285-6072, Online ISSN 2393-5138, ISSN-L 2285-6064 IF =0.4.
  12. Ira-Adeline SIMIONOV, Mădălina CĂLMUC, Alina ANTACHE, **Valentina Călmuc**, Ștefan-Mihai PETREA, Aurelia NICA, Victor CRISTEA, Mihaela NECULIȚĂ The Use Of Pectinatella Magnifica As Bioindicator Forbheavy Metals Pollution In Danube Delta, Scientific Papers. Series E. Land Reclamation, Earth Observation & Surveying, Environmental Engineering, ISSN 2285-6064.
  13. Arseni, M., Rosu, A., Calmuc, M., **Calmuc, V.A.**, Iticescu, C., Georgescu, L.P., 2020. Development of Flood Risk and Hazard Maps for the Lower Course of the Siret River, Romania. Sustainability 12, 6588. <https://doi.org/10.3390/su12166588>, IF= 2.576.

#### Articole științifice publicate în reviste BDI:

1. **Calmuc, V.A.**, Călmuc, M., Arseni, M., Iticescu, C., Georgescu, L.P., 2020. Preliminary statistical relationship between heavy metals in Lower Danube sediments Annals of the "Dunarea de Jos" University of Galati. Fascicle II, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics 43, 62–67;
2. **Călmuc V**, Călmuc Mădălina, Georgescu P.L., Iticescu C., Timofti M., Arseni M., Țopa C., Roșu, A.,. Spatial distribution of heavy metals in the Danube surface sediment near the Galati City. Tehnomus Journal, 2019, pp. 66-70;
3. Calmuc, M., **Calmuc, V.A.**, Georgescu, L.P., Iticescu, C., Arseni, M., 2020. Assessment of nutrients and oxygen regime in the Lower Danube water Annals of the "Dunarea de Jos" University of Galati. Fascicle II, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics 43, 68–74;
4. Călmuc, M., **Călmuc V.A.**, Iticescu C., Georgescu P. L., Timofti M., Arseni M., Țopa, M.C., Roșu A.,. Assessing the lower Danube water quality using the water pollution index. Tehnomus Journal, 2019, pp. 77-81;
5. Arseni M., Rosu A., Georgescu P.L., Iticescu C., **Calmuc V.**, Calmuc M., Impact of expansion and contraction coefficients on water surface profile. Tehnomus Journal, 2019, pp. 60-65.

#### Comunicări la conferințe internaționale

1. **Valentina Andreea Calmuc**, Madalina Călmuc , Maxim Arseni, Cătălina Iticescu, Puiu-Lucian Georgescu, Detection of pharmaceuticals in fish species from the Danube River, SCDS-UDJG 2024 The 12th Edition, GALAȚI, 6th-7th of June 2024.
2. Madalina Calmuc, **Valentina Andreea Calmuc**, Maxim Arseni, Adrian Roșu, Puiu-Lucian Georgescu, Catalina Iticescu, Assessment of the microplastics presence in the Lower Danube River water and sediment SCDS-UDJG 2024 The 12th Edition, GALAȚI, 6th-7th of June 2024.
3. **Valentina Calmuc**, Madalina Calmuc, Maxim Arseni, Ira-Adeline Simionov, Alina Antache, Stefania-Adelina Milea, Catalina Iticescu, Puiu-Lucian Georgescu, Spatial

- Distribution Of Pharmaceuticals In The Lower Danube River Water, The International Conference Agriculture For Life, Life For Agriculture, iunie 2023
4. Madalina Călmuc, **Valentina Andreea Calmuc**, Maxim Arseni, Lucian P. Georgescu, Catalina Iticescu, Microplastics characterization and quantification using micro-FTIR spectroscopy, The Tenth Edition SCDS-UDJG 2022
  5. **Valentina Andreea Calmuc**, Madalina Călmuc, Maxim Arseni, Catalina Iticescu, Puiu-Lucian Georgescu, Identification and quantification of pharmaceuticals in the Lower Danube River using UHPLC - Orbitrap Mass Spectrometer, The Tenth Edition SCDS-UDJG 2022,
  6. **Valentina Calmuc**, Madalina Calmuc, Maxim Arseni, Ira-Adeline Simionov, Alina Antache, Catalina Iticescu, Puiu-Lucian Georgescu Assessment Of Water And Sediment Quality In Dunavăț- Dranov, Razim-Sinoie Aquatic Complexes, The International Conference Agriculture For Life, Life For Agriculture, iunie 2022.
  7. Ira-Adeline Simionov, Mădălina Călmuc, Alina Antache, **Valentina Călmuc**, Ștefan-Mihai Petrea, Aurelia Nica, Victor Cristea, Mihaela Neculiță The Use Of Pectinatella Magnifica As Bioindicator Forbheavy Metals Pollution In Danube Delta, The International Conference Agriculture For Life, Life For Agriculture, iunie 2022;
  8. Madalina CALMUC, **Valentina Calmuc**, Maxim Arseni, Ira-Adeline Simionov, Alina Antache, Constantin Apetrei, Puiu-Lucian Georgescu, Catalina Iticescu Identification and characterization of plastic particles found in the lower Danube river, The International Conference Agriculture For Life, Life For Agriculture, iunie 2022;
  9. Alina ANTACHE, **Valentina Calmuc**, Ștefan-Mihai Petrea, Ira-Adeline Simionov, Madalina Calmuc, Aurelia Nica, Dragos Cristea, Mihaela Neculita, The influence of pharmaceutical residues from surface waters on fish oxidative stress: A review, The International Conference Agriculture For Life, Life For Agriculture, iunie 2022;
  10. **Valentina Andreea Calmuc \***, Madalina Călmuca, Maxim Arsenia, Catalina Iticescua, Puiu-Lucian Georgescua Identification and quantification of pharmaceuticals in the Lower Danube River using UHPLC - Orbitrap Mass Spectrometer, The Tenth Edition SCDS-UDJG 2022,
  11. Madalina Călmuc\*, **Valentina Andreea Calmuc**, Maxim Arsenia, Lucian P. Georgescua, Catalina Iticescua, Microplastics characterization and quantification using micro-FTIR spectroscopy, The Tenth Edition SCDS-UDJG 2022.
  12. **Valentina Calmuc**, Madalina Calmuc, Maxim Arseni, Ira-Adeline Simionov, Alina Antache, Catalina Iticescu, Puiu-Lucian Georgescu Assessment Of Water And Sediment Quality In Dunavăț- Dranov, Razim-Sinoie Aquatic Complexes, The International Conference Agriculture For Life, Life For Agriculture, iunie 2022.
  13. Ira-Adeline SIMIONOV, Mădălina călmuc, Alina ANTACHE, **Valentina Călmuc**, Ștefan-Mihai Petrea, Aurelia Nica, Victor Cristea, Mihaela Neculiță, The Use Of Pectinatella Magnifica As Bioindicator Forbheavy Metals Pollution In Danube Delta, The International Conference Agriculture For Life, Life For Agriculture, iunie 2022;
  14. Madalina Calmuc, **Valentina Calmuc**, Maxim Arseni, Ira-Adeline Simionov, Alina Antache, Constantin Apetrei, Puiu-Lucian Georgescu, Catalina Iticescu Identification and characterization of plastic particles found in the lower Danube river, The International Conference Agriculture For Life, Life For Agriculture, iunie 2022;
  15. **Valentina Andreea Calmuc**, Madalina Călmuc , Maxim Arseni, Catalina Iticescu, Lucian P. Georgescu, *Occurrence of pharmaceuticals in the Danube River Basin - A review*, Conferința Școlilor Doctorale: The Ninth Edition of SCDS-UDJG, Galați, 10-11 June, 2021;

16. **Madalina Călmuc**, Valentina Andreea Calmuc, Maxim Arseni, Constantin Apetrei, Lucian P. Georgescu, Catalina Iticescu, *Application of ATR-FTIR spectroscopy for plastic debris identification in the Lower Danube water*, : The Ninth Edition of SCDS-UDJG, Galați, 10-11 June, 2021;
17. **Valentina Andreea Calmuc**, Madalina Calmuc, Maxim Arseni, Adrian Burada, Catalina, *Spatial and seasonal variations of sediment pollution indices in the Lower Danube River*, Deltas & Wetlands” DDNI Scientific Event Community, 28-th edition, Deltas & Wetlands DDNI International Symposium Tulcea, September 13 - 18, 2021;
18. Mădălina Calmuc, **Valentina Andreea Calmuc**, Maxim Arseni, Adrian Rosu, Puiu-Lucian Georgescu, Cătălina Iticescu, *Methods for sampling and separation of microplastics from the Lower Danube River water*, Deltas & Wetlands” DDNI Scientific Event Community, 28-th edition, Deltas & Wetlands DDNI International Symposium, Tulcea, September 13 - 18, 2021;
19. **Valentina Andreea Calmuc**, Madalina Călmuc, Maxim Arseni , Catalina Iticescu, Lucian P. Georgescu, *Preliminary statistical relationship between heavy metals in Lower Danube sediment*, (poster presentation), Conferința Școlilor Doctorale: 8<sup>th</sup> Edition of SCDS-UDJG, Galați, 18-19 June, 2020
20. Madalina Călmuc, **Valentina Andreea Calmuc**, Maxim Arseni, Lucian P. Georgescu, Catalina Iticescu, *Assessment of nutrients and oxygen regime in the Lower Danube water*,(poster presentation), Conferința Școlilor Doctorale: 8<sup>th</sup> Edition of SCDS-UDJG, Galați, 18-19 June, 2020.
21. Maxim Arseni, Adrian Rosu, Octavian Roman, Madalina Calmuc, **Valentina Calmuc**, Catalina Iticescu, Puiu Georgescu Lucian, *Comparison of vertical accuracy of DEM from satellite-derived data, Lidar and river depth sounding for hydrodynamic modeling*, (poster presentation), Conferința Școlilor Doctorale: 8<sup>th</sup> Edition of SCDS-UDJG, Galați, 18-19 June, 2020.
22. **Călmuc Valentina-Andreea**, Călmuc Mădălina, Georgescu P. Lucian, Iticescu Catalina, Timofti Mihaela, Arseni Maxim, Țopa Cătălina, Roșu Adrian. *Spatial distribution of heavy metals in the Danube surface sediment near the Galati City*. The 20th Edition of the International Conference Tehnomus New Technologies And Products In Machine Manufacturing Technologies, Section 3 Environmental engineering and sustainable development, Oral presentation no. 3, 2019, <http://www.tehnomus.usv.ro/>
23. Călmuc Mădălina, **Călmuc Valentina-Andreea**, Iticescu Catalina, Georgescu P. Lucian, Timofti Mihaela, Arseni Maxim, Țopa Maria Cătălina, Roșu Adrian. *Assessing the lower Danube water quality using the Water Pollution Index*, The 20th Edition of the International Conference Tehnomus New Technologies And Products In Machine Manufacturing Technologies, Section 3 Environmental engineering and sustainable development, Oral presentation no. 4, 2019. <http://www.tehnomus.usv.ro/>.

### Comunicări la conferințe naționale

1. **Valentina Calmuc**, C. L. Chițescu, M. Călmuc, C. Iticescu, L. P. Georgescu, Aplicații ale Cromatografiei de lichide cuplată cu Spectrometria de masă în analiza compușilor farmaceutici din probe de apă, WORKSHOP Abordări moderne ale feedbackului între procese de mediu și schimbările climatice 6-9 iulie 2022, GALAȚI;
2. Madalina Calmuc, **Valentina Calmuc**, Maxim. Arseni, Adrian. Roșu, Lucian. Puiu.

Georgescu, Catalina. Iticescu, Utilizarea spectrometriei FTIR cuplată cu microscop (Micro-FTIR) în identificarea microplasticelor din apa Dunării, WORKSHOP Abordări moderne ale feedbackului între procese de mediu și schimbările climatice 6-9 iulie 2022, GALAȚI.

***Brevete publicate***

1. Am contribuit la elaborarea brevetului de invenție nr. 134991 - **Metodă și aparat pentru colectarea microplasticelor din râuri și lacuri.**

## Bibliografie

1. Ahmed, J.; Thakur, A.; Goyal, A. Industrial Wastewater and Its Toxic Effects. In *Biological Treatment of Industrial Wastewater*; Shah, M.P., Ed.; The Royal Society of Chemistry, 2021; pp. 1–14 ISBN 978-1-83916-279-4.
2. Li, N.; Volgina, N.A. Development of the Pharmaceutical Industry: Current Trends and the Role of China. In *Sustainable Development Risks and Risk Management: A Systemic View from the Positions of Economics and Law*; Popkova, E.G., Ed.; Springer International Publishing: Cham, 2023; pp. 125–129 ISBN 978-3-031-34256-1.
3. Karthika, V.; Sekaran, U.; Jainullabudeen, G.B.; Nagarathinam, A. Chapter 9 - Advances in Bioremediation of Industrial Wastewater Containing Metal Pollutants. In *Biological Approaches to Controlling Pollutants*; Kumar, S., Hashmi, M.Z., Eds.; Advances in Pollution Research; Woodhead Publishing, 2022; pp. 163–177 ISBN 978-0-12-824316-9.
4. Bashir, I.; Lone, F.A.; Bhat, R.A.; Mir, S.A.; Dar, Z.A.; Dar, S.A. Concerns and Threats of Contamination on Aquatic Ecosystems. In *Bioremediation and Biotechnology: Sustainable Approaches to Pollution Degradation*; Hakeem, K.R., Bhat, R.A., Qadri, H., Eds.; Springer International Publishing: Cham, 2020; pp. 1–26 ISBN 978-3-030-35691-0.
5. Calmuc, M.; Calmuc, V.A.; Condurache, N.N.; Arseni, M.; Simionov, I.-A.; Timofti, M.; Georgescu, P.-L.; Iticescu, C. Study on Microplastics Occurrence in the Lower Danube River Water. *Sci. Pap.-Ser. E-Land Reclam. Earth Obs. Surv. Environ. Eng.* **2023**, *12*, 303–308.
6. Calmuc, V.-A.; Calmuc, M.; Arseni, M.; Simionov, I.-A.; Mogodan Antache, A.; Milea, Ștefania-A.; Iticescu, C.; GEORGESCU, P.-L. SPATIAL DISTRIBUTION OF PHARMACEUTICALS IN THE LOWER DANUBE RIVER WATER. **2023**, 2023.
7. Mădalina CĂLMUC, Valentina Andreea CĂLMUC, Maxim ARSENI,; Ira-Adeline SIMIONOV, Alina ANTACHE, Constantin APETREI,; Puiu Lucian GEORGESCU, Catalina ITICESCU; de Jos, D. IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF PLASTIC PARTICLES FOUND IN THE LOWER DANUBE RIVER. *Earth Observation* **2022**.
8. Burada, A.; Topa, C.M.; Georgescu, L.P.; Teodorof, L.; Nastase, C.; Seceleanu-Odor, D.; Iticescu, C. Heavy Metals Environment Accumulation in Somova – Parche<sup>o</sup> Aquatic Complex from the Danube Delta Area. *REV. CHIM.* **2015**.
9. Javed, T.; Ahmad, N.; Mashiatullah, A. Heavy Metals Contamination and Ecological Risk Assessment in Surface Sediments of Namal Lake, Pakistan. *Pol. J. Environ. Stud.* **2018**, *27*, 675–688, doi:10.15244/pjoes/75815.
10. Malassa, H.; Al-Qutob, M.; Al-Khatib, M.; Al-Rimawi, F. Determination of Different Trace Heavy Metals in Ground Water of South West Bank/Palestine by ICP/MS. *Journal of Environmental Protection* **2013**, *4*, 818–827, doi:10.4236/jep.2013.48096.
11. Gasparotti, C. The Main Factors of Water Pollution in Danube River Basin. *EuroEconomica* **2014**, *33*, No. 1/2014, ISSN 1582-8859, 75–88.
12. Iticescu, C.; Murariu, G.; Georgescu, L.; Burada, A.; Maria-Catalina, T. Seasonal Variation of the Physico-Chemical Parameters and Water Quality Index (WQI) of Danube Water in the Transborder Lower Danube Area. *Revista de Chimie -Bucharest-Original Edition-* **2016**, *67*.
13. Iticescu, C.; Georgescu, L.; Catalina; Maria-Catalina, T. ASSESSING THE DANUBE WATER QUALITY INDEX IN THE CITY OF GALATI, ROMANIA. *Carpathian journal of earth and environmental sciences* **2013**, *8*, 155–164.
14. Tao, Z.; Guo, Q.; Wei, R.; Dong, X.; Han, X.; Guo, Z. Atmospheric Lead Pollution in a Typical Megacity: Evidence from Lead Isotopes. *Sci Total Environ* **2021**, *778*, 145810, doi:10.1016/j.scitotenv.2021.145810.
15. Jose, C.C.; Jagannathan, L.; Tanwar, V.S.; Zhang, X.; Zang, C.; Cuddapah, S. Nickel Exposure Induces Persistent Mesenchymal Phenotype in Human Lung Epithelial Cells



- through Epigenetic Activation of ZEB1. *Mol Carcinog* **2018**, *57*, 794–806, doi:10.1002/mc.22802.
16. Saravanan, P.; Saravanan, V.; Rajeshkannan, R.; Arnica, G.; Rajasimman, M.; Baskar, G.; Pugazhendhi, A. Comprehensive Review on Toxic Heavy Metals in the Aquatic System: Sources, Identification, Treatment Strategies, and Health Risk Assessment. *Environmental Research* **2024**, *258*, 119440, doi:10.1016/j.envres.2024.119440.
  17. Jegede, O. The 9 Most Profitable Industries Worldwide. *World Excellence International* **2023**.
  18. Chavoshani, A.; Hashemi, M.; Mehdi Amin, M.; Ameta, S.C. Chapter 2 - Pharmaceuticals as Emerging Micropollutants in Aquatic Environments. In *Micropollutants and Challenges*; Chavoshani, A., Hashemi, M., Mehdi Amin, M., Ameta, S.C., Eds.; Elsevier, 2020; pp. 35–90 ISBN 978-0-12-818612-1.
  19. Tyumina, E.; Subbotina, M.; Polygalov, M.; Tyan, S.; Ivshina, I. Ketoprofen as an Emerging Contaminant: Occurrence, Ecotoxicity and (Bio)Removal. *Front Microbiol* **2023**, *14*, 1200108, doi:10.3389/fmicb.2023.1200108.
  20. aus der Beek, T.; Weber, F.-A.; Bergmann, A.; Hickmann, S.; Ebert, I.; Hein, A.; Küster, A. Pharmaceuticals in the Environment--Global Occurrences and Perspectives. *Environ. Toxicol. Chem.* **2016**, *35*, 823–835, doi:10.1002/etc.3339.
  21. Antache, A.; Calmuc, V.; Petrea, S.-M.; Simionov, I.-A.; Calmuc, M.; Nica, A.; Cristea, D.; Neculita, M. The Influence of Pharmaceutical Residues from Surface Waters on Fish Oxidative Stress: A Review. *Scientific Papers. Series E. Land Reclamation, Earth Observation & Surveying, Environmental Engineering* **2022**, *11*.
  22. *Commission Implementing Decision (EU) 2022/1307 of 22 July 2022 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 (Notified under Document C(2022) 5098) (Text with EEA Relevance)*; 2022; Vol. 197;.
  23. Calmuc, V.A.; Calmuc, M.; Arseni, M.; Topa, C.M.; Timofti, M.; Burada, A.; Iticescu, C.; Georgescu, L.P. Assessment of Heavy Metal Pollution Levels in Sediments and of Ecological Risk by Quality Indices, Applying a Case Study: The Lower Danube River, Romania. *Water* **2021**, *13*, 1801, doi:10.3390/w13131801.
  24. Jaishankar, M.; Tseten, T.; Anbalagan, N.; Mathew, B.B.; Beeregowda, K.N. Toxicity, Mechanism and Health Effects of Some Heavy Metals. *Interdiscip Toxicol* **2014**, *7*, 60–72, doi:10.2478/intox-2014-0009.
  25. Mar, S.S.; Okazaki, M. Investigation of Cd Contents in Several Phosphate Rocks Used for the Production of Fertilizer. *Microchemical Journal* **2012**, *104*, 17–21, doi:10.1016/j.microc.2012.03.020.
  26. Simionov, I.-A.; Cristea, D.S.; Petrea, S.-M.; Mogodan, A.; Nicoara, M.; Plavan, G.; Baltag, E.S.; Jijie, R.; Strungaru, S.-A. Preliminary Investigation of Lower Danube Pollution Caused by Potentially Toxic Metals. *Chemosphere* **2021**, *264*, 128496, doi:10.1016/j.chemosphere.2020.128496.
  27. Wu, Q.; Qi, J.; Xia, X. Long-Term Variations in Sediment Heavy Metals of a Reservoir with Changing Trophic States: Implications for the Impact of Climate Change. *Sci Total Environ* **2017**, *609*, 242–250, doi:10.1016/j.scitotenv.2017.04.041.
  28. Harasim, P.; Filipek, T.; Harasim, P. Nickel in the Environment. *J. Elem.* **2015**, doi:10.5601/jelem.2014.19.3.651.
  29. Selva, T.M.G.; Selva, J.S.G.; Prata, R.B. Sensing Materials: Diamond-Based Materials. In *Encyclopedia of Sensors and Biosensors (First Edition)*; Narayan, R., Ed.; Elsevier: Oxford, 2023; pp. 45–72 ISBN 978-0-12-822549-3.
  30. Kannan, M. Scanning Electron Microscopy: Principle, Components and Applications. In: 2018; pp. 81–92 ISBN 978-93-5124-932-0.
  31. Santos-Silva, T.G.; Montagner, C.C.; Martinez, C.B.R. Evaluation of Caffeine Effects on Biochemical and Genotoxic Biomarkers in the Neotropical Freshwater Teleost *Prochilodus Lineatus*. *Environ Toxicol Pharmacol* **2018**, *58*, 237–242, doi:10.1016/j.etap.2018.02.002.

32. Chitescu, C.L.; Kaklamanos, G.; Nicolau, A.I.; Stolker, A.A.M. (Linda) High Sensitive Multiresidue Analysis of Pharmaceuticals and Antifungals in Surface Water Using U-HPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS. Application to the Danube River Basin on the Romanian Territory. *Science of The Total Environment* **2015**, *532*, 501–511, doi:10.1016/j.scitotenv.2015.06.010.
33. Marshall, S.M. 60 Years of Metformin Use: A Glance at the Past and a Look to the Future. *Diabetologia* **2017**, *60*, 1561–1565, doi:10.1007/s00125-017-4343-y.
34. Elizalde-Velázquez, G.A.; Gómez-Oliván, L.M. Occurrence, Toxic Effects and Removal of Metformin in the Aquatic Environments in the World: Recent Trends and Perspectives. *Sci Total Environ* **2020**, *702*, 134924, doi:10.1016/j.scitotenv.2019.134924.
35. Balakrishnan, A.; Sillanpää, M.; Jacob, M.M.; Vo, D.-V.N. Metformin as an Emerging Concern in Wastewater: Occurrence, Analysis and Treatment Methods. *Environmental Research* **2022**, *213*, 113613, doi:10.1016/j.envres.2022.113613.
36. Quintão, F.J.O.; Freitas, J.R.L.; de Fátima Machado, C.; Aquino, S.F.; de Queiroz Silva, S.; de Cássia Franco Afonso, R.J. Characterization of Metformin By-Products under Photolysis, Photocatalysis, Ozonation and Chlorination by High-Performance Liquid Chromatography Coupled to High-Resolution Mass Spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* **2016**, *30*, 2360–2368, doi:10.1002/rcm.7724.
37. Tawfik, N.A.I.; El-Bakary, Z.A.; Abd El-Wakeil, K.F. Determination of Caffeine in Treated Wastewater Discharged in the Nile River with Emphasis on the Effect of Zinc and Physicochemical Factors. *Environ Sci Pollut Res* **2024**, *31*, 28124–28138, doi:10.1007/s11356-024-32918-6.
38. Li, S.; Wen, J.; He, B.; Wang, J.; Hu, X.; Liu, J. Occurrence of Caffeine in the Freshwater Environment: Implications for Ecopharmacovigilance. *Environmental Pollution* **2020**, *263*, 114371, doi:10.1016/j.envpol.2020.114371.
39. Hillebrand, O.; Nödler, K.; Licha, T.; Sauter, M.; Geyer, T. Caffeine as an Indicator for the Quantification of Untreated Wastewater in Karst Systems. *Water Res* **2012**, *46*, 395–402, doi:10.1016/j.watres.2011.11.003.
40. Souza, F.S.; Féris, L.A. Degradation of Caffeine by Advanced Oxidative Processes: O<sub>3</sub> and O<sub>3</sub>/UV. *Ozone: Science & Engineering* **2015**, *37*, 379–384, doi:10.1080/01919512.2015.1016572.
41. Mohebi Derakhsh, P.; Mashinchian Moradi, A.; Sharifpour, I.; Jamili, S. Toxic effects of diclofenac on gills, liver and kidney of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* **2020**, *19*, 735–747.
42. Alkimin, G.D.; Soares, A.M.V.M.; Barata, C.; Nunes, B. Evaluation of Ketoprofen Toxicity in Two Freshwater Species: Effects on Biochemical, Physiological and Population Endpoints. *Environmental Pollution* **2020**, *265*, 114993, doi:10.1016/j.envpol.2020.114993.
43. Rastogi, A.; Tiwari, M.K.; Ghangrekar, M.M. A Review on Environmental Occurrence, Toxicity and Microbial Degradation of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs). *Journal of Environmental Management* **2021**, *300*, 113694, doi:10.1016/j.jenvman.2021.113694.
44. Mohamed, M.A.; Kaur, J.; Wani, F.; Kichloo, A.; Bhanot, R. Renal Transplant Recipient with Concurrent COVID-19 and *Stenotrophomonas Maltophilia* Pneumonia Treated with Trimethoprim/Sulfamethoxazole Leading to Acute Kidney Injury: A Therapeutic Dilemma. *Am J Case Rep* **2020**, *21*, e926464, doi:10.12659/AJCR.926464.
45. Polianciuc, S.I.; Gurzău, A.E.; Kiss, B.; Ștefan, M.G.; Loghin, F. Antibiotics in the Environment: Causes and Consequences. *Med Pharm Rep* **2020**, *93*, 231–240, doi:10.15386/mpr-1742.
46. Al-Horani, R.A.; Kar, S.; Aliter, K.F. Potential Anti-COVID-19 Therapeutics That Block the Early Stage of the Viral Life Cycle: Structures, Mechanisms, and Clinical Trials. *Int J Mol Sci* **2020**, *21*, 5224, doi:10.3390/ijms21155224.

47. Baumann, M.; Weiss, K.; Maletzki, D.; Schüssler, W.; Schudoma, D.; Kopf, W.; Kühnen, U. Aquatic Toxicity of the Macrolide Antibiotic Clarithromycin and Its Metabolites. *Chemosphere* **2015**, *120*, 192–198, doi:10.1016/j.chemosphere.2014.05.089.
48. Archundia, D.; Duwig, C.; Spadini, L.; Morel, M.C.; Prado, B.; Perez, M.P.; Orsag, V.; Martins, J.M.F. Assessment of the Sulfamethoxazole Mobility in Natural Soils and of the Risk of Contamination of Water Resources at the Catchment Scale. *Environment International* **2019**, *130*, 104905, doi:10.1016/j.envint.2019.104905.
49. Tanioka, H.; Tanioka, S. *Risks and Benefits of Antibiotics vs. COVID-19 Morbidity and Mortality*; Health Informatics, 2020;
50. Li, S.; He, B.; Wang, J.; Liu, J.; Hu, X. Risks of Caffeine Residues in the Environment: Necessity for a Targeted Ecopharmacovigilance Program. *Chemosphere* **2020**, *243*, 125343, doi:10.1016/j.chemosphere.2019.125343.
51. Williams, M.; Ong, P.L.; Williams, D.B.; Kookana, R.S. Estimating the Sorption of Pharmaceuticals Based on Their Pharmacological Distribution. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2009**, *28*, 2572–2579, doi:10.1897/08-587.1.
52. Radović, T.T.; Grujić, S.D.; Kovačević, S.R.; Laušević, M.D.; Dimkić, M.A. Sorption of Selected Pharmaceuticals and Pesticides on Different River Sediments. *Environ Sci Pollut Res Int* **2016**, *23*, 25232–25244, doi:10.1007/s11356-016-7752-4.
53. Bussettini, M.; Bund, W.; Comiti, F.; Magdaleno, F.; Brooke, J.; Brils, J.; Ten Hulscher, D.; Steege, V.; Boughaba, J. *Integrated Sediment Management Guidelines and Good Practices in the Context of the Water Framework Directive*; 2022;
54. Mocanu, M.; Oprea, L.; Nicoleta, C.; Cretu, M. Alosa Immaculata Bennet, 1835: A SHORT REVIEW OF THE SPECIES AND ITS BIOLOGY. *Scientific Journal of Animal Science* **2020**, *LXIII*, 516–521.
55. Lazăr, N.-N.; Simionov, I.-A.; Petrea, Ștefan-M.; Iticescu, C.; Georgescu, P.-L.; Dima, F.; Antache, A. The Influence of Climate Changes on Heavy Metals Accumulation in Alosa Immaculata from the Danube River Basin. *Marine Pollution Bulletin* **2024**, *200*, 116145, doi:10.1016/j.marpolbul.2024.116145.
56. Smederevac-Lalic, M.; Kalauzi, A.; Regner, S.; Navodaru, I.; Visnjic Jetic, Z.; Gacic, Z.; Lenhardt, M. Analysis and Forecast of Pontic Shad (Alosa Immaculata) Catch in Danube River. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* **2018**, *17*, doi:10.22092/ijfs.2018.116611.
57. Cristina, D.; Daniela, I.; Gheorghe; Aurelia, N.; Cristea, V.; Răzlog, G. GROWTH AND MORTALITY ESTIMATION PARAMETERS FOR THE PRUSIAN CARP (Carassius Gibelio, Bloch, 1782) POPULATION FROM DANUBE RIVER (Km 170 -196). **2016**.
58. Raita S.M.; Georgescu M. MONITORING CARASSIUS GIBELIO MUSCLE TISSUE QUALITY UNDER BLACK CUMIN OIL FORTIFICATION AND TYPICAL COLD STORAGE Available online: <https://veterinarymedicinejournal.usamv.ro/index.php/scientific-papers/past-issues> (accessed on 18 May 2024).
59. Nikolić, D.; Skorić, S.; Rašković, B.; Lenhardt, M.; Krpo-Četković, J. Impact of Reservoir Properties on Elemental Accumulation and Histopathology of European Perch (*Perca Fluviatilis*). *Chemosphere* **2020**, *244*, 125503, doi:10.1016/j.chemosphere.2019.125503.
60. Jiang, P.; Chen, X.; Qian, L.; Ai, T.; Xu, Q.; Xiang, W.; Hu, B.; Liu, X.; Wang, J.; Wang, C. Integrated Transcriptomic and Proteomic Analysis of the Physiological Changes of the Liver in Domesticated Eurasian Perch, *Perca Fluviatilis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics* **2022**, *41*, 100957, doi:10.1016/j.cbd.2021.100957.
61. Pedram Jarf, M.; Kamali, A.; Khara, H.; Pourang, N.; Shekarabi, S.P.H. Microplastic Pollution and Heavy Metal Risk Assessment in *Perca Fluviatilis* from Anzali Wetland: Implications for Environmental Health and Human Consumption. *Science of The Total Environment* **2024**, *907*, 167978, doi:10.1016/j.scitotenv.2023.167978.
62. Kostić, J.; Kolarević, S.; Kračun-Kolarević, M.; Aborgiba, M.; Gačić, Z.; Lenhardt, M.; Vuković-Gačić, B. Genotoxicity Assessment of the Danube River Using Tissues of

- Freshwater Bream (*Abramis Brama*). *Environ Sci Pollut Res* **2016**, *23*, 20783–20795, doi:10.1007/s11356-016-7213-0.
63. Ibanescu, D.; Dediu, L. GROWTH OF BREAM, ABRAMIS BRAMA (LINNAEUS, 1758), IN THE ROMANIAN SECTION OF THE DANUBE RIVER. *cientific Papers. Series D. Animal Science*, **2022**, *LXV*.
64. Simionov, I.-A.; Călmuc, M.; Iticescu, C.; Călmuc, V.; Georgescu, P.-L.; Faggio, C.; Petrea, Ș.-M. Human Health Risk Assessment of Potentially Toxic Elements and Microplastics Accumulation in Products from the Danube River Basin Fish Market. *Environmental Toxicology and Pharmacology* **2023**, *104*, 104307, doi:10.1016/j.etap.2023.104307.
65. Ali, A.M.; Rønning, H.T.; Sydnnes, L.K.; Alarif, W.M.; Kallenborn, R.; Al-Lihaibi, S.S. Detection of PPCPs in Marine Organisms from Contaminated Coastal Waters of the Saudi Red Sea. *Sci Total Environ* **2018**, *621*, 654–662, doi:10.1016/j.scitotenv.2017.11.298.
66. Manjarrés-López, D.P.; Montemurro, N.; Ulrich, N.; Ebert, R.-U.; Jahnke, A.; Pérez, S. Assessment, Distribution, and Ecological Risk of Contaminants of Emerging Concern in a Surface Water-Sediment-Fish System Impacted by Wastewater. *Science of The Total Environment* **2024**, *935*, 173358, doi:10.1016/j.scitotenv.2024.173358.
67. Kujawa, R.; Piech, P.; Nowosad, J.; Kucharczyk, D. Comparison of Different Methods of Wild Vimba Bream *Vimba Vimba* (L.) Spawning under Controlled Conditions. *Animal Reproduction Science* **2022**, *244*, 107036, doi:10.1016/j.anireprosci.2022.107036.
68. Subotić, S.; Višnjić-Jeftić, Ž.; Bojović, S.; Đikanović, V.; Krpo-Četković, J.; Lenhardt, M. Seasonal Variations of Macro-, Micro-, and Toxic Elements in Tissues of Vimba Bream (*Vimba Vimba*) from the Danube River near Belgrade, Serbia. *Environ Sci Pollut Res* **2021**, *28*, 63087–63101, doi:10.1007/s11356-021-15073-0.
69. Kwasek, K.; Zhang, Y.; Hliwa, P.; Gomułka, P.; Ostaszewska, T.; Dabrowski, K. Free Amino Acids as Indicators of Nutritional Status of Silver Bream (*Vimba Vimba*), When Using Commercial and Purified Diets. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* **2009**, *153*, 113–119, doi:10.1016/j.cbpa.2009.01.003.
70. Collivignarelli, M.C.; Abbà, A.; Miino, M.C.; Caccamo, F.M.; Torretta, V.; Rada, E.C.; Sorlini, S. Disinfection of Wastewater by UV-Based Treatment for Reuse in a Circular Economy Perspective. Where Are We At? *International Journal of Environmental Research and Public Health* **2021**, *18*, 77, doi:10.3390/ijerph18010077.
71. Agüera, A.; Pérez Estrada, L.A.; Ferrer, I.; Thurman, E.M.; Malato, S.; Fernández-Alba, A.R. Application of Time-of-Flight Mass Spectrometry to the Analysis of Phototransformation Products of Diclofenac in Water under Natural Sunlight. *J Mass Spectrom* **2005**, *40*, 908–915, doi:10.1002/jms.867.
72. Kovacic, M.; Juretic Perisic, D.; Biosic, M.; Kusic, H.; Babic, S.; Loncaric Bozic, A. UV Photolysis of Diclofenac in Water; Kinetics, Degradation Pathway and Environmental Aspects. *Environ Sci Pollut Res Int* **2016**, *23*, 14908–14917, doi:10.1007/s11356-016-6580-x.
73. Zhen, H.; Liu, J.; Zhang, T. The Effect of UV Degradation of Ketoprofen and Its Influencing Factors. *J. Phys.: Conf. Ser.* **2022**, *2194*, 012049, doi:10.1088/1742-6596/2194/1/012049.
74. Salgado, R.; Pereira, V.J.; Carvalho, G.; Soeiro, R.; Gaffney, V.; Almeida, C.; Vale Cardoso, V.; Ferreira, E.; Benoliel, M.J.; Ternes, T.A.; et al. Photodegradation Kinetics and Transformation Products of Ketoprofen, Diclofenac and Atenolol in Pure Water and Treated Wastewater. *J Hazard Mater* **2013**, *244–245*, 516–527, doi:10.1016/j.jhazmat.2012.10.039.