

Contractor: INCDIE ICPE-CA
Cod fiscal : RO 13827850

De acord,
DIRECTOR GENERAL,
Dr.ing. Sergiu NICOLAIE

Avizat,
DIRECTOR DE PROGRAM
Dr.ing. Georgeta ALECU

RAPORT DE ACTIVITATE AL FAZEI

Contractul nr.: 35N/2018

Proiectul: *PN18240103 - Tehnologii avansate de prevenire, decontaminare, reciclare si valorificare superioara a solurilor si iazurilor situate in arii de exploatare cu risc ridicat de poluare chimica si electromagnetica.*

Faza: *2/2018 - Studiu privind aplicarea campurilor electric si magnetic asupra tesutului vegetal.*

Termen: *15/04/2018*

1. Obiectivul proiectului:

Obiectivul general:

- Abordarea si dezvoltarea unor *“tehnologii avansate de prevenire, decontaminare, reciclare si valorificare superioara a solurilor si iazurilor situate in arii de exploatare cu risc ridicat de poluare chimica si electromagnetica”*.

Obiectivele specifice:

- OS1. Prevenirea generării deșeurilor poluante in sol si ape - Dezvoltarea si validarea unui senzor pe baza de materiale carbonice cu afinitate fata de carbendazim/molecule similare, cu inalta sensibilitate si fiabilitate, pentru detectia rapida a acestor reziduuri in diferite produse horticoale (ex. fructe si legume proapete si prelucrate, sucuri, vinuri, alte produse derivate);
- OS2. Reciclarea și reutilizarea deșeurilor - Dezvoltarea unei sistem de laborator pentru reciclarea magneților permanenți pe bază de pământuri rare;
- OS3. Neutralizarea deșeurilor – Eficientizarea ecologică a activităților legate de forajul sondelor de hidrocarburi prin colectarea și neutralizarea deșeurilor rezultate, în scopul deversării responsabile în mediu, cu respectarea legislației în vigoare, atât pe plan intern cât și internațional;
- OS4. Exploatarea sinergica a impactului poluantilor asupra mediului - Analiza particularităților celulare vegetale prin respectarea unor protocoale de lucru specifice microscopiei de fluorescență si microscopiei confocale, in scopul initierii unei baze de date privind culturile vegetale care pot exploata pozitiv factorul poluator al campului electromagnetic.

2. Rezultate preconizate pentru atingerea obiectivului:

- R1. studiu privind posibilitățile de colectare, transport și neutralizare a reziduurilor rezultate din activitatea de foraj;
- R2. studiu privind aplicarea campurilor electric si magnetic asupra tesutului vegetal;
- R3. 2 variante experimentale de nanomateriale carbonice (xerogeluri si/sau materiale grafenice) obținute prin sinteză chimică (chimie umedă și/sau depunere chimice din fază de vapori), ce vor fi utilizate pentru dezvoltarea de senzori destinati detectiei de pesticide;
- R4. model experimental de electrozi modificati;
- R5. proiect de realizare a unui sistem HD / HDDR dedicat reciclării magneților permanenți;
- R6. model experimental de sistem de reciclare a magnetilor permanenti;
- R7. procedura de depoluare a solului cu substanțe tensioactive.
- R8. protocol experimental de aplicare si evaluare a influentei campurilor electric si magnetic asupra tesutului vegetal;
- R9. 3 articole BDI / ISI transmise spre publicare;
- R10. 1 prezentare a rezultatelor la o conferința de specialitate.

3. Obiectivul fazei:

- Studiu privind aplicarea campurilor electric si magnetic asupra tesutului vegetal.

4. Rezultate preconizate pentru atingerea obiectivului fazei:

- Studiu privind aplicarea campurilor electric si magnetic asupra tesutului vegetal.

5. Rezumatul fazei: (maxim 5 pagini)

Obiectivul temei de cercetare este analiza raspunsului celular la aplicarea campurilor electromagnetice si sa aduca noi informatii asupra modificarilor aparute la nivel celular si intracelular a tesutului vegetal supus acestor campuri. Majoritatea sistemelor biologice prezinta efectele pozitive si negative ale campurilor electromagnetice atat *in vivo* cat si *in vitro*, in functie de forma si intensitatea campului aplicat cat si de timpul de expunere.

Numeroase date de literatură prezintă rezultate care arată diverse influențe ale câmpurilor electric si magnetic asupra structurilor biologice, efectele determinate având la bază fenomenul de electroporare, adică de perforare a membranei celulare sub acțiuni electrofizice. Influențele câmpurilor electrice și magnetice asupra celulelor și țesuturilor au fost studiate de numeroși cercetători, folosind diverse substraturi biologice, de la celule simple și suspensii de celule dense, care reprezintă un model simplificat de țesut omogen, până la țesuturi biologice complexe.

Dimensiunile celulelor, in general de ordinul micrometrilor, sunt variate si determinate de originea celulelor, de functiile pe care le indeplinesc, de mediul in care se dezvolta si de locul pe care il ocupa specia in sistematica vegetala. Organismele unicelulare, bacteriile, au cele mai mici celule, de la 0,1 la cativa micrometri. La plantele superioare, marimea celulelor variaza intre 10 – 100 micrometri, alcatuind unele tesuturi de rezerva din organele subterane sau celulele prozenchimatice care alcatuiesc perii sugatori ai radacinei.

Indiferent de pozitia taxonomica a plantelor, celulele vegetale pot avea doua tipuri de organizare: una mai simpla (procariota) si alta mai evoluata (eucariota).

Organizarea procariota este specifica bacteriilor si algelor albastre verzi. Procariotele nu au nucleu tipic ci un echivalent al acestuia numit nucleotid. Materialul genetic este alcatuit dintr-un singur cromozom circular constituit dintr-o molecula de ADN bicatenar.

Celulele eucariote sunt intalnite incepand cu algele verzi pana la cele mai evolute angiosperme, acestea prezinta nucleu adevarat prevazut cu membrana nucleara. Celulele sunt diploide; peretele

celular este mai puțin rigid și alcătuit din celuloză la algele verzi și plantele superioare și din chitină la ciuperci.

Membrana celulară este dinamică permitând transportul a numeroase substanțe, inclusiv a macromoleculelor. Citoplasma se prezintă sub formă de soluție și gel prin transformări reversibile. Materialul genetic este în cantitate mai mare alcătuit din molecule de ADN bicatenar asociat cu proteine din ARN, ioni de Ca și Mg. Sunt prezente toate organele celulare, cloroplastele având structuri complexe. Enzimele sunt încorporate în structuri specifice, cum sunt mitocondriile, cloroplastele.

De asemenea, aceste publicații ne arată că există corelații importante între datele clinice, epidemiologice, diferite procese biologice și fluctuațiile naturale ale componentei alternative a câmpului geomagnetic. S-a dovedit că perturbările geomagnetice pot fi un factor de risc asupra ritmurilor biologice și a altor procese în organism, chiar pot induce o modificare a stării funcționale a creierului, pot reprezenta un factor de risc pentru sănătate.

La nivel celular, câmpurile magnetice pot induce o diminuare a proliferării celulare, accelerarea sintezei proteice, modificări ale ultrastructurii celulare. Compensarea componentei statice a câmpului geomagnetic este percepută ca un element de stres la nivelul proceselor de transport membranar. Variabilitatea răspunsului biologic pare să constituie o caracteristică generală a interacției organismelor simple (procariote, plante) cu câmpurile magnetice slabe.

În România au fost raportate mai multe studii care tratează influența câmpurilor electromagnetice asupra tesuturilor vii. Stancu și colab. (2013) au arătat că un câmp electric de 50 Hz aplicat unei suspensii de *Saccharomyces cerevisiae* induce un stres asupra celulelor, acestea având tendința de adaptare. Ursache și colab. (2009) au evidențiat experimental că aplicarea unui câmp electromagnetic de 418 Mhz asupra semintelor de *Zea mays*, induce un efect de creștere a capacității de fotosinteză și creșterea vitezei de proliferare a plantelor.

În proiectul nucleu anterior (PN 5301/2016 „Influența câmpurilor electromagnetice asupra celulei vii”) aplicarea câmpului electric de curent continuu și a câmpului electric de curent alternativ a evidențiat un efect global de stimulare a proliferării celulare, în timp ce aplicarea unui câmp electromagnetic a indus în efect de inhibare a dezvoltării masei algale.

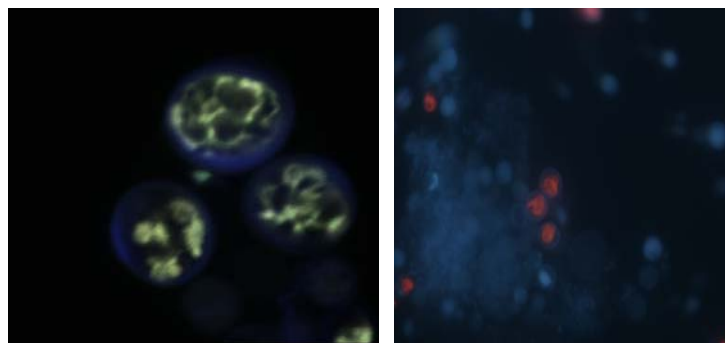


Fig. 1. Imagini realizate cu microscopul Nikon Eclipse Ti-E, celule microalgale *Chlorella sorokiniana* [fixare trypan blue – ICPE-CA]

În strainatate, P. Frei și colab. (2009) susțin că, în ultimii 20 de ani se poate observa o creștere substanțială a expunerii la câmpuri electromagnetice de radiofrecvență datorită introducerii de noi tehnologii, în special tehnologii legate de comunicarea mobilă.

În urma expunerii unor sisteme biologice vii la câmpuri electrice de curent continuu și alternativ pot apărea diverse răspunsuri: regenerarea nervoasă periferică, recuperarea fracturilor osoase, sinteza proteică și de ADN, redistribuirea receptorilor de suprafață, creșterea concentrației ionilor de Ca^{2+}

intracelular, reorganizarea citoscheletului. De asemenea aplicarea unui camp de curent continuu asupra celulei poate induce modificari la nivelul formei si orientarii acesteia si poate cauza alterari ale structurii microfilamentelor celulare. Aceste modificari ale citoscheletului pot fi observate si caracterizate prin microscopie de fluorescenta. Alti cercetatori au semnalat ca sub influenta campului se pot observa o serie de efecte biologice - modificari in proliferarea celulara, activitatea enzimatica, expresia genelor, permeabilitate celulara, stresul oxidativ si raspunsul la soc termic: **rasadurile de floarea soarelui** (*Helianthus annuus*) expuse unui camp magnetic de 20 μ T au prezentat mici, dar semnificative creșteri ale greutateii proaspete totale, a greutateilor tulpinilor și a radacinilor proaspete, în timp ce greutateile uscate și ratele de germinare au rămas neafectate; **epicotilele de mazăre** (*Pisum sativum*) au prezentat o alungire in urma expunerii intr-un camp magnetic de nivel scăzut ($11,2 \pm 4,2$ mm, $n = 14$) în comparație cu condițiile geomagnetice normale ($8,8 \pm 4,0$ mm, $n = 12$);

Fasolea [*Vicia faba*], expusa unui camp magnetic de intensitate scazuta (10 si 100 μ T la 50 sau 60 Hz), a prezentat modificari membranare ale proceselor de transport din varfurile radacinilor [35]. Seminte de soia [*Glycine max*] expuse unui camp magnetic pulsator de 1500 nT la 0,1, 1,0, 10,0 si 100,0 Hz timp de 5 ore pe zi pentru 20 de zile, a crescut semnificativ rata de germinare a semintelor, iar campurile magnetice pulsatorii de 10 si 100 Hz a prezentat raspunsul cel mai eficient[36]. Expunerea in aceste tipuri de campuri magnetice a imbunatatit, de asemenea, parametrii legati de germinare, cum ar fi absorbtia apei, viteza de germinare, lungimea rasadului, greutatea proaspata si uscata a plantei si vigoarea semintelor de soia conditiile de laborator;

Răsadurile de orz (*Hordeum vulgare*) crescute în bobine Helmholtz cu o intensitate a câmpului de 10 nT au arătat o scădere a greutateii proaspete a lăstarilor (cu 12%) și a rădăcinilor (cu 35%), precum și a greutateii uscate a lăstarilor (cu 19%) și a rădăcinilor (cu 48%); **Ceapa** (*Allium cepa*) crescută într-un mediu ecranat de câmpul magnetic a prezentat o scădere semnificativă a numărului de celule cu conținut crescut de ADN în meristeme și rădăcină.

În această parte a studiului au fost analizate particularitățile celulelor vegetale prin prisma analizei de microscopie confocală, urmând ca în etapa următoare de experimentări să fie furnizate câteva protocoale de lucru pentru microscopia confocală aplicată celulelor vegetale.

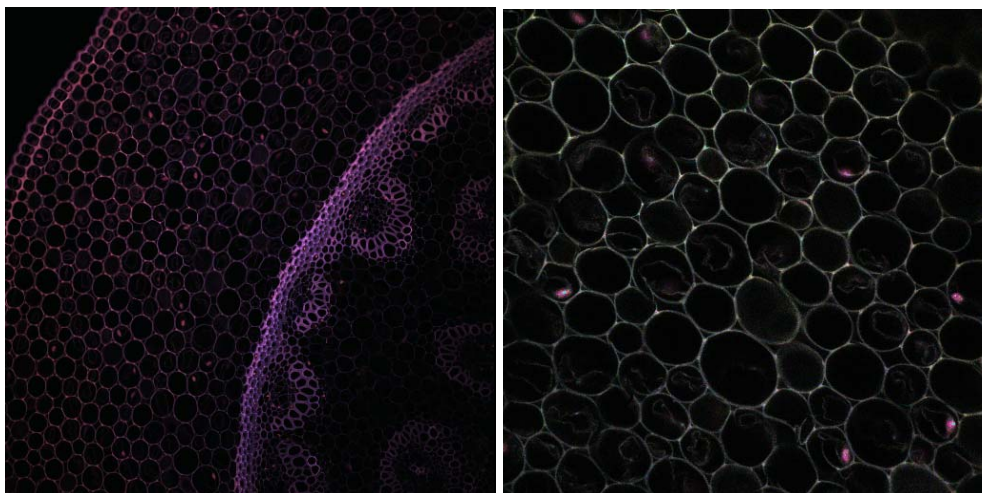


Fig. 2. Imagini realizate cu microscopul Nikon Eclipse Ti-E, tesut vegetal –ICPE-CA

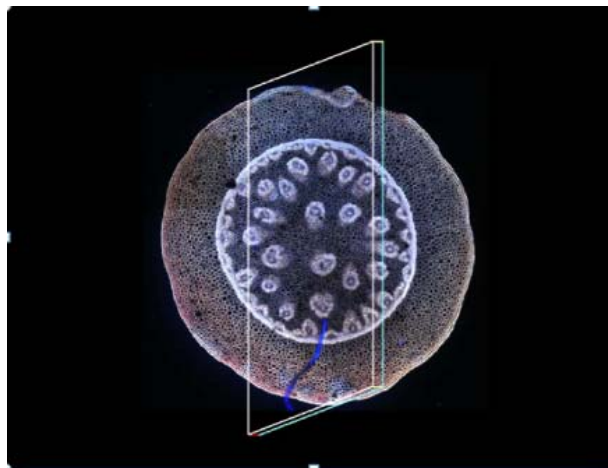


Fig. 3. Sectiune prin tesut vegetal – Nikon Eclipse Ti-E – ICPE-CA

Literatura de specialitate prezintă numeroase studii realizate cu diferite tehnici de spectroscopie Raman: spectroscopia Raman FT a fost utilizată pentru caracterizarea peretelui celular al bacteriilor precum și al plantelor, tehnica SERS (Surface-Enhanced Raman Spectroscopy) a fost aplicată pentru identificarea bacteriilor și diferențierea dintre microorganisme la nivel de tulpina, spectroscopia Raman cu rezonanță UV a fost utilizată pentru discriminarea unor tulpini foarte apropiate de endospori, iar microscopia Raman confocală a fost folosită pentru studiul compoziției chimice a unei singure celule bacteriene precum și la studiul bio-disponibilității și toxicității unor poluanți.

Spectroscopia Raman poate fi utilizată și pentru analiza compușilor carotenoidici din plante. Compuși carotenoidici, care includ carotenele și derivații lor oxigenați, prezintă funcții biologice importante în plante. Pentru cuantificarea cantității de clorofilă din plante se poate folosi spectroscopia de fluorescență.

Bibliografie selectiva

- [1] Huang Y. J., Samorajski J., Kreimer R., Searson P.C., 2013, The Influence of Electric Field and Confinement on Cell Motility, Vol. 8, Nr. 3
- [2] Lee S., Johnson D., Dunbar K., Dong H., Ge X., Kim Y.C., Wing C., Jayathilaka N., Emmanuel N., Zhou C.Q., Gerber H.L., Tseng C.C., Wang S.M., 2005, 2.45 GHz radiofrequency fields alter gene expression in cultured human cells, FEBS Lett., vol 579, pp. 4829-4836.
- [3] Masa Kanduser and Damijan Miklavsis Capitol 1 Electroporation in Biological Cell and Tissue: An Overview, pag. 1-37, în volumul E. Vorobiev, N. Lebovka [eds.], Electrotechnologies for Extraction from Food Plants and Biomaterials, DOI: 10.1007/978-0-387-79374-0 1, C _ Springer Science+Business Media, LLC 2008
- [4] Nanushyan, E.R., and Murashov, V.V. [2001]. "Plant meristem cell response to stress factors of the geomagnetic field [GMF] fluctuations" in Plant Under Environmental Stress [Moscow: Friendship University of Russia], 204–205.
- [5] Belyavskaya, N.A. [2004]. Biological effects due to weak magnetic field on plants. Adv.SpaceRes. 34, 1566–1574. doi:10.1016/j.asr.2004.01.021
- [6] Songnuan W., Kirawanich P., 2012. Early growth effects on Arabidopsis thaliana by seed exposure of nanosecond pulsed electric field. Journal of Electrostatics 70, 445-450
- [7] H. Schulz. Qualitative and Quantitative FT-Raman Analysis of Plants. In: Baranska M. [eds] Optical Spectroscopy and Computational Methods in Biology and Medicine. Challenges and Advances in Computational Chemistry and Physics, vol 14. Springer, Dordrecht [2014]

Concluzii:

- Domeniul actual de dezbatere științifică este legat de interacțiunea organismelor vii cu câmpurile electromagnetice generate de tehnologie ca de exemplu cele produse la frecvența de oscilație a curentului alternativ în rețelele de distribuție a energiei electrice (60 Hz în SUA, respectiv 50 Hz în Europa), precum și la frecvențele generate de computere și telefoane mobile în domeniile de frecvență kHz, MHz și GHz. Totuși, mecanismul interacției materiei vii cu aceste câmpuri este necunoscut, fiind emise numeroase ipoteze, dar niciuna susținută pe deplin de date experimentale. Expunerea în câmp EM poate afecta diferite componente celulare, procese și sisteme;
- În urma studiilor de literatură se observă faptul că un câmp electromagnetic poate reprezenta un factor de stres abiotic care produce un răspuns celular. Multe rapoarte au demonstrat că pot apărea mai multe avantaje decât dezavantaje atunci când aceste câmpuri electromagnetice, de intensitate puternică sau slabă, au fost aplicate tesuturilor vegetale;
- În general s-a observat că expunerea semintelor în câmpurile electromagnetice este o metodă simplă de îmbunătățire a dezvoltării ulterioare a plantelor, aceasta include rata de germinare, lungimea rădăcinii, greutatea totală proaspătă și uscată, randamentul fructelor, dar și o creștere a conținutului de clorofilă și o acumulare de ioni diferiți;
- Având în vedere toate tipurile de câmp aplicate se poate concluziona că aplicarea răspunsurilor celulare a tesuturilor vegetale este specifică tipului de plantă și câmpului utilizat. Prin urmare se recomandă să se ia în considerare descrierea parametrilor, cum ar fi intensitatea câmpului electric (V/m), frecvența (Hz), densitatea fluxului magnetic (T), curentul electric (A) și durata de aplicare (s). Același lucru se aplică condițiilor microclimatice în timpul experimentelor pentru a exclude factorii de influență nedorită;
- Având în vedere studiul științific efectuat, obiectivele fazei au fost îndeplinite și se propune continuarea cercetărilor prin *elaborarea unui protocol experimental de aplicare și evaluare, pe baza unor teste de laborator in situ, cu scopul evaluării influenței câmpurilor electrice și magnetice asupra tesutului vegetal.*

6. Rezultate, stadiul realizării obiectivului fazei, concluzii și propuneri pentru continuarea proiectului (se vor preciza stadiul de implementare a proiectului, gradul de îndeplinire a obiectivului cu referire la tintele stabilite și indicatorii asociați pentru monitorizare și evaluare).

- Obiectivul fazei 2/2007 a fost îndeplinit, respectiv a fost realizat studiul privind aplicarea câmpurilor electrice și magnetice asupra tesutului vegetal, obținându-se astfel rezultatul preconizat R2. Obiectivul fazei 2/2008 se încadrează în obiectivul specific OS4 al proiectului;
- La nivel de proiect, obiectivul fazei 1/2018 a fost îndeplinit, respectiv a fost realizat studiul privind posibilitățile de colectare, transport și neutralizare a reziduurilor rezultate din activitatea de foraj, obținându-se astfel rezultatul preconizat R1. Obiectivul fazei 1/2008 se încadrează în obiectivul specific OS3 al proiectului;
- Pentru îndeplinirea obiectivului general precum și a obiectivelor specifice OS1 – OS4 ale proiectului, pe parcursul anului 2018 au fost planificate următoarele faze de realizare, cuprinzând activități științifice specifice, care vor conduce la obținerea rezultatelor R3 – R10, conform planificării din tabelul nr.1 prezentat;
- Fazele și activitățile științifice au fost planificate pentru o desfășurare în paralel, cu termene diferite de finalizare, astfel ca lucrările în fazele 3-8 au fost demarate încă de la începutul proiectului.

Tabelul nr.1. Faze de realizat pe toată durata cercetării:				
Nr. crt.	Denumire faza	Valoare - lei -	Rezultate preconizate	Termen de predare
F1.	Studiu privind posibilitățile de colectare, transport și neutralizare a reziduurilor rezultate din activitatea de foraj (realizat).	273001	R1. Studiu privind posibilitățile de colectare, transport și neutralizare a reziduurilor rezultate din activitatea de foraj (realizat)	15.04.2018
F2.	Studiu privind aplicarea campurilor electric si magnetic asupra tesutului vegetal (realizat).	273001	R2. Studiu privind aplicarea campurilor electric si magnetic asupra tesutului vegetal (realizat)	15.04.2018
F3.	Obținere si depunere de nanomateriale carbonice prin sinteză chimică și/sau depunere chimică din fază de vapori (CVD) pe substrat de tip <i>screen printed electrode (variante experimentale)</i> . Studiu privind monitorizarea pesticidelor in produse horticoale sau in mediu prin utilizarea de senzori carbonici electrochimici.	467000	R3. 2 variante experimentale de nanomateriale carbonice (xerogeluri si/sau materiale grafenice) obținute prin sinteză chimică (chimie umedă și/sau depunere chimice din fază de vapori), ce vor fi utilizate pentru dezvoltarea de senzori destinati detectiei de pesticide	01.07.2018
F4.	Proiectarea sistemului de reciclare a magnetilor permanenti pe baza tratamentelor în hidrogen la temperatură ridicată.	417002	R5. proiect de realizare a unui sistem HD / HDDR dedicat reciclării magneților permanenți	01.07.2018
F5.	Elaborarea unei proceduri de depoluare a solului cu substanțe tensioactive.	422500	R7. procedura de depoluare a solului cu substanțe tensioactive	01.10.2018
F6.	Elaborarea unui protocol experimental de aplicare si evaluare a influentei campurilor electric si magnetic asupra tesutului vegetal.	619502	R8. protocol experimental de aplicare si evaluare a influentei campurilor electric si magnetic asupra tesutului vegetal R9. 1 articol ISI / BDI transmis spre publicare	01.10.2018
F7.	Obtinere de electrozi modificati in vederea dezvoltarii de teste rapide pentru detectia pesticidelor de tip carbamat (<i>model experimental</i>). Caracterizari preliminare ale electrozilor modificati obtinuti.	418497	R4. model experimental de electrozi modificati R9. 1 articol ISI / BDI transmis spre publicare R10. 1 prezentare rezultate la conferința de specialitate.	10.12.2018
F8.	Executarea sistemului de reciclare a magnetilor permanenti și testarea acestuia (<i>model experimental</i>).	416997	R6. model experimental de sistem de reciclare a magnetilor permanenti R9. 1 articol ISI / BDI transmis spre publicare	10.12.2018

Responsabil proiect
Dr.ing. Gimi A. RIMBU