

UNIVERSITATEA „BABEȘ-BOLYAI” CLUJ-NAPOCA

Facultatea de Chimie și Inginerie Chimică

Ioana-Coralia Glăjar (căs. Feher)

**IDENTIFICAREA MARKERILOR SPECIFICI PENTRU
PROBE DE APĂ ȘI VEGETALE PRIN UTILIZAREA
SPECTROMETRIEI DE MASĂ ȘI A METODELOR
CHEMOMETRICE**

Rezumatul tezei de doctorat

Conducător științific
Prof. Emerit Dr. Ioan Oprean

**Cluj-Napoca
2017**



UNIVERSITATEA „BABEŞ-BOLYAI” CLUJ-NAPOCA
Facultatea de Chimie și Inginerie Chimică



Ioana-Coralia Glăjar (căs. Feher)

**IDENTIFICAREA MARKERILOR SPECIFICI PENTRU
PROBE DE APĂ ȘI VEGETALE PRIN UTILIZAREA
SPECTROMETRIEI DE MASĂ ȘI A METODELOR
CHEMOMETRICE**

Rezumatul tezei de doctorat

Conducător științific
Prof. Emerit Dr. Ioan Oprean

Cluj-Napoca
2017

Cuvinte cheie: poluanți organici, poluanți metalici, ape de suprafață, conținut izotopic și elemental, legume, chemometrie, metode statistice

Comisia de Evaluare a tezei de doctorat:

Președinte:

Prof. Dr. Csaba Paizs

Universitatea Babeș-Bolyai, Facultatea de
Chimie și Inginerie Chimică, Cluj-Napoca

Conducător științific

Prof. Emerit Dr. Ioan Oprean

Universitatea Babeș-Bolyai, Facultatea de
Chimie și Inginerie Chimică, Cluj-Napoca

Referenți:

Conf. Dr. Călin Avram

Universitatea de Vest, Facultatea de Fizică,
Timișoara

Prof. Dr. Tiberiu Frențiu

Universitatea Babeș-Bolyai, Facultatea de
Chimie și Inginerie Chimică, Cluj-Napoca

CS I Dr. Zaharie Moldovan

Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare
pentru Tehnologii Izotopice și Moleculare,
Cluj-Napoca

Introducere	1
Capitolul 1. Cercetări privind evaluarea spațială și temporală a poluanților organici în apele de suprafață din Transilvania utilizând spectrometria de masă și tehnici statistice multivariate	4
1.1. Prelevarea probelor de apă	4
1.2. Concentrarea poluanților organici utilizând extracția pe faza solidă (SPE), concentrarea extractelor și analiza cromatografică cuplată cu spectrometria de masă (GC/MS)	4
1.3. Interpretarea chemometrică	6
Capitolul 2. Dezvoltarea unei metode de extracție și analiză, utilizând cromatografia de gaze cuplată cu spectrometria de masă (GC/MS), pentru izolarea inhibitorilor de ardere din probe apoase	10
2.1. Studiul eficienței solvenților organici în funcție de starea staționară a cartușelor SPE	10
2.2. Separarea și identificarea extractelor obținute prin GC/MS	11
2.3. Validarea metodei. Stabilirea parametrilor de performanță ai metodei și estimarea incertitudinii de măsurare	12
2.4. Utilizarea metodei propuse pentru probe reale de apă de suprafață	13
Capitolul 3. Cercetări privind evaluarea spațială și temporală a urmelor de metale în apele de suprafață din Transilvania utilizând spectrometria de masă cu plasma cuplată inductiv și tehnici statistice multivariate	14
3.1. Analiza statistică a datelor experimentale obținute pentru metale	14
Capitolul 4. Cercetări privind aplicații ale rapoartelor izotopilor stabili și ale profilului elemental în caracterizarea legumelor organice și convenționale	18
4.1. Prelucrarea chemometrică	18
Capitolul 5. Cercetări privind stabilirea markerilor izotopici și elementali pentru discriminarea originii geografice și a practicilor agricole a morcovilor	22
5.1. Discriminarea morcovilor crescuți în regim organic de cei crescuți în regim convențional	22
5.2. Discriminarea morcovilor crescuți în Transilvania și cei crescuți în celelalte zone	24
5.3. Discriminarea morcovilor crescuți în cele trei zone din Transilvania	25
Capitolul 6. Concluzii generale	27
Lucrări publicate și participări la conferințe	30
Bibliografie selectivă	34

Introducere

În rezumatul tezei de doctorat se prezintă pe scurt o parte din rezultatele originale a cercetărilor experimentale, concluziile generale și bibliografia selectivă. Ca elemente de noutate teza aduce contribuții relevante atât pentru domeniul apelor de suprafață, prin caracterizarea din punct de vedere al compușilor organici și conținutului elemental, cât și domeniul alimentar, prin identificarea markerilor specifici, care pot fi utilizați pentru identificarea regimului de creștere (organic vs. convențional) sau a condițiilor de creștere (seră vs aer liber). Pentru prelucrarea volumului mare de date s-au utilizat diferite metode statistice multivariate, și anume: analiza de varianță (ANOVA), analiza cluster (CA), analiza principalelor componente (PCA) și analiza liniară a discriminantului (LDA).

Teza de doctorat cu titlul „**Identificarea markerilor specifici pentru probe de apă și vegetale prin utilizarea spectrometriei de masă și a metodelor chemometrice**” este structurată în două părți: **partea I - Noțiuni teoretice** și **partea a II-a - Contribuții originale**.

Partea I de *Noțiuni teoretice*, cuprinde 4 capitole:

Capitolul 1, *Poluarea apelor de suprafață*, prezintă informații despre poluarea apelor de suprafață, principalele surse de poluare și menționează principalele clase de poluanți organici și metalici. Sunt descrise de asemenea metodele de prelevare și principalele tehnici de prelucrare pentru apele de suprafață.

Capitolul 2, *Importanța autentificării legumelor prin determinarea conținutului izotopic și elemental*, prezintă aspecte legate de necesitatea amprentării izotopice și elementale, atât pentru consumatori, cât și pentru producători. Sunt tratate pe scurt metodele de preparare a vegetalelor pentru analizele izotopice și elementale.

Capitolul 3, Tehnici analitice aplicate pentru determinarea compușilor organici și a conținutului izotopic și elemental, descrie principalele metode analitice utilizate în partea experimentală a acestei lucrări, pentru identificarea poluanților organici din apele de suprafață și pentru determinarea conținutului izotopic și elemental în vegetale.

Capitolul 4, Metodele chemometrice aplicate în prelucrarea datelor analitice obținute în urma analizelor diverselor matrici, sumarizează câteva metodele chemometrice utilizate pentru o interpretare mai eficientă a datelor. De asemenea, sunt expuse câteva aplicații unde metodele chemometrice și-au dovedit eficiența.

Partea a II-a, Contribuții originale, este structurată în 5 capitole:

Capitolul 5, Cercetări privind evaluarea spațială și temporală a poluanților organici în apele de suprafață din Transilvania utilizând spectrometria de masă și tehnici statistice multivariate, prezintă un studiu de screening al principalelor râuri din Transilvania, din punct de vedere al conținutului de poluanți organici. Metodele statistice utilizate au reușit să grupeze punctele de prelevare în funcție de încărcarea organică, iar analiza principalelor componente a evidențiat sursele de poluare, asociate fiecărui compus.

Capitolul 6, Dezvoltarea unei metode de extracție și analiză, utilizând cromatografia de gaze cuplată cu spectrometria de masă (GC/MS), pentru izolarea inhibitorilor de ardere din probe apoase, prezintă o metodă optimizată și validată, pentru concentrarea inhibitorilor din probe de apă, urmată de analiza utilizând tehnica GC/MS.

Capitolul 7, Cercetări privind evaluarea spațială și temporală a urmelor de metale în apele de suprafață din Transilvania utilizând spectrometria de masă cu plasma cuplată inductiv și tehnici statistice multivariate, prezintă un studiu de screening al principalelor râuri din Transilvania, din punct de vedere al conținutului elemental. La fel ca și în cazul poluanților organici, s-au utilizat analiza cluster pentru gruparea punctelor de prelevare și analiza principalelor componente pentru identificarea surselor de poluare.

Capitolul 8, Cercetări privind aplicații ale rapoartelor izotopilor stabili și ale profilului elemental în caracterizarea legumelor organice și convenționale, prezintă clasificări ale legumelor în funcție de regimul de creștere (organic vs conventional), al condițiilor de creștere (sera vs aer liber) sau al locului părților comestibile (subteran vs suprateran).

Capitolul 9, *Cercetări privind stabilirea markerilor izotopici și elementalii pentru discriminarea originii geografice și a practicilor agricole a morcovilor*, este un studiu care s-a realizat pe un set mai mare de probe de morcovi, pentru a îndepărta influența variabilității speciilor. Au fost identificați principalii markeri izotopici și elementalii care pot diferenția legumele organice față de cele convenționale, sau cei care pot diferenția din punct de vedere geografic morcovii. S-a reușit și o diferențiere a probelor din zona Transilvaniei, cu evidențierea principalilor markeri.

Capitolul 10, *Concluzii generale*, cuprinde a sinteza a rezultatelor prezentate în lucrare, concluziile generale și o serie de recomandări.

Obiectivul general al acestei lucrări a fost de a identifica markerii specifici pentru probe de apă de suprafață și vegetale prin utilizarea spectrometriei de masă (GC/MS, ICP-MS și IRMS) și a metodelor chemometrice (ANOVA, CA, PCA, LDA), furnizând astfel atât informații evidente, cât și informații mai puțin observabile prin simpla analiză a datelor experimentale, dar care pot fi esențiale. Pentru a demonstra caracterul versatil al acestei asocieri de tehnici, s-au studiat ca matrici complexe, apele de suprafață și alimente (legume), ambele având o importanță deosebită pentru sănătatea populației. Un accent special în această lucrare a fost acordat probelor colectate din zona Transilvaniei pentru ambele matrici. Pentru atingerea obiectivului general, s-au parcurs următoarele **obiective specifice**:

- Analiza probelor de apă utilizând tehnicile GC/MS și ICP-MS.
- Prelucrarea chemometrică a rezultatelor experimentale prin identificarea poluanților specifici pentru fiecare bazin în parte și a surselor de poluare.
- Dezvoltarea, optimizarea și validarea metodei de extracție SPE pentru determinări de inhibitori de ardere din probe de apă.
- Analiza probelor de legume din punct de vedere al conținutului izotopic și elemental
- Prelucrarea chemometrică a rezultatelor experimentale prin identificarea markerilor specifici pentru stabilirea regimului de creștere (organic vs convențional) și a condițiilor de creștere (seră vs aer liber).

Capitolul 1

Cercetări privind evaluarea spațială și temporală a poluanților organici în apele de suprafață din Transilvania utilizând spectrometria de masă și tehnici statistice multivariate

Programele de monitorizare includ prelevare frecventă de probe din diverse puncte, urmate de determinarea parametrilor care au de obicei variabilitatea cea mai mare. În consecință studiile de monitorizare generează baze de date foarte mari și complexe, care sunt dificil de interpretat. Pentru a explora informația inclusă în aceste date, se pot aplica diferite metode chemometrice. Aceste tehnici permit interpretarea datelor analitice obținute, reducerea setului de date, dar fără a se pierde din informații.

Capitolul de față își propune caracterizarea râurilor din Transilvania (Olt, Mureș și Cibin) din punct de vedere al conținutului de poluanți organici. Pentru îndeplinirea acestui scop s-a utilizat tehnica cuplată GC/MS, iar rezultatele au fost prelucrate eficient utilizând tehnicile chemometrice, pentru a evalua efectului variațiilor sezoniere asupra concentrațiilor compușilor organici, și pentru a extrage parametrii care sunt reprezentativi pentru fiecare bazin în parte.

1.1. Prelevarea probelor de apă

Au fost realizate două sesiuni de prelevare de probe, corespunzătoare sezonului ploios (luna Octombrie) și sezonului secetos (luna Iulie). S-au ales nouă puncte de prelevare de-a lungul celor trei râuri, după cum urmează: două puncte pe râul Cibin (Cristian și aval de Sibiu), trei puncte pe râul Olt (Bradu, Făgăraș și Voila-aval Făgăraș) și patru puncte pe râul Mureș (Târgu-Mureș, Cipău-aval Târgu-Mureș, Cuci, Luduș).

1.2. Concentrarea poluanților organici utilizând extracția pe faza solidă (SPE) și analiza cromatografică cuplată cu spectrometria de masă (GC/MS)

Pentru prepararea probelor s-au utilizat 500 de mL de probă de apă, care au fost filtrate utilizând sistemul de vaccum și filtre de Teflon cu diametru de 47 mm. Probele au fost apoi extrase utilizând extracția în fază solidă cu cartușele OASIS HLB (hydrophilic lipophilic balance, 3 ml, 60 mg). Eluenții au fost transferați într-un balon conic și evaporati cu ajutorul

rotaevaporatorul. Probele au fost reconstituite prin adăugarea unui mL de isooctan, iar apoi 2 μL s-au injectat în sistemul GC/MS. Toate probele s-au prelucrat în duplicat. În paralel, s-a extras o probă blank, pentru a elimina posibilele interferențe apărute de la manipularea probelor sau de la procedura SPE. Nu s-au observat interferențe semnificative.

Probele au fost analizate utilizând o metodă GC/MS prezentată într-o altă lucrare (Moldovan, 2006). Pentru evaluarea cantitativă (Figura 1), s-a utilizat metoda standardului intern. Standardul intern folosit a fost PCB-30, de concentrație $1000 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ în heptan. Analiza GC/MS a fost realizată prin ionizare cu impact de electroni (EI) la 70 eV. Temperaturile sursei de ioni și a injectorului au fost de $250 \text{ }^\circ\text{C}$. S-a folosit o coloană capilară DB-5MS, $30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm}$ i.d. și linia de transfer între cromatograf și spectrometru a avut temperatura de $300 \text{ }^\circ\text{C}$. Programul de temperatură al cromatografului a fost următorul: temperatura inițială $90 \text{ }^\circ\text{C}$, timp de 1 minut, crește cu $10 \text{ }^\circ/\text{min}$ până la $120 \text{ }^\circ\text{C}$, apoi crește din nou cu $4 \text{ }^\circ/\text{min}$ până la $300 \text{ }^\circ\text{C}$. Acești gradienti de temperatură sunt necesari pentru o separare bună a compușilor și pentru a elimina coeluțiile. Gazul purtător a fost heliul, la un debit de $1.5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Analiza cantitativă s-a făcut prin compararea spectrului de masă obținut cu spectrele din biblioteca NIST sau cu cele raportate în literatură. Evaluarea cantitativă s-a realizat prin corelarea fiecărei arii cu cea a standardului intern.

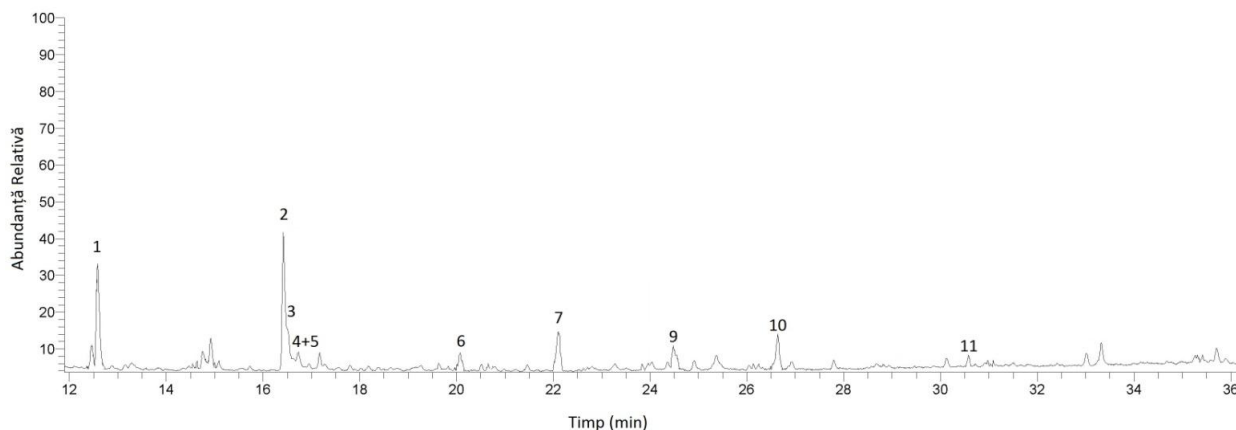


Figura 1. Cromatograma obținută pentru proba de apă colectată din râul Cibin în sezonul secetos. Compușii sunt
(1)DBP(2)BZP(3)AMI(4)DNTP(5)MHJ(6)DBNP(7)GALA(8)TONA(9)BHA
(10)TPP(11)EHMC(12)PRM

1.3. Interpretarea chemometrică

Analiza ANOVA (5% interval de încredere) s-a aplicat pentru a evidenția compoziții ai căror concentrații au fost influențate de debitul crescut din sezonul ploios. Doar doi compuși au rezultat ca fiind influențați de creșterea debitului din sezonul ploios (valorile $p < 0.05$), și anume: MHJ ($p = 0.043$) și BZP ($p = 0.001$). Un alt scop pentru care s-a aplicat ANOVA este acela de a identifica poluanții care pot diferenția cele trei râuri. DBNP ($p = 0.016$) și BHA ($p = 0.004$) au prezentat valori mai mari în râul Olt decât în Mureș. Cibin, nu s-a putut diferenția de celelalte două râuri prin nici un compus organic. Aceste comparații între cele trei râuri s-au realizat utilizând testele Tuckey *post hoc*. Dendrograma prezentată în **Figura 2** a fost obținută utilizând metoda Ward's de clusterizare cu distanța Euclidiană ca măsura a similarității între clustere.

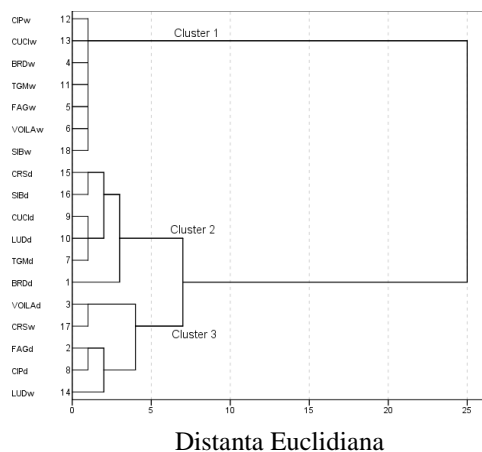


Figura 2. Dendrograma locurilor de prelevare în acord cu contaminanții organici analizați în probele de apă

Punctele de prelevare care aparțin aceluiași cluster au caracteristici similare. Acest lucru înseamnă că, pentru un screening rapid nu este necesar să se analizeze toate probele din cluster, pentru că o singură probă poate fi reprezentativă pentru întreg clusterul. Acest punct de prelevare reprezintă o referință a evaluării spațiale a calității apei. Clusterul 1 a grupat locurile de prelevare CIPw, CUCIw, TGMw, BRDw, FAGw, VOILAw, SIBw și acestea sunt cele mai puțin poluate locuri, datorită debitului crescut al râului din sezonul ploios. Clusterul 2 cuprinde cele mai poluate locuri de prelevare dintre toate și toate aceste probe au fost colectate în sezonul secetos. Aceste locuri sunt: CRSd, SIBd, CUCId, LUDd, TGMd, BRDd. Clusterul

3 a grupat VOILAd, CRSw, CIPd, FAGd și LUDd, iar aceste puncte corespund locurilor cu o poluare moderată. Cea mai importantă contribuție la acest grad ridicat de poluare este reprezentată de deversările directe în apele naturale, a apelor uzate domestice sau prin spălarea terenurilor agricole. O altă cauză semnificativă pentru gradul ridicat de poluare este reprezentată de subdimensionarea și vechimea stațiilor de epurare a orașelor mici, cum sunt Voila (VOILAd) și Făgăraș (FAGd). Rezultatele obținute din analiza CA au evidențiat cele mai poluate locuri de prelevare în ceea ce privește compușii organici. Poluanți cu cel mai mare grad de discriminare au fost evidențiați prin aplicarea analizei ANOVA utilizând ca variabilă de grupare, variabila obținută în urma analizei CA. Doar doi componenți au fost statistic semnificativi, și-anume BZP ($p = 0.01$) și AMI ($p = 0.058$), chiar dacă valoarea este mai mare de 0.05 a fost luată în considerare pentru interpretare. Un viitor program de monitorizare poate fi optimizat, pe baza acestor rezultate, pentru că probele pot fi colectate doar din punctele semnificative, reducând astfel timpul de prelevare și de analiză, dar și costurile. Rezultate similare au fost obținute și în studiile anterioare raportate în literatură de alți cercetători, atunci când CA s-a utilizat pentru a grupa punctele de prelevare de pe un râu din Argentina (Potrero de los Funes). Procedura utilizată a generat trei clustere care au grupat punctele de prelevare cu aceleași caracteristici și cu aceleași surse de poluare.

PCA a fost aplicată pe o matrice ce conține concentrațiile fiecărui compus organic analizat, din ambele sesiuni de prelevare, din fiecare punct de prelevare. Parametrii semnificativi care s-au utilizat pentru aceasta metodă au fost: metoda de extracție utilizată a fost cea a principalelor componente, și au fost reținuți doar componenții cu valoarea proprie mai mare decât 1. Rotația matricii s-a făcut utilizând metoda Varimax cu normalizare Kaiser. După analiza PCA s-au obținut cinci componenți principali însumând o varianță totală de 87.3 % din variația totală a setului de date. Reprezentarea grafică a valorilor propri pentru fiecare component principal este prezentată în **Figura 3**.

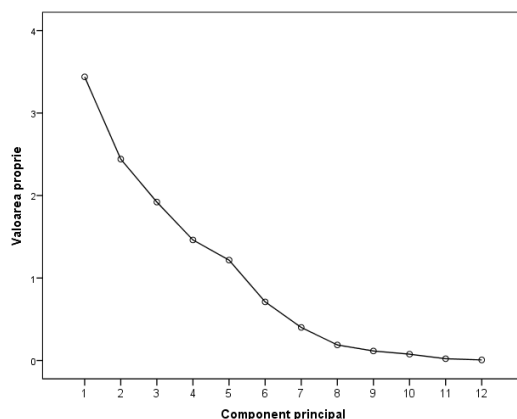


Figura 3. *Reprezentarea valoărilor proprii pentru fiecare component principal (scree plot)*

Conform **Tabelului 1**, primul component este format din DBP, TPP, AMI, GALA și TONA. Acest component conține cel mai mare număr de componenți reprezentativi și poate indica efectul descărcărilor directe a apelor uzate în efluent, în special din activități industriale fără un tratament prealabil.

Tabel 1. *Încărcările cu contaminanți organici după rotația Varimax (s-au extras cinci componenți) pentru probele de apă colectate din 18 puncte (valorile > 0.5 sunt boldate)*

Parametru organic	Component principal 1	Component principal 2	Component principal 3	Component principal 4	Component principal 5
DBP	0.788	0.317	0.008	0.351	-0.022
DNTP	-0.046	0.919	-0.235	0.037	-0.099
DBNP	-0.028	0.859	0.187	-0.092	0.373
BHA	-0.036	0.105	0.062	0.110	0.978
TPP	0.916	0.192	0.050	-0.171	-0.211
MHJ	-0.023	-0.099	0.118	0.935	0.157
AMI	0.551	-0.286	-0.143	0.145	0.005
GALA	0.945	-0.145	-0.103	-0.041	0.092
TONA	0.721	-0.153	-0.175	-0.444	0.022
BZP	0.043	0.559	0.244	0.583	-0.451
PRM	-0.102	-0.080	0.909	0.262	-0.123

EHMC	-0.105	0.050	0.958	-0.018	0.172
Valoarea proprie	3.44	2.44	1.92	1.46	1.22
Varianța explicată (%)	28.7	20.3	16.0	12.2	10.1
Varianța cumulată (%)	28.7	49.0	65.0	77.2	87.3

Componentul Principal 2 și 3, este dat de DNTP, DBNP, BZP, PRM și EHMC. Compușii nitroaromatici au rol antioxidant și sunt cunoscuți ca având efect cancerigen pentru organismele acvatice, iar principalele lor utilizări sunt în industria uleiurilor, pentru a crește rezistența înoptriva proceselor de oxidare. Pe de altă parte, principalele utilizări ale PRM și EHMC sunt de filtre UV în produsele pentru protecție solară și ca stabilizatori UV pentru produsele din plastic. Acest component poate fi atribuit surselor de poluare punctiformă, reprezentat de intrarea directă a apelor provenite de la activități recreaționale. Componentul principal 4, este dat de MHJ și BZP, în timp ce ultimul component 5 este format de BHA. MHJ este o esență de parfum, utilizată în multe amestecuri de parfum. Se poate găsi în parfumurile folosite pentru cosmetice decorative, șampoane, săpunuri sau detergenți și produse de îngrijire ale casei. Faptul că BZP are încărcări puternice în doi componenți, sugerează faptul că acest compus are două surse de poluare diferite. BHA este un conservant întâlnit foarte des în multe produse alimentare, pentru a preveni oxidarea grăsimilor și a uleiurilor. De asemenea se mai poate folosi la fabricarea cauciucurilor, produselor petroliere sau a ambalajelor pe baza de ceară.

Capitolul 2

Dezvoltarea unei metode de extracție și analiză, utilizând cromatografia de gaze cuplată cu spectrometria de masă (GC/MS), pentru izolarea inhibitorilor de ardere din probe apoase

Compușii organofosforici (OPFR) sunt produse chimice care se utilizează frecvent ca plastifianți sau ca produse inhibitoare în echipamentele electronice, textilele, materialele de construcție, vopsele, lacuri sau diferite produse din plastic (Binici *et. al.*, 2013). O altă utilizare importantă a acestor compuși este de agenți antispumanti și aditivi, în produse cum sunt lubrifianții sau fluidele hidraulice (Marklund *et. al.*, 2005). *Noutatea acestui studiu este data de dezvoltarea, optimizarea și validarea unei metode de extracție a inhibitorilor din probe de apă.*

2.1. Studiul eficienței solvenților organici în funcție de starea staționară a cartușelor SPE

În aceasta etapă a studiului s-au testat 4 tipuri de cartușe, și-anume: *STRATA X, OASIS HLB, Lichrolut EN/RP, Chromabond C18*. Pentru etapa de condiționare și de eluție a celor patru tipuri de cartușe, s-au testat 3 solvenți și-anume *metanol, diclorometan și acetatul de etil* (**Tabel 2**). Toate extracțiile s-au realizat în duplicat. Pentru această etapă s-au preparat 5 probe (4 probe pentru cele 4 cartușe și o proba „zero” pentru fiecare set de extracții) utilizând 500 mL apă de râu, în care s-a adăugat un amestec care conține toți analiții de interes (spiked samples). Amestecul ce conține compușii de interes s-a realizat în acetonă, iar concentrația finală în proba de apă a fost de $500 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ pentru fiecare dintre compuși.

Tabel 2. *Descrierea metodelor SPE utilizate pentru izolarea compușilor de interes*

Etapele SPE	Metoda I	Metoda II	Metoda III
Condiționare	2×3 ml Me-ol 2×3 mL H ₂ O HPLC	2×3 mL CH ₂ Cl ₂ 2×3 mL ACN 2×3 mL H ₂ O HPLC	2×3 mL Et-Ac 2×3 mL H ₂ O HPLC
Trecere probă	500 mL probă	500 mL probă	500 mL probă
Spălare	3 mL H ₂ O HPLC	3 mL H ₂ O HPLC	-
Eluție	2×3 mL Me-ol	3 mL CH ₂ Cl ₂ +ACN 3 mL CH ₂ Cl ₂	2×3 mL Et-Ac

2.2. Separarea și identificarea extractelor obținute prin GC/MS

Parametrii utilizați au fost: temperatura injectorului 250 °C, separarea s-a făcut pe o coloana capilară, DB - 5MS de 30 m × 0.25 mm i.d., iar temperatura liniei de transfer și a sursei de ioni a fost de 300 °C, respectiv 250 °C. Programul de temperatură utilizat a început de la 90 °C, unde s-a menținut 1 minut, a urcat cu 10 °C min⁻¹ până la 180 °C, apoi a urcat cu 15 °C min⁻¹ până la 250 °C, unde s-a menținut timp de 8 minute. Gazul purtător folosit a fost heliul, la un debit de 1.5 mL·min⁻¹. Utilizându-se condițiile prezentate anterior se obține o cromatograma (**Figura 4**) în care identificarea compușilor s-a făcut pe baza ionului caracteristic selectat, iar cuantificarea s-a realizat prin măsurarea ariilor cromatografice, existând o bună separare a celor trei compuși și neexistând alte interferențe.

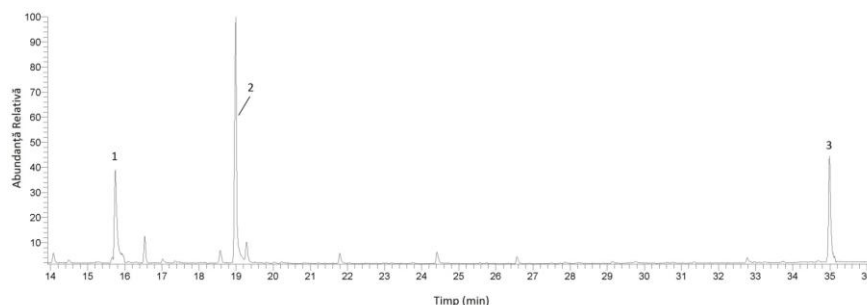
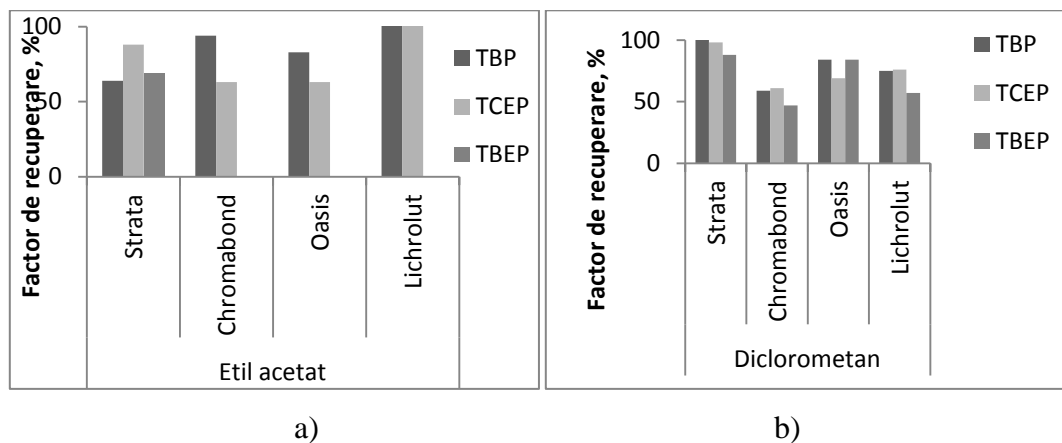
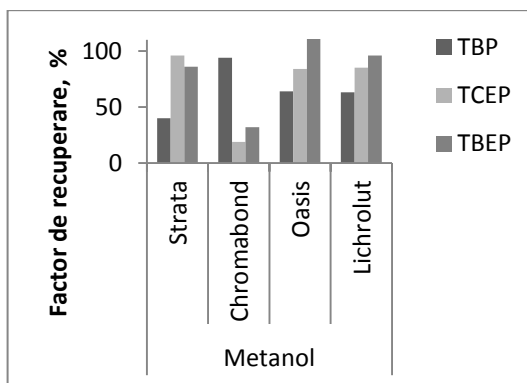


Figura 4. Cromatograma obținută pentru extracția cu diclorometan utilizând cartușele Strata
Compușii sunt: (1)TBP(2)TCEP(3)TBEP





c)

Figura 5. Gradele de recuperare pentru compuşii investigaţi eluaţi cu a) Etil acetat, b) Diclorometan și c) Metanol

Așa cum se poate observa, cea mai bună combinație dintre cartuș și solvent (**Figura 5**), capabilă să ofere cele mai bune valori ale gradului de recuperare pentru extracția simultană a OPFRs din apele de suprafață, este dată de Strata cu diclorometan.

2.3. Validarea metodei. Stabilirea parametrilor de performanța ai metodei și estimarea incertitudinii de măsurare

Dreptele de etalonare s-au realizat pe intervalul 20 – 1000 ng·mL⁻¹ pentru TBP și pe intervalul 50 -1 000 ng·mL⁻¹ pentru TCEP și TBEP. Coeficienții de corelație obținuți din dreptele de etalonare au prezentat valori mai mari de 0.998. Repetabilitatea și reproductibilitatea obținute au fost bune, valorile deviațiilor standard relative fiind mai mici de 10 %, excepție făcând TBEP (valoarea de 16 % pentru repetabilitate și 13 % pentru reproductibilitate). Limitele de detecție și de cuantificare sunt prezentate în **Tabelul 3**.

Tabel 3. LOD și LOQ pentru cei trei compuşii investigați

Parametru	TBP (ng·mL ⁻¹)	TCEP (ng·mL ⁻¹)	TBEP (ng·mL ⁻¹)
LOQ	2.9	20.2	3.3
LOD	0.9	6.1	1.0

Incertitudinea asociată măsurătorii este dată de:

$$\frac{u(C)}{C} = \sqrt{\left(\frac{u(V_{\text{proba}})}{V_{\text{proba}}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{\text{solvent SPE}})}{V_{\text{solvent SPE}}}\right)^2 + \left(\frac{u(iC_8)}{iC_8}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{\text{material referinta}})}{V_{\text{material referinta}}}\right)^2 + (RSD_{\text{aparat}})^2}$$

$$\frac{u(C)}{C} = \sqrt{0.0026424^2 + 0.005847^2 + 0.005487^2 + 0.005779^2 + 0.053^2}$$

$$\frac{u(C)}{C} = 0.054$$

$$u(C) = C \times 0.054$$

Incertitudinea standard compusă în cazul TBP, de exemplu, este: $u(c) = 317.4 \text{ ng/L} \times 0.054 = 17.1$. Considerând un nivel de încredere de 95 %, cu un factor de extindere $k = 2$, rezultă următoarea valoare a incertitudinii extinse: $U_{\text{extins}} = 2 \times 17.1 = 34.2$

Concentrațiile inhibitorilor pot fi declarate astfel: $C_{\text{TBP}} = 317.4 \text{ ng/L} \pm 34.2 \text{ ng/L}$ sau $317.4 \text{ ng/L} \pm 10.7 \%$

2.4. Utilizarea metodei propuse pentru probe reale de apă de suprafață

Pentru a testa metoda dezvoltată au fost prelevate 10 probe de apă de suprafață din râul Someș. Rezultatele s-au centralizat în **Tabelul 4**.

Tabel 4. Concentrațiile inhibitorilor de ardere din râul Someș, exprimate în $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$
 \pm intervalul de încredere

Numar proba	TBP ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)	TCEP ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)	TBEP ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)	TCPP ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)
1	4418±250	<LOD	<LOD	<LOD
2	2187±92	<LOD	<LOD	661±58
3	604±8	<LOD	<LOD	102±12
4	39659±1080	2347±80	<LOD	<LOD
5	653±62	<LOD	<LOD	<LOD
6	420±70	<LOD	<LOD	288±20
7	465±64	<LOD	<LOD	267±18
8	582±38	<LOD	<LOD	176±22
9	1216±102	<LOD	<LOD	262±32
10	380±46	<LOD	<LOD	<LOD

Capitolul 3

Cercetări privind evaluarea spațială și temporală a urmelor de metale în apele de suprafață din Transilvania utilizând spectrometria de masă cu plasma cuplată inductiv și tehnici statistice multivariate

Printre poluații apelor, metalele grele sunt cele mai comune și nu pot fi degradate chimic sau biologic. Se pot de asemenea acumula sau pot fi transportate pe distanțe lungi de la sursă (Simeonov *et al.*, 2000).

În acest studiu, bazinul Cibinului, Mureșului și al Oltului, au fost selectate pentru monitorizarea concentrațiilor de metale. *Noutatea acestui studiu este reprezentată de asocierea dintre tehnici analitice sensibile, utilizate pentru analiza probelor de apă și tehnici chemometrice, pentru o mai bună interpretare a rezultatelor.*

3.1. Analiza statistică a datelor experimentale obținute pentru metale

Analiza ANOVA (5 % interval de încredere) s-a folosit pentru a evalua influența precipitațiilor asupra concentrațiilor metalelor și pentru a evidenția diferențele semnificative între cele trei râuri supuse acestui studiu. Rezultatele au arătat că singurele elemente care sunt influențate de nivelul crescut de precipitații din sezonul ploios sunt Cr ($p = 0.028$), As ($p = 0.000$), Mg ($p = 0.014$), K ($p = 0.039$) și Na ($p = 0.05$). Neașteptat, cele trei râuri nu s-au putut diferenția prin nici un element analizat.

Analiza cluster ierarhică (HCA) s-a aplicat pentru a realiza o grupare a punctelor de prelevare în funcție de concentrația metalelor. În general, obiectele (punctele de prelevare) au proprietăți asemănătoare în interiorul aceluiași cluster, dar diferite de proprietățile din celelalte cluster (Yang *et al.*, 2014). Rezultatul HCA este o dendrogramă, prezentată în **Figura 6**. HCA s-a efectuat aplicând metoda Ward de clusterizare, cu distanța Euclidiană pătrată ca măsură a similarității dintre cluster.

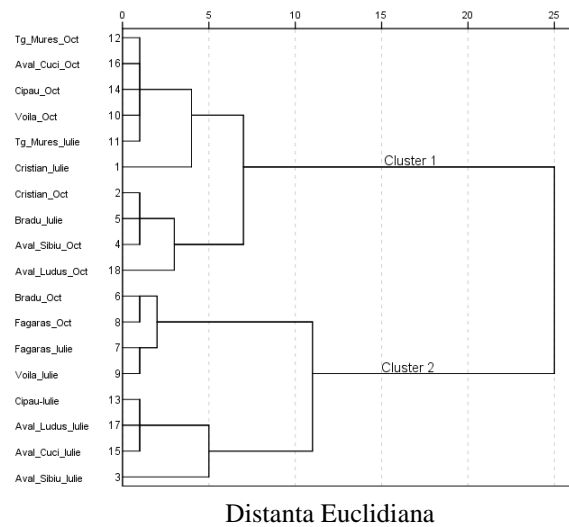


Figura 6. Dendrograma rezultată din analiza cluster, în care punctele de prelevare sunt grupate în funcție de conținutul de metale.

Rezultatele au arătat că elementele principale care pot diferenția clusterii formați sunt: Ti ($p = 0.044$), Mn ($p = 0.046$), Ca ($p = 0.000$), Mg ($p = 0.049$) și Na ($p = 0.001$).

Prin rularea PCA pe setul de date experimental, cinci componenți principali au fost reținuți (datorită valorii proprii mai mari decât unu), sumarizând o varianță totală de 86.4 %. Reprezentarea valorii proprii pentru fiecare component principal este prezentată în **Figura 7**.

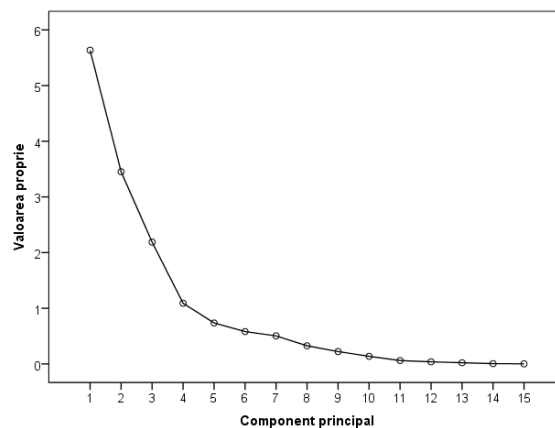


Figura 7. Reprezentarea valorilor proprii pentru fiecare component principal (scree plot)

Încărcările fiecărui component extras sunt prezentate în **Tabelul 5**. Primul component principal a explicat o variație de 34.4 % din variația totală și a fost format din Cu, Pb, Al, Mn și Fe. PC2 a inclus 18.1 % din variația totală și a fost dat de Na și Mg, în timp ce PC3 (17.3 %) a fost dat de K. Ultimii doi componenți au avut o variație de 9.7 % și respectiv 6.9 % din varianța totală și au fost compuși din Ti și Ca, respectiv din Cr și Cd.

Tabel 5. Matricea componentilor. Valorile boldate reprezintă elementele cu aport semnificativ în componentul principal

Parametru	Component Principal 1	Component Principal 2	Component Principal 3	Component Principal 4	Component Principal 5
Cr	0.280	0.205	-0.273	-0.025	0.750
Ni	0.660	0.478	0.207	0.069	0.395
Cu	0.896	-0.135	0.038	-0.108	0.265
As	-0.078	-0.546	0.667	0.274	-0.263
Cd	0.101	-0.158	-0.093	-0.186	0.921
Pb	0.861	0.181	0.301	0.091	0.110
Al	0.843	-0.009	-0.410	-0.020	-0.047
Ti	0.006	-0.044	-0.075	0.841	-0.138
Mn	0.757	0.121	-0.178	0.470	0.013
Fe	0.913	0.087	-0.125	0.010	0.123
Zn	0.685	-0.495	0.425	0.065	0.129
Ca	0.104	0.200	0.336	0.836	-0.043
Mg	0.076	0.860	-0.103	0.229	-0.030
K	-0.019	0.171	0.896	0.021	-0.208
Na	0.018	0.944	0.187	-0.035	0.000
Valoare proprie inițială	5.16	2.72	2.60	1.46	1.03
% din varianță	34.4	18.1	17.3	9.7	6.9
Varianță cumulativă %	34.4	52.5	69.8	79.5	86.4

Sursa de poluare atribuită primului component ar putea fi de origine geogenică (Levei *et al.*, 2014), naturală, datorită influenței albiei râurilor și a sedimentelor, prin desorbția

metalelor la nivel de urme de pe oxizii hidroxi de Al, Fe, Mn, care prezintă o afinitate deosebită pentru Pb și Cu (Mihailović *et al.*, 2014). PC2 a reflectat procesele de spălare naturală ca urmare a dizolvării silicaților de Mg și Na. De exemplu, o rocă calcaroasă eliberează sodiu, în timp ce dolomita eliberează magneziu (Avdullahi *et al.*, 2013). Sursele de poluare evidențiate de al treilea PC sugerează o influență antropogenică. Potasiul este eliberat predominant (87 %) din spălarea mineralelor de silicat. O altă sursă importantă de potasiu este asociată cu utilizarea fertilizatorilor aplicați pe terenurile agricole, pentru că este un nutrient esențial cerut în cantități mari de toate plantele (Lenntech 2015).

Al patrulea component reflectă de asemenea o influență naturală, asupra concentrațiilor de Ca și Ti. Titanul este un component al mineralelor cum sunt, rutilul și anataza. Deci, doar o cantitate mică de titan ajunge în ape prin spălarea rocilor. Ca poate fi dizolvat din roci calcaroase, marmură, calcită și dolomită (Lenntech 2015).

Ultimul component principal sugerează o contribuție a industriei existente în zona studiată. Așadar, o sursă majoră de crom este reprezentată de industria metalurgică, dar și din vopsitoriile unde compușii pe baza de crom sunt utilizați ca și catalizatori. În mod similar, cadmiul poate să provină și din activități industriale (Boyacioglu, Boyacioglu, 2011).

Capitolul 4

Cercetări privind aplicații ale rapoartelor izotopilor stabili și ale profilului elemental în caracterizarea legumelor organice și convenționale

Produsele organice sunt considerate de unii consumatori a fi mai atragătoare pentru consum, mai sănătoase și mai naturale decât cele obținute prin agricultura convențională (Schmidt *et al.*, 2005, Mondelaers, Verbeke, Huylenbroeck, 2009, Camin *et al.*, 2011). Creșterea cerințelor consumatorilor pentru alimentele organice, introducerea certificării și prețurile mai ridicate, au creat o tentație pentru unii comercianți de a eticheta unele produse obținute prin practici agricole convenționale ca fiind organice. Pentru a diferenția aceste două categorii de produse, dezvoltarea unor asocieri de tehnici analitice performante a devenit necesară în scopuri de autentificare a produselor cu adevărat organice.

Scopul acestui studiu a fost de a stabili cei mai potriviți markeri, capabili să diferențieze legumele organice de cele convenționale, sau care pot să diferențieze legumele crescute în solar de cele crescute în aer liber. Aceste clasificări au fost stabilite utilizând metode chemometrice aplicate datelor experimentale izotopice și elementale.

4.1. Prelucrarea chemometrică

Primul scop al acestui studiu a fost *identificarea particularităților specifice pentru fiecare tip de legumă, din punct de vedere izotopic și elemental*. Pentru îndeplinirea acestui scop, analiza LDA s-a aplicat întregului set de probe. Datorită faptului că s-au comparat șase grupuri, fiecare reprezentând un tip de legumă (salată, roșii, cartofi, varză, usturoi și praz), s-au obținut cinci funcții discriminante. Toate funcțiile au fost semnificative din punct de vedere statistic ($p < 0.05$), primele două explicând 92.2 % din variația setului de date (Wilks lambda a fost 0.009 și 0.077). Distribuția probelor este expusă în **Figura 8**. Clasificarea inițială a fost de 93.3 %, în timp ce, cu procedura de validare încrucișată, s-a reușit o clasificare în procent de 88.9 % din cazuri (probele de legume). Această clasificare s-a realizat pe baza celor mai puternici predictorii, și-anume P , Sr , $\delta^{18}O$, $\delta^{15}N$ și $\delta^{13}C$. S-a observat că aceste diferențe între legume sunt legate de particularitățile fiziologice ale plantei, și sunt date de rapoartele izotopice ale oxigenului ($^{18}O/^{16}O$), azotului ($^{15}N/^{14}N$) și carbonului ($^{13}C/^{12}C$). Acest lucru

poate fi explicat prin faptul că gradul de îmbogățire izotopică depinde de specia de plantă, chiar și pentru plante crescute în aceeași zonă geografică (Magdas, Puscas, 2011).

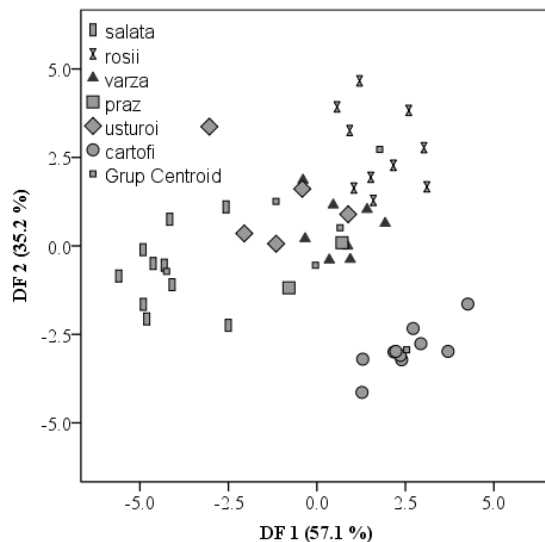


Figura 8. Distribuția probelor în funcție de tipurile de legume, utilizând primele două funcții discriminante

Pentru identificarea markerilor potriviți care pot diferenția legumele crescute în solar față de cele crescute în aer liber, testul LDA a fost aplicat având ca variabilă de discriminare tipul de creștere al legumelor. Parametrii obținuți ca fiind cei mai buni predictorii pentru acest criteriu au fost: Ni , Mo , Cd , Pb și $\delta^{13}C$. De asemenea, funcția discriminantă obținută pentru identificarea tipului de creștere a fost semnificativă din punct de vedere statistic ($p < 0.001$, Wilks lambda 0.231) și a explicat în procent de 100 % din variabilitatea datelor. Reprezentarea grafică este prezentată în **Figura 9**. 100 % din probele inițiale au fost corect clasificate, în timp ce un procent de 93.3 % a fost obținut în validarea încrucișată. Valorile foarte negative ale $\delta^{13}C$ sunt un indicator pentru cultura de solar și ar putea fi explicate prin influența valorilor scăzute ale $\delta^{13}C$, a gazului natural utilizat pentru încălzire, disponibil pentru creșterea plantelor (Schmidt *et al.*, 2005). Legat de prezența unor metale ca și predictorii pentru acest caz, o explicație ar putea fi reprezentată de faptul că aplicarea fertilizatorilor și a gunoierului de animale pe solul agricol, ar putea crește concentrațiile unor elemente toxice (ex. Cd , Pb , Ni) în sol, care ar putea fi absorbite de plante și în acest fel, ar crește riscul de contaminare al produselor agricole (Nookabkaew *et al.*, 2016). Diferențele între concentrațiile

metalelor ar putea să apară și datorită tipurilor de pesticide care se utilizează pentru culturile din solarii comparativ cu cele care se folosesc pentru culturile în aer liber.

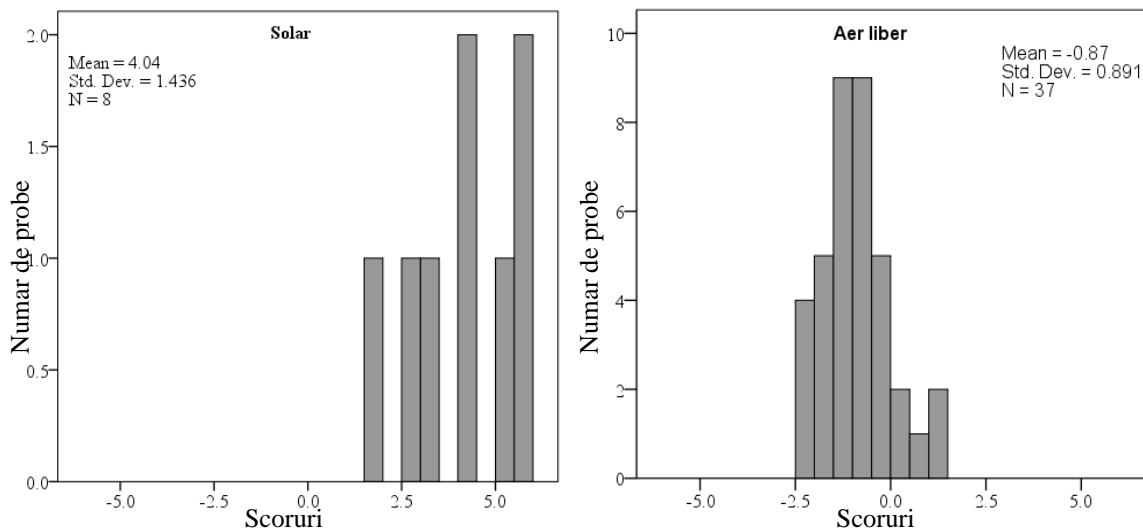


Figura 9. Discriminarea legumelor în funcție de condițiile de creștere

Ultima diferențiere care s-a realizat utilizând LDA, a constat în *discriminarea legumelor crescute organic de cele crescute cu practici convenționale*. Analiza s-a aplicat pe toate probele analizate, iar cele două grupuri de legumele care au fost comparate (organic și convențional) au fost clasificate în procent de 84.4 %. Funcția obținută, semnificativă din punct de vedere statistic ($p = 0.001$, Wilks lambda 0.553), a fost aplicată și s-a obținut același procent ca și pentru clasificarea inițială. Cinci probe din grupul de legume organice și două probe din grupul de legume convenționale au fost clasificate greșit, atât în procesul de clasificarea, cât și în cele de validare încrucișată. Cel mai bun predictor în acest caz s-a dovedit a fi $\delta^{15}N$. Explicația pentru apariția acestui parametru constă în faptul că azotul din fertilizatorii sintetici are valorile $\delta^{15}N$ mult mai scăzute (de la -6 ‰ la 6 ‰) față de fertilizatorii naturali (de la 1‰ la 37 ‰) permiși în agricultura organică (Bateman, Kelly, 2007). Diferențele dintre aceste două tratamente agricole, ar putea contribui la diferențierea produselor obținute prin aceste tipuri de practici agricole. Reprezentarea grafică este în **Figura 10**. Separarea mai slabă între legumele organice și cele convenționale care s-a obținut, se datorează numărului mare de legume care a fost investigat. În acest caz, diferențele care apar, în termeni de conținut izotopic și elemental, între tipurile de legume, datorită diferențelor

dintre specii, se suprapun peste particularitățile plantelor crescute în regim organic sau convențional.

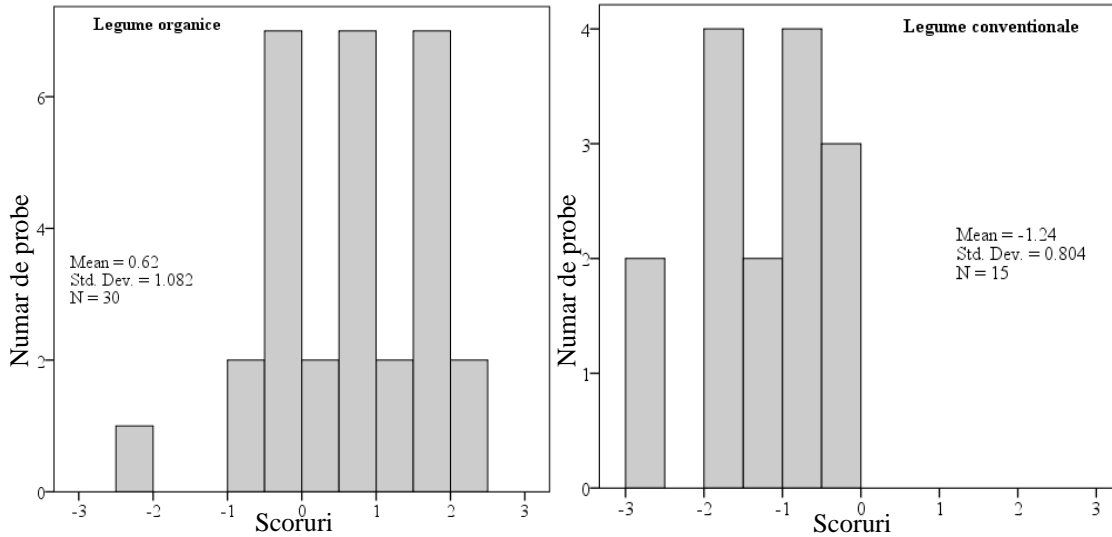


Figura 10. Distribuția legumelor crescute în regim organic sau convențional

S-a constatat că rezultatele obținute poartă amprenta particularităților tipului de plantă, iar predictorii obținuți nu sunt poate cei mai reprezentativi pentru scopul de clasificare propus. În urma acestui studiu, s-a putut constata faptul că, pentru stabilirea unor predictorii specifici unei anumite categorii (regim sau mediu de creștere, ori tip de plantă) o importantă deosebită îl are distribuția setului de date. Acesta ar trebui să cuprindă un număr relativ uniform și echilibrat de probe pentru fiecare categorie care se dorește a fi comparată. Mai mult, în cadrul aceleiași categorii ar trebui să existe probe care să fie reprezentative, în sensul că toate proprietățile și caracteristicile probelor ar trebui să fie evidențiate în setul respectiv de date. S-a putut observa creșterea procentului de clasificare atunci când s-a lucrat pe grupuri restrânse de probe.

Capitolul 5

Cercetări privind stabilirea markerilor izotopici și elemental pentru discriminarea originii geografice și a practicilor agricole a morcovilor

Morcovii sunt printre cele mai populare și mai des utilizate legume, fiind și unul dintre primele alimente care se introduce în alimentația nou-născuților. Din acest motiv, este necesar un control sporit al acestor produse, legat de condițiile de creștere, de practicile agricole, dar și de originea geografică, în special acum, când exista tehnologii avansate (energii regenerabile, electronice etc), care implică poluanți noi și de asemenea când se folosesc clase noi de pesticide și de fertilizatori. În ciuda progresului considerabil care s-a făcut pentru a înțelege comportamentul eco-toxicologic al elementelor tradiționale ca As, Cd, Cr, Cu, Hg și Pb, efectele asupra mediului și eco-toxicologice ale utilizării tot mai mari a altor elemente (Ga, Ge, In, Te, Nd, Ta, Tl), grupa platinei (PGEs: Pt, Pd, Rh, Os, Ir, Ru), și majoritatea elementelor pământurilor rare (REEs: Y, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Yb, Lu) nu sunt pe deplin înțelese (Cobelo-Garcia *et al.*, 2015). Studiile anterioare au raportat că discriminarea fie dintre organic și convențional sau din diferite zone geografice, implică elemente REEs ca markeri foarte importanți (Gundersen *et al.*, 2000, Bertoldi *et al.*, 2016).

Scopul acestui studiu a fost deferențierea morcovilor în funcție de regimul de creștere și în funcție de zona geografică, pe baza conținutului izotopic și elemental (inclusiv analiza pământurilor rare).

5.1. Discriminarea morcovilor crescuți în regim organic de cei crescuți în regim convențional

Primul test care s-a aplicat a fost ANOVA, având ca variabilă dependentă regimul de creștere al morcovilor. Rezultatele obținute au arătat markerii care au semnificație statistică și pot diferenția ($p < 0.05$) morcovii organici de cei convenționali. Acești descriptori au fost: $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ($p = 0.001$), Ti ($p = 0.014$), Cr ($p = 0.002$), Mn ($p = 0.003$), Fe ($p = 0.039$), Ga ($p = 0.025$), Sb ($p = 0.003$), Ba ($p = 0.013$), Sc ($p = 0.031$), La ($p = 0.001$), Ce ($p = 0.004$), Pr ($p = 0.002$), Nd ($p = 0.005$), Yb ($p = 0.043$), Lu ($p = 0.012$), Tm ($p = 0.005$), Th ($p = 0.018$). Unele dintre aceste elemente: Ti, Sb și Lu au fost puse în evidență și de alți autori care au studiat

comparativ usturoiul crescut în regim organic cu cel crescut în regim convențional (Gundersen *et al.*, 2000).

Relația directă dintre capacitatea de adsorbție a pământurilor rare REE și conținutul de oxid de mangan a fost evidențiată și de alți autori (Pang, Li, Peng, 2001). În acest studiu concentrația medie de mangan găsită pentru probele organice (4.6 mg/kg) a fost mai mare, comparativ cu conținutul de mangan măsurat pentru probele crescute în regim convențional (1.7 mg/kg). Aceste rezultate au o tendință diferită față de cele obținute de Kelly, Bateman (2010), pentru diferențierea probelor de roșii și salată crescute în regim organic și convențional. O posibilă explicație pentru rezultatele obținute în acest studiu ar fi dată de compoziția fertilizatorilor organici, care se comercializează pe piață din România și care conțin o cantitate considerabilă de mangan, între 1 și 32 %. De asemenea, alți autori, (Kelly, Bateman, 2010), au presupus că utilizarea manganului ca supliment pentru alimentația animalelor, ar putea reprezenta o sursă de Mn în culturile organice, unde se folosește gunoiul de la animale.

Pentru a evidenția și mai bine relația dintre conținutul de Mn și concentrația de REE și de asemenea pentru a confirma că există o corelație și o interdependență, s-a aplicat corelația Pearson. Datorită faptului că s-au utilizat foarte mulți descriptori, matricea obținută a fost foarte mare. Așadar, în acord cu Liu, Lin, Kuo (2003), valorile corelațiilor situate între 0.2 - 0.5 reprezintă corelații slabe, valorile cuprinse între 0.5 - 0.75 reprezintă corelații moderate, în timp ce valorile mai mari de 0.75 reprezintă corelații foarte puternice. În acest studiu, doar corelațiile foarte puternice sunt discutate și numai pentru descriptorii care au reieșit semnificativi din analiza ANOVA.

A reieșit că conținutul de Cr și Mn a fost corelat cu un număr mare de elemente aparținând pământurilor rare, și-anume: Sc, La, Ce, Pr, Nd, Lu, Th, în timp ce alte elemente, Cr, Ni, Sr sunt corelate pozitiv cu Nd. Printre REE menționate anterior, s-au observat corelații puternice, cel mai probabil datorită faptului că REE au configurația electronică apropiată, ducând astfel la un comportament chimic și fizic asemănător (Shtangeeva, 2014). În acest caz nu s-au observat corelații negative între elementele analizate.

Prin aplicarea LDA (metoda stepwise) pe markerii care au reieșit din analiza ANOVA pentru diferențierea morcovilor organici de cei convenționali, cei mai puternici markeri de

diferențiere s-au dovedit a fi: raportul isotopic al azotului $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ alături de *La* și *Ga*. Clasificarea inițială a morcovilor organici și convenționali s-a făcut în procent de 83.3 %, în timp ce procentul obținut în procesul de validare încrucișată a fost de 81 % (**Figura 11**). Studiile anterioare realizate de Bateman *et al.*, (2007) pe un set de probe de morcovi, conținând 30 de probe au sugerat că aparent nu există o diferență în compoziția izotopică a probelor organice față de cele convenționale. Ei au presupus că, o posibilă explicație, a limitării folosirii acestui marker pentru diferențierea celor două regimuri agricole, ar putea fi dată de necesitatea scăzută a morcovilor în ceea ce privește azotul, comparativ cu alte tipuri de legume (ex. salată sau roșii) și deci un consum mai scăzut de fertilizatori. Rezultate asemănătoare legate de imposibilitatea utilizării raportului izotopic al azotului pentru diferențierea culturilor organice și convenționale care au o cerere scăzută pentru azot au fost expuse și de Schmidt *et al.*, (2015).

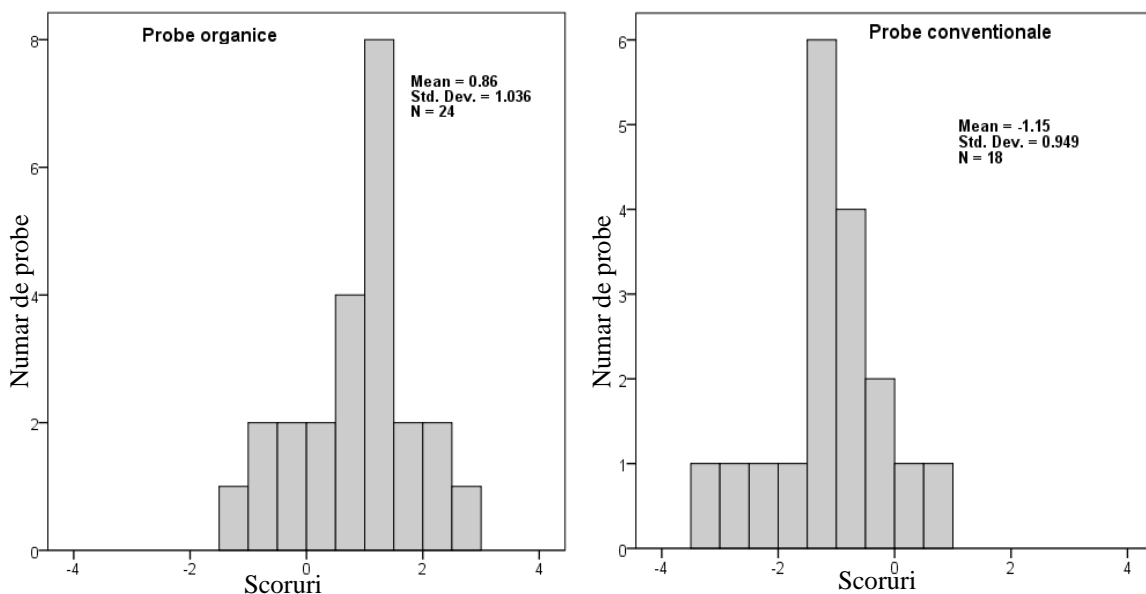


Figura 11. *Reprezentarea grafică a probelor de morcovi, în funcție de tipul de agricultură, obținută după aplicarea LDA*

5.2. Discriminarea morcovilor crescuți în Transilvania și cei crescuți în celelalte zone

Pentru *identificarea parametrilor care sunt caracteristici probelor din zona Transilvaniei*, s-a folosit un set de 103 probe de morcovi, având ca parametrii determinați conținutul elemental și rapoartele izotopice.

După aplicarea testului ANOVA pe această matrice, având ca factor originea geografică, s-au obținut următoarele variabile: Ti ($p = 0.001$), Cr ($p = 0.001$), Mn ($p = 0.001$), Ga ($p = 0.001$), Sb ($p = 0.014$), Cs ($p = 0.010$), Ba ($p = 0.035$), Tb ($p = 0.006$) și Pb ($p = 0.049$). Variabile de discriminare asemănătoare au fost obținute și de alți autori (Bertoldi *et al.*, 2016), și-anume; Ba, Cr, Cs, Ga și Mn, care au ajutat la clasificarea probelor în funcție de aria de proveniență în proporție de 100 %. Printre aceste elemente, Ga și Mn au avut cei mai mari coeficienți în funcțiile de discriminare obținute.

Pentru o clarificare mai bună a elementelor care realizează diferențierea între probele de morcovi crescute în Transilvania sau în celelalte arii geografice, LDA s-a aplicat doar pe variabilele care au avut potențial de diferențiere după aplicarea analizei ANOVA. Pentru că s-au comparat două variabile, s-a obținut o singură funcție pentru diferențiere (Wilks lambda 0.767 și $p < 0.001$) care a fost capabilă să realizeze în proporție de 100 % variabilitatea datelor. Cele mai puternice variabile pentru discriminare între probele care provin din Transilvania și celelalte din alte zone, au fost Mn și Tb (procentul de clasificare inițială și încrucișată a fost de 75.7 %).

5.3. Discriminarea morcovilor crescuți în cele trei zone din Transilvania

Un alt scop al acestui studiu a fost identificarea markerilor izotopici și elementali, care ar putea diferenția *cele trei zone din Transilvania*, de unde au fost procurate majoritatea probelor, și-anume Cluj, Sălaj și Bihor. Ca și în cazul anterior, testul ANOVA s-a aplicat utilizând 62 de probe de morcovi, iar predictorii semnificativi obținuți, Ti ($p = 0.044$), $\delta^{18}\text{O}$ ($p = 0.041$) și $\delta^2\text{H}$ ($p = 0.003$), au fost mai departe folosiți în LDA. Cei mai puternici markeri de discriminare au fost, în acest caz, $\delta^2\text{H}$, urmat de $\delta^{18}\text{O}$. Este cunoscut faptul că rapoartele izotopice ale oxigenului și ale hidrogenului, reprezintă cei mai buni markeri pentru discriminarea originii geografice (Longobardi *et al.*, 2015, Bontempo *et al.*, 2008). Pe de altă parte, nu s-au identificat alți markeri specifici practicilor agricole. Acest lucru indică faptul că practicile agricole ale producătorilor din zona Transilvaniei sunt similare.

După aplicarea LDA, un singur marker a fost obținut, și-anume $\delta^2\text{H}$. Procentele pentru clasificarea inițială și cea încrucișată nu au fost foarte ridicate (66.1 % și 64.5 %) datorită

faptului că aceste arii geografice sunt foarte apropiate una de cealaltă. Se poate observa din **Figura 12** că toate probele din Sălaj se suprapun peste probele din zona Cluj.

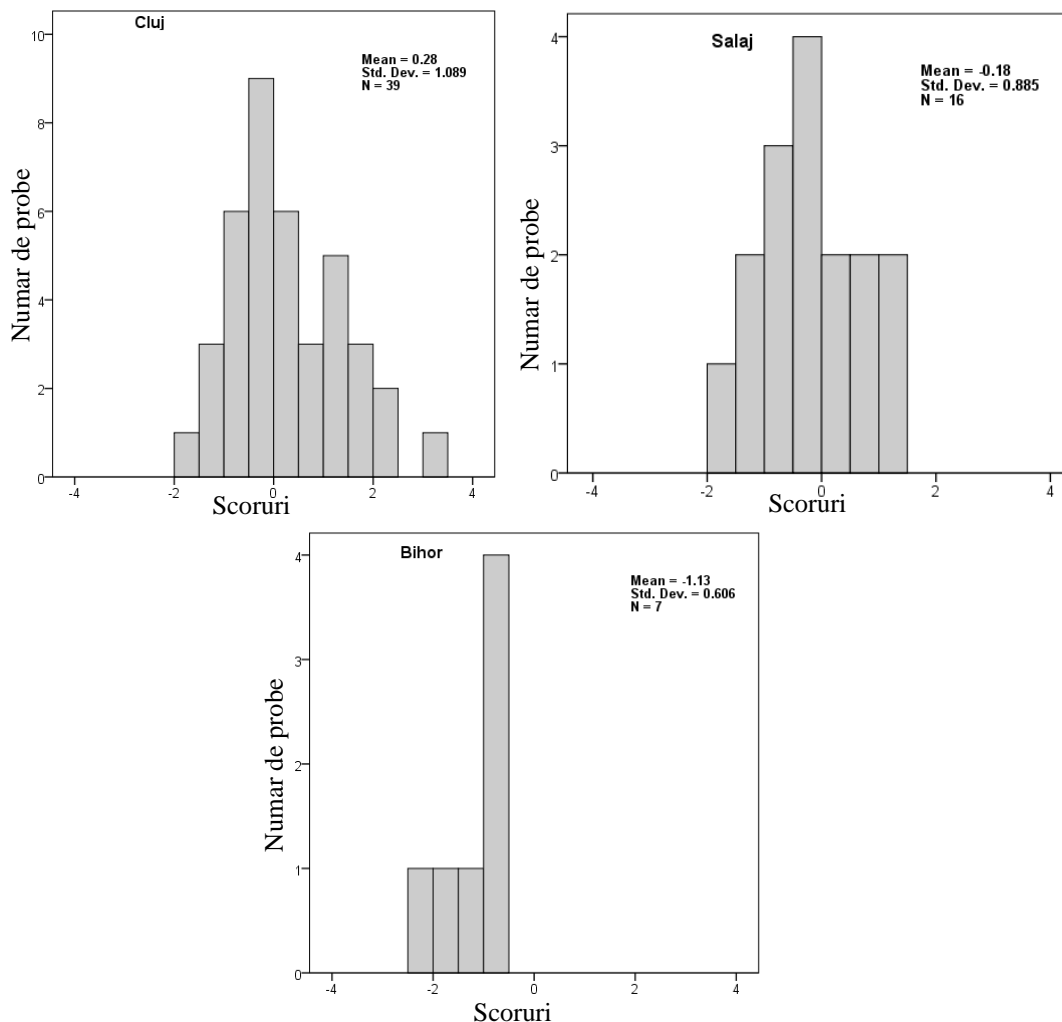


Figura 12. Distribuția probelor de morcovi în funcție de cele trei zone din Transilvania, utilizând LDA

Această suprapunere apare datorită faptului că aceste două regiuni sunt foarte similare, din punct de vedere al condițiilor climatice și ambele sunt alimentate cu apă din aceeași sursă (Râul Someș). Potențialul de discriminare mai mare al $\delta^2\text{H}$ față de $\delta^{18}\text{O}$, este dat de faptul că compoziția izotopică a oxigenului din plante, păstrează amprenta izotopică a apei subterane, a precipitațiilor din zona respectivă și a efectului de evapotranspirație, care sunt afectate de umiditate și temperatură (Rossmann *et al.*, 1999). Pe de altă parte, conținutul de hidrogen din

plante, care provine din apă, este preluat de rădăcini și în acest caz procesul de evapotranspirație nu este prezent, datorită faptului că morcovii sunt plante subterane.

Capitolul 6

Concluzii generale

Scopul principal al acestei lucrări a fost de a exploata potențialul metodelor chemometrice și al celor spectrometrice, în evidențierea markerilor specifici pentru apele de suprafață și pentru legume, în funcție de anumite criterii. În primul și în al doilea capitol al rezultatelor experimentale, s-au analizat apele de suprafață din trei bazine (Olt, Mureș și Cibin) din Transilvania, din punct de vedere al conținutului de compuși organici și elemental. Pentru evaluarea impactului precipitațiilor asupra concentrațiilor compușilor investigați, s-au prelevat 36 de probe de apă de suprafață în două sezoane diferite. S-a urmărit de asemenea identificarea parametrilor reprezentativi pentru fiecare bazin în parte.

Pentru identificarea poluanților organici, probele de apă au fost extrase utilizând extracția în fază solidă (SPE), urmată de analiza prin cromatografie de gaze cuplate cu spectrometria de masă (GC/MS). Toate rezultatele analitice au fost supuse analizelor chemometrice (ANOVA, CA, PCA și LDA). Dintre compușii organici analizați, cel cu cea mai mare concentrație a fost BZP, în punctul de prelevare de pe râul Olt (BRDd). Precipitațiile au influențat doar doi compuși dintre cei analizați, și-anume: MHJ și BZP. Compușii care au putut diferenția râul Olt de Mureș sunt DBNP și BHA, care au prezentat valori mai mari în râul Olt decât în Mureș. Râul Cibin nu s-a putut diferenția de celelalte bazine prin nici un compus. Aplicând analiza cluster s-a realizat gruparea locurilor de prelevare în funcție de încărcarea organică în trei cluster cu concentrații mici, medii și respectiv mari. În acest mod se poate reduce planul de prelevare la câte un singur punct reprezentativ din fiecare cluster, lucru ce conduce la reducerea numărului de analize și implicit a timpului și a costurilor asociate măsurătorilor. Prin aplicarea PCA pe întreg setul de date experimentale, s-a constatat, din examinarea matricei de corelare, că există poluați care provin din aceleași surse. Primul component principal obținut a fost atribuit poluării directe a apelor uzate fără un tratament adecvat. Al doilea component principal a fost atribuit poluării industriale, în timp ce al treilea corespunde unei poluări provenite din activități recreaționale.

Tot în cadrul acestui studiu al poluanților organici în apele de suprafață a fost dezvoltată o metodă de extracție solidă SPE pentru extracția inhibitorilor de ardere din probe de apă. Metoda SPE a fost optimizată prin testarea a patru tipuri diferite de cartușe și a trei solvenți de eluție. De asemenea, metoda dezvoltată a fost validată, prin calculul principalilor parametri de validare și a incertitudinii asociate măsurătorilor. Metoda a fost testată utilizând 10 probe de apă de suprafață din râul Someș, în care s-au identificat o parte din compușii investigați.

Pentru determinările conținutului elemental probele au fost analizate utilizând spectrometria de masă cu plasmă cuplată inductiv (ICP-MS), fără o prelucrare complexă a probelor înainte de analiză. Rezultatele experimentale au fost supuse aceluiași tratamente statistice (ANOVA, CA, PCA, LDA). Cele mai mari concentrații au fost găsite pentru Na, Ca, Mg și K. Aceste elemente au prezentat valori maxime în toate cele trei râuri. Nivelul ridicat de precipitații influențează doar concentrațiile de Cr, As, Mg, K și Na. Studiind matricea de corelare s-au putut observa mult mai multe corelații decât în cazul compușilor organici. Analiza cluster a evidențiat două cluster, unde punctele de prelevare s-au grupat în funcție de sezonul de prelevare. În urma analizei PCA, s-a constatat că primul component reprezintă o sursă de poluare de origine geogenică (Al, Mn și Fe). Celui de-al doilea component i se poate asocia o sursă naturală de poluare datorită elementelor Na și Mg. Al treilea component sugerează surse de poluare din activități de agricultură, datorate fertilizatorilor utilizați pentru creșterea plantelor. Al patrulea component reflectă de asemenea o influență naturală, asupra concentrațiilor de Ca și Ti. Titanul este un component al mineralelor cum sunt, rutilul și anataza. Deci, doar o cantitate mică de titan ajunge în ape prin spălarea rocilor. Ca poate fi dizolvat din roci calcaroase, marmură, calcită și dolomită. Ultimul component principal sugerează o contribuție a industriei existente în zona studiată.

În ultimele două capitole, s-au studiat legumele, din punct de vedere al conținutului isotopic și elemental. Toate rezultatele experimentale au fost supuse prelucrărilor chemometrice (ANOVA și LDA). Astfel la începutul studiului s-au studiat 45 de probe de legume, din diferite specii. Scopul studiului a fost acela de a diferenția (*i*) legumele crescute în aer liber față de cele crescute în solar (*ii*) legumele provenite din agricultura organică față de cele provenite din agricultura convențională (*iii*) mai multe specii între ele.

Acest aspect legat de variabilitatea datelor a fost eliminat în ultimul capitol al rezultatelor experimentale, prin studierea unei singuri matrici alimentare (morcovul) cu o reprezentare mai bună pentru toate criteriile luate în discuție. Astfel, s-au analizat 103 probe de morcovi, din punct de vedere al conținutului isotopic și elemental. Rezultatele au fost prelucrate utilizând ANOVA, iar markerii care au reieșit semnificativi au fost folosiți mai departe în construcția modelului LDA. Scopurile principale au constat în stabilirea markerilor pentru (i) identificarea regimului de creștere și (ii) stabilirea originii geografice a morcovilor. Principalii markeri care pot fi utilizați pentru stabilirea regimului de creștere au fost $\delta^{15}\text{N}$, alături de La și Ga. Diferențierea geografică s-a realizat în două etape, prima a fost diferențierea probelor românești, iar a doua s-a făcut doar pentru probele prelevate din Transilvania, unde s-a încercat diferențierea a trei zone, lucru destul de dificil de realizat, datorită faptului că sunt foarte apropiate unele față de altele, iar condițiile de precipitații sau termice pot fi identice. Mn, Tb și $\delta^2\text{H}$ au fost cei mai puternici markeri pentru acest criteriu.

Astfel, **principalele elemente de originalitate și noutate** realizate în prezenta lucrare constau în:- Caracterizarea râurilor din Transilvania din punct de vedere al conținutului de compuși organici și conținut elemental, utilizând metode spectrometrice de masă de înaltă rezoluție, sensibilitate și specificitate, și metode statistice multivariate; - Dezvoltarea, optimizarea și validarea metodei de extracție pentru inhibitorii de ardere din probe de apă; - Stabilirea markerilor izotopici și elemental, utilizând metode statistice multivariate, pentru diferite specii de legume, în funcție de regimul de creștere și de condițiile de creștere; - Analiza elementelor pământurilor rare în legume și selectarea elementelor reprezentative pentru criteriile mai sus menționate, cu ajutorul metodelor statistice. Această lucrare a demonstrat creșterea potențialului spectrometriei de masă prin asocierea cu metodele chemometrice, care sunt capabile să extragă din numărul mare de variabile analizate, pe cele reprezentative pentru fiecare criteriu în parte. De asemenea, elementul de noutate al acestor studii pe legume, este reprezentat de analiza pământurilor rare în legume și încercarea de a stabili unele surse de contaminare cu acestea.

Dirrecțiile de cercetare viitoare pot fi axate pe studiul unor alte clase de poluanți organici cu impact negativ asupra mediului. De asemenea pământurile rare pot fi măsurate și

în alte specii de legume. O abordare de actualitate ar fi identificarea surselor de poluare cu pământuri rare și evaluarea toxicologică și a riscului care sunt asociate cu aceste elemente.

Lucrări publicate

1. Dana Alina Magdas, **Ioana Feher**, Adriana Dehelean, Gabriela Cristea, Tudor Mihai Magdas, Romulus Puscas, Olivian Marincas, Isotopic and elemental markers for geographical origin and organically grown carrots discrimination, *Food Chemistry*, 2017, *published online*, **IF (2017)=4.521**
2. **Ioana Feher**, Alina Magdas, Adriana Dehelean, Gabriela Cristea, Cezara Voica, Application of light stable isotope ratios and elemental profile in the organic vegetables characterization, *Romanian Journal of Physics*, 2017, 62(1), 1-14, **IF(2017)=1.758**
3. Olivian Marinceaș, **Ioana Feher**, Dana Alina Magdas, Romulus Pușcaș, Optimized and validated method for simultaneous extraction, identification, and quantification of flavonoids and capsaicin, along with isotopic composition, in hot peppers from different regions, *Food Chemistry*, 2017, *published online*, **IF(2017)= 4.521**
4. **Ioana Feher**, Zaharie Moldovan, Ioan Oprean, Spatial and seasonal variation of organic pollutants in surface water using multivariate statistical techniques, *Water Science and Technology*, 2016, 74 (7), 1726-1735; DOI: 10.2166/wst.2016.351, **IF(2016)=1.197**
5. **Ioana Feher**, Cezara Voica, Veronica Floare-Avram, Olivian, Marincas, Ioan Oprean, Elemental Analysis of River Water from Transylvania, Romania by Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry and Chemometrics, *Analytical Letters*, 2016, 49(16), 2671-2685, DOI: 10.1080/00032719.2015.1113417, **IF(2016)=1.150**
6. Gabriela Cristea, **Ioana Feher**, Alina Magdas, Cezara Voica, Romulus Puscas, Characterization of Vegetables by Stable Isotopic and Elemental Signatures, *Analytical Letters*, 2017, DOI: 10.1080/00032719.2016.1263312, *published online*, **IF(2017)=1.150**
7. Gabriela Cristea, Alina Magdas, Cezara Voica, **Ioana Feher**, Stable Isotope Fingerprinting for Pharmaceutical Authentication, *Analytical Letters*, 2017, DOI: 10.1080/00032719.2016.1265534, *published online*, **IF(2017)=1.150**

8. Cezara Voica, Carmen Roba, **Ioana Feher**, Alina Magdas, Elemental Analysis and Metal Intake of Romanian Vegetables, *Analytical Letters*, 2017, DOI: 10.1080/00032719.2016.1261880, *published online*, **IF(2017)=1.150**
9. Alina Magdas, Adriana Dehelean, **Ioana Feher**, Stelian Radu, Isotopic and multielemental fingerprinting of organically and conventionally grown potatoes, *Isotopes in Environmental and Health Studies*, 2017, DOI: 10.1080/10256016.2017.1335722, *published online*, **IF(2017)=1.150**
10. Alina Magdas, Adriana Dehelean, **Ioana Feher**, Gabriela Cristea, Puscas Romulus, Sorin Daniel Dan, Darius-Victor Cordea, Discrimination markers for the geographical and species origin of raw milk within Romania, *International Dairy Journal*, 2016, 61, 135-141, DOI: 10.1016/j.idairyj.2016.06.003, **IF(2016)=2.067**
11. Cezara Voica, **Ioana Feher**, Ana Maria Iordache, Gabriela Cristea, Adriana Dehelean, Alina Magdas, Valentin Mirel, Multielemental Analysis of Coffee by Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry, *Analytical Letters*, 2016, 49 (16), 2627-2643, DOI: 10.1080/00032719.2015.1116003, **IF(2016)=1.150**
12. Romulus Pușcaș, Dana Alina Magdas, Ildiko Lung, Gabriela Cristea, Maria Loredana Soran, **Ioana Feher**, Adriana Dehelean, Isotopic composition influence of irrigation water on some aromatic plants, *Studia UBB Chemia*, 2016, LXI, 4, 31 – 42, **IF(2016)=0.244**
13. Anamaria Hosu, Veronica Floare-Avram, Alina Magdas, **Ioana Feher**, Mihai Inceu, Claudia Cimpoi, The Influence of the Variety, Vineyard, and Vintage on the Romanian White Wines Quality, *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2016, Article ID 4172187, 1-10, DOI: 10.1155/2016/4172187, **IF(2016)=1.801**
14. Cezara Voica, Alina Magdas, **Ioana Feher**, Metal Content and Stable Isotope Determination in Some Commercial Beers from Romanian Markets, *Journal of Chemistry*, 2015, Article ID 192032, 1-10, DOI: 10.1155/2015/192032, **IF(2015)=1.300**

Participari la conferinte naționale și internaționale

1. O Marinceaș, **I Feher**, A Magdas, The application in geographical discrimination of a new optimized extraction method for flavonoid and capsaicin from hot peppers (*Capsicum Annum L*), EuroFoodChem XIX Conference, 4-6 Octombrie 2017, Budapesta, Ungaria.
2. **I Feher**, D A Magdas, A Dehelean, G Cristea, C Voica, O Marinceaș, Elemental and isotopic fingerprint of Romanian vegetables through chemometric techniques. Comparative study: carrots vs. Potatoes, EuroFoodChem XIX Conference, 4-6 Octombrie 2017, Budapesta, Ungaria.
3. G Cristea, D A Magdas, C Voica, **I Feher**, S Radu, R Puscas, Isotopic and Elemental Analysis – a Tool to Differentiate Between Greenhouse and Field Vegetables Commercialized on Romanian Market, XIVth Workshop of the European Society for Isotope Research – ESIR, 25 – 29 June 2017, Băile Govora, Romania
4. D A Magda, **I Feher**, A Dehelean, G Cristea, C Voica, S Radu, R Pușcaș, Chemometric discrimination of Transylvanian vegetables based on their isotopic and elemental fingerprint, XIVth Workshop of the European Society for Isotope Research – ESIR, 25 – 29 iunie 2017, Băile Govora, Romania
5. D A Magdas, G Cristea, S Radu, C Voica, **I Feher**, Survey on the authenticity of the cider commercialized on Romanian market, 11th International Conference Processes in Isotopes and Molecules (PIM), 27-29 Septembrie 2017, Cluj-Napoca, Romania
6. D A Magdas, **I Feher**, A Dehelean, G Cristea, C Voica, S Radu, R Pușcaș, S D Dan, D V Cordea, Discrimination markers for geographical and species origin of raw milk produced in three Romanian farms, III International Turkish Congress on Molecular Spectroscopy, TURCMOS 2017, 26-29 august 2017, Bodrum, Turcia
7. A Dehelean, G Cristea, Z Balazs, A Magdas, **I Feher**, C Voica, R Puscas, Macro and microelements distribution among *Phaseolus Vulgaris L.* plant parts, irrigated with water having different isotopic composition, 11th International Conference Processes in Isotopes and Molecules (PIM), 27-29 Septembrie 2017, Cluj-Napoca, Romania
8. A Dehelean, M Kovacs, D A Magdas, G Cristea, C Voica, **I Feher**, E D Kovacs, O Marinceaș, Infant food supplements quality evaluation through complex analytical methods, 11th International Conference Processes in Isotopes and Molecules (PIM), 27-29 Septembrie 2017, Cluj-Napoca, Romania
9. **I Feher**, O Marinceaș, V Floare-Avram, D A Magdas, H Balazs, Phytoremediation of hexachlorocyclohexan (HCH) polluted soils using different wild plants, 11th International Conference Processes in Isotopes and Molecules (PIM), 27-29 Septembrie 2017, Cluj-Napoca, Romania
10. V Floare-Avram, O Marinceaș, **I Feher**, D Lazar, G Blanita, D A Magdas, Removal of organic pollutants from aqueous solution by adsorption on metal organic framework and graphene oxide based materials, 11th International Conference Processes in Isotopes and Molecules (PIM), 27-29 Septembrie 2017, Cluj-Napoca, Romania

11. O Marincas, **I Feher**, V Floare-Avram, C Voica, D Lazar, D A Magdas, Wastewater decontamination using low-cost adsorbent materials obtained from agricultural waste, 11th International Conference Processes in Isotopes and Molecules (PIM), 27-29 Septembrie 2017, Cluj-Napoca, Romania
12. Z Moldovan, **I Feher**, O Marincas, Appearance of water micropollutants in water as effects of extreme meteorological events, 11th International Conference Processes in Isotopes and Molecules (PIM), 27-29 Septembrie 2017, Cluj-Napoca, Romania
13. C Voica, **I Feher**, D A Magdas, G Cristea, Metal content in selected vegetables from the Romanian market and estimation of the daily intake, International Conference on Analytical and Nanoanalytical Methods for Biomedical and Environmental Sciences - IC-ANMBES 29 iunie-1 iulie 2016, Brasov, Romania
14. F Covaciu, D A Magdas, A Dehelean, G Cristea, **I Feher**, R Puscas, Multi-elemental, isotopic and trace pesticides analysis of wild and cultivated berries species, International Conference on Analytical and Nanoanalytical Methods for Biomedical and Environmental Sciences - IC-ANMBES 29 iunie-1 iulie 2016, Brasov, Romania
15. D A Magdas, A Dehelean, **I Feher**, G Cristea, C Voica, Application of light stable isotope ratios and elemental profile in the organic vegetables characterization, The 16th International Balkan Workshop on Applied Physics – IBWAP, 7-9 iulie 2016, Constanta, Romania
16. **I Feher**, V Floare-Avram, O Marincas, D A Magdas, Validation of combined SPE and GC/MS method for analysis of organophosphorus flame retardants in aqueous samples, 43rd International Conference of the Slovak Society of Chemical Engineering, 23-27 mai 2016, Tatranské Matliare, Slovacia
17. A Dehelean, D A Magdas, **I Feher**, G Cristea, R Puscas, A I Apahidean, Macro-, micro- and trace elements distribution among *Lactuca sativa* plant parts, irrigated with water having different isotopic composition, 43rd International Conference of the Slovak Society of Chemical Engineering, 23-27 mai 2016, Tatranské Matliare, Slovacia
18. A Dehelean, **I Feher**, G Cristea, S Radu, D A Magdas, Isotopic and multielemental fingerprinting and geographic traceability of organically and conventionally grown potatoes, 43rd International Conference of the Slovak Society of Chemical Engineering, 23-27 mai 2016, Tatranské Matliare, Slovacia
19. V Floare-Avram, C Voica, **I Feher**, O Marincas, D A Magdas, Influence of growing conditions on: phenolic, elemental and isotopic profile of tomatoes, 43rd International Conference of the Slovak Society of Chemical Engineering, 23-27 mai 2016, Tatranské Matliare, Slovacia
20. O Marincas, V Avram, **I Feher**, D Lazar, C Voica, I Grosu, Low-cost adsorbent materials derived from coffee waste for wastewater decontamination, 10th International Conference Processes in Isotopes and Molecules (PIM), 23-25 septembrie 2015, Cluj-Napoca, Romania
21. **I Feher**, C Voica, V Avram, O Marincas, I Oprean, Assessment of river water quality using chemometric techniques, 10th International Conference Processes in Isotopes and Molecules (PIM), 23-25 septembrie 2015, Cluj-Napoca, Romania

22. F D Covaciu, Z Moldovan, A Dehelean, D A Magdas, I C Feher, R Puscas, M Vlassa, Comparison among strawberries grown in different countries from: pesticides, heavy metals and stable isotope content point of view, 10th International Conference Processes in Isotopes and Molecules (PIM), 23-25 septembrie 2015, Cluj-Napoca, Romania

Bibliografie selectiva

- Avdullahi S, Fejza I, Tmava A., Rama M., Hetemi M., Assessment of heavy metal in the water springs, Stan Terg, Kosovo, *International Journal Engineering and Applied Science*, 2013, 2, 12–17
- Bateman A. S., Kelly S. D., Woolfe M., Nitrogen Isotope Composition of Organically and Conventionally Grown Crops, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55, 2664-2670
- Bertoldi D., Barbero A., Camin F., Caligiani A., Larcher R., Multielemental fingerprinting and geographical traceability of Theobroma cacao beans and cocoa products, *Food Control*, 2016, 65, 46-53
- Binici B., Bilsel M., Karakas M., Koyuncu I., Goren A., An efficient GC-IDMS method for determination of PBDEs and PBB in plastic materials, *Talanta*, 2013, 116, 417–426
- Bontempo L., Camin F., Larcher R., Nicolini G., Perini M., Rossmann A., Discrimination of Tyrrhenian and Adriatic Italian olive oils using H, O, and C stable isotope ratios, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2008, 23, 1043–1048
- Boyacioglu H., Boyacioglu H., Heavy metal fingerprinting in surface water using chemometrics, *Kuwait Journal of Science Engineering*, 2011, 38, 125–139
- Camin F., Perini M., Bontempo L., Fabroni S., Faedi W., Magnani S., Baruzzi G., Bonoli M., Tabilio M. R., Musmeci S., Rossmann A., Kelly S. D., Rapisarda P., Potential isotopic and chemical markers for characterizing organic fruits, *Food Chemistry*, 2011, 125, 1072-1082
- Cobelo-García A., Filella M., Croot P., Frazzoli C., Du Laing G., Ospina-Alvarez N., Rauch S., Salaun P., Schäfer J., Zimmermann S., COST action TD1407: network on technology-critical elements (NOTICE) - from environmental processes to human health threats, *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22, 15188-15194.
- Gundersen V., Bechmann I. E., Behrens A., Strurup S., Comparative investigation of concentrations of major and trace elements in organic and conventional Danish Agricultural crops. 1. Onions (*Allium cepa* Hysam) and Peas (*Pisum sativum* Ping Pong), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48, 6094 – 6102
- Kelly S. D., Bateman A. S., Comparison of mineral concentration in commercially grown organic and conventional crops – Tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) and lettuces (*Lactuca sativa*), *Food Chemistry*, 2010, 119, 738-745
- Levei E., Ponta M., Senila M., Miclean M., Frentiu T., Assessment of contamination and origin of metals in mining affected river sediments: a case study of the Aries River catchment, Romania, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 2014, 79, 1019-1036

- Liu C. W., Lin K. H., Kuo Y. M., Application of factor analysis in the assessment of groundwater quality in a Blackfoot disease area in Taiwan, *Science of the Total Environment*, 2003, 313, 77-89
- Longobardi F., Casiello G., Cortese M., Perini M., Camin F., Catucci L., Agostiano A., Discrimination of geographical origin of lentils (*Lens culinaris* Medik.) using isotope ratio mass spectrometry combined with chemometrics, *Food Chemistry*, 2015, 188, 343-349
- Magdas D. A., Puscas R., Stable isotopes determination in some Romanian fruit juices, *Isotopes in Environmental and Health Studies*, 2011, 47(3), 372-378
- Marklund A., Anderson B., Haglund P., Organophosphorus flame retardants and plasticisers in Swedish sewage treatment plant, *Environmental Science and Technology*, 2005, 39, 7423-7429
- Mihailović A., Vasić M. V., Ninkov J., Erić S., Ralević N., Nemeš T., Antić A., Multivariate analysis of the content of metals in urban snow near traffic lanes in Novi Sad, Serbia, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 2014, 79, 265–276
- Mondelaers, K., Verbeke W., van Huylenbroeck G., Importance of health and environment as quality traits in the buying decision of organic products, *British Food Journal*, 2009, 111, 120-1139
- Nookabkaew S., Rangkadilok N., Prachoom, Satayacivad J., Concentrations of Trace elements in organic fertilizers and animal manures and feeds and cadmium contamination in herbal tea (*Gynostemma pentaphyllum* Makino), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(16), 3119-3126
- Pang X., Li D., Peng A., Application of rare-earth Elements in the Agriculture of China and its Environmental Behavior in Soil, *Journal of Soils and Sediments*, 2001, 1(2), 124-129
- Schmidt H. L., Roßmann A., Voerkelius S., Schnitzler W. H., Georgi M., Graßmann J., Zimmermann G., Winkler R., Isotope characteristics of vegetables and wheat from conventional and organic production, *Isotopes in Environmental and Health Studies*, 2005, 41(3,) 223-228
- Simeonov V., Massart D. L., Andreev G., Tsakovski S., Assessment of metal pollution based on multivariate statistical modeling of “hot spot” sediments from the Black Sea. *Chemosphere*, 2000, 41, 1411–1417
- Yang P., Yang M., Mao R., Shao H., Multivariate-statistical assessment of heavy metals for agricultural soils in northern China, *The Scientific World Journal*, 2014, 2014, Article ID 517020, 1-7