

Raport științific sintetic 2011-2014

Introducere

Detecția urmelor de etilenă în respirația umană s-a realizat prin metoda spectroscopiei fotoacustice cu laser. Această tehnică este suficient de sensibilă pentru monitorizarea directă a etilenei din aerul exalat.

Principiul de detecție fotocustică, în gaze moleculare, poate fi împărțit în următoarele etape: modulația radiației laser, cu lungimea de undă suprapusă peste o linie de absorbție a moleculei țintă; excitarea moleculelor țintă prin absorbția radiației incidente, care este stocată ca energie de vibrație- rotație; dezactivarea moleculelor excitate prin ciocniri, prin care energia radiației absorbite este transformată în energie termică, manifestată printr-o încălzire tranzitorie locală; extinderea și contracția gazului într-un volum închis, dă naștere la variații de presiune (unde acustice); monitorizarea undelor acustice rezultate, cu un microfon.

Aparatura experimentală este bazată pe un laser cu CO₂ cu următoarele caracteristici: emite în domeniul spectral IR, este stabilizat în curent, puterea maximă 6 W.

Laserul cu CO₂ este acordat pe linia de emisie 10P(14) la 10,532 μm unde apare cea mai puternică absorbție a etilenei. Chopper-ul lucrează la frecvența de 564 Hz modulând radiația continuă provenită de la sursa laser. Pulsurile laser generate sunt focalizate de o lentilă în interiorul tubului rezonator al celulei fotoacustice.

Celula este echipată cu patru microfoane sensibile (model EK 3033, Knowles Electronics) cu sensibilitatea de 20 mV/Pa fiecare, fixate într-un cilindru de teflon. Microfoanele sunt conectate în tubul rezonator prin intermediul unor canale, care împreună cu volumele în care sunt plasate microfoanele, reprezintă un rezonator Helmholtz.

Semnalul electric generat de microfoane este trimis spre un amplificator lock-in sincronizat cu chopper-ul. Semnalul fotoacustic înregistrat de microfoane este proporțional cu concentrația de etilenă.

Amplificatoarele lock-in sunt folosite pentru detecția și măsurarea semnalelor acustice foarte mici – de ordinul nV. Măsurări precise pot fi făcute atunci când se impune extragerea de sub zgomot a unui semnal de amplitudini foarte mici.

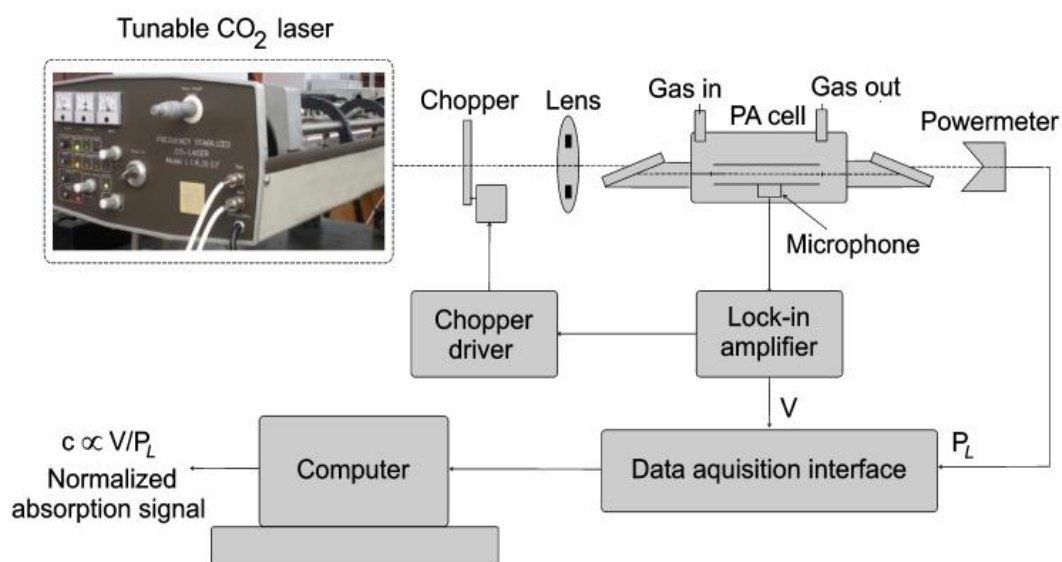


Fig.1 Schema generală a instalației de spectroscopie fotoacustică

Pentru înregistrarea și prelucrarea datelor obținute în montajul experimental fotoacustic, semnalele de la ieșirile amplificatorului lock-in și radiometrului sunt achiziționate, în timp real, cu ajutorul unei interfețe specializate (placa de achiziție AD – DA tip KPCI 3102, produsă de firma Keithley), controlată de un program dezvoltat sub software-ul Test Point specific, ce deservește placa de achiziție.

Programul este conceput să ruleze, fără limite de timp, pe toată durata efectuării măsurătorilor fotoacustice, acesta asigurând în interfața grafică configurabilă de utilizator atât reprezentarea funcție de timp a concentrației gazului și a puterii laser, cât și medierea acestor parametri din lotul de eșantioane achiziționate (300-1000 de achiziții periodice).

De exemplu, în cazul etilenei, se vor utiliza pentru determinarea concentrației, linia 10P(14), caracterizată de un coeficient de absorbție al etilenei de $30,4 \text{ atm}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Eșantioanele de aer exalat de la pacienții testați au fost colectate în pungi aluminizate cu volumul de 750 ml prevăzute cu o supapă care etanșează punga după umplerea ei și cu un robinet care permite conectarea pungii la sistemul de control al gazului. Eșantionul de aer exalat este transferat în celula fotoacustică de măsură și analizat în flux continuu cu aer sintetic, fluxul de aer fiind reglat de un debitmetru electronic de curgere masică (model UR-4100 by Techno Fittings).

Etapa 1: Analiza aerului expirat de la pacienții tratați cu radioterapie anti-tumorală

Scopul acestei etape a fost de a măsura precis concentrația de etilenă din aerul exalat al pacienților bolnavi de cancer și tratați cu radioterapie anti-tumorală. Această monitorizare permite determinarea influenței radiațiilor X în declanșarea stresului oxidativ asupra pacienților iradiați.

Stresul oxidativ descrie presiunea continuă exercitată de radiațiile ionizante, care prin inițierea unor reacții de oxidare, agrează membranele și organele celulare. În urma stresului oxidativ are loc o deteriorare a pereților celulari, cu o perturbare a metabolismului tisular, a potențialului de membrană și a activității enzimatice. De asemenea, s-a demonstrat că stresul oxidativ poate determina mutații genetice și degradări ale substanțelor cu viață lungă (colagen, elastină). Astfel, ca o consecință a tuturor acestor efecte, în timp se pot manifesta fenomenele de uzură și de degenerare, cu apariția unor tulburări grave.

Radicalii liberi sunt cei mai cunoscuți compuși care întrețin stresul oxidativ. Organismul nostru produce radicali liberi în mod natural (radicali liberi endogeni), atunci când respirăm, digerăm alimente, neutralizăm băuturile alcoolice și medicamentele sau când celulele transformă grăsimile și carbohidrații în energie. Pe lângă substanțele endogene responsabile cu declanșarea și întreținerea stresului oxidativ, organismul este asaltat în mod continuu de compuși exogeni (care provin din mediul extern). Substanțele exogene care exercită o acțiune agresivă asupra membranelor și organelor celulare, inițiind sau întreținând stresul oxidativ, provin din: gaze și gudroane, substanțe străine sau sintetice din alimente sau medicamente, toxine, metale grele, radiații (ionizante, UV) etc.

Stresul oxidativ nu este o afecțiune, un simptom sau un sindrom, ci este un proces biochimic și fiziologic, la care, ca și în cazul stresului psihologic, răspunsul este adesea inadecvat. Dacă nu ar exista stres oxidativ endogen, activitatea musculară și metabolismul energetic s-ar diminua până la dispariție, ceea ce nu este compatibil cu viața (sinteza de ATP ar fi stopată). Dar pe lângă stresul oxidativ generat și întreținut de organismul nostru, suntem asaltați în continuu, în condițiile vieții moderne, de numeroși radicali liberi care ajung în corp din mediu extern. În aceste condiții, mecanismele interne antioxidante sunt adesea depășite, producându-se în timp perturbări grave.

Etilena apare în aerul expirat, în urma stresului oxidativ. Este, de fapt, o

consecință a stresului oxidativ la nivel celular din cauza radicalilor liberi formați în exces.

Pereții membranari fini ai vaselor de sânge din plămâni (cu o grosime de aproximativ 0,5-0,6 μm .) realizează schimbul de gaze, astfel încât, este destul de ușor pentru unele gaze (cum ar fi etilena), care sunt transportate de sânge la plămâni, să fie eliminate odată cu aerul expirat. Principiul testului de respirație se reduce la următoarele etape: producerea de molecule marker în celule și organe, difuzia în țesuturi, intrarea în fluxul hematiilor, transportul către plămâni, eliberarea în aerul expirat, colectarea aerului și detecția markerului în aerul exalat. În consecință, producerea de etilenă poate furniza indicații asupra stării de sănătate a corpului uman. Tehnica spectroscopiei fotoacustice cu laser asigură o metodă neinvazivă pentru monitorizarea *in vivo* a funcționării celulelor umane și este deosebit de utilă pentru diagnosticarea medicală.

Radiațiile ionizante distrug structurile cromozomice responsabile de diviziunea celulară, antrenând moartea celulelor canceroase. Celulele sănătoase sunt atacate și ele, dar au o capacitate de restaurare mai mare.

Pentru a demonstra această afirmație am analizat etilena din aerul expirat al pacienților cu cancer de la Spitalul Clinic Coltea (cancer mamar, cancer col uterin cu metastaze osoase, cancer ovarian). Probele de aer exalat au fost luate înainte și după ce pacienții au făcut radioterapie externă (radiații X) cu administrarea unei doze de 2-8 Gy/zi în funcție de cancerul tratat. După ce probele de aer exalat au fost colectate în pungi aluminizate, aerul este transferat în celula fotoacustică de măsură și analizat.

Analiza concentrațiilor de etilenă din pungi se face după ce celula fotoacustică a fost vidată și curățată cu flux de N_2 la presiune atmosferică timp de 10-20 minute: $P_{\text{mas}} = 2 \text{ W}$; $S = 0,037 \text{ mV}$.

Fig. 2 prezintă concentrația de etilenă pentru un subiect sănătos și trei pacienți cu cancer mamar tratați prin raze X, cu o doză de 8 Gy. Nivelul de etilenă pentru primul pacient înainte și după terapia cu raze X arată o creștere de la $\sim 0,0018 \text{ ppm}$ (părți per milion) la $\sim 0,023 \text{ ppm}$, pentru al doilea pacient concentrația de etilenă înainte de terapie a fost de $\sim 0,021 \text{ ppm}$ și după $\sim 0,03 \text{ ppm}$, pentru al treilea pacient concentrația fiind de $\sim 0,017 \text{ ppm}$ înainte de terapie și $0,023 \sim \text{ppm}$ după terapie, în timp ce pentru un subiect sănătos nivelul de etilenă este de $\sim 0,006 \text{ ppm}$.

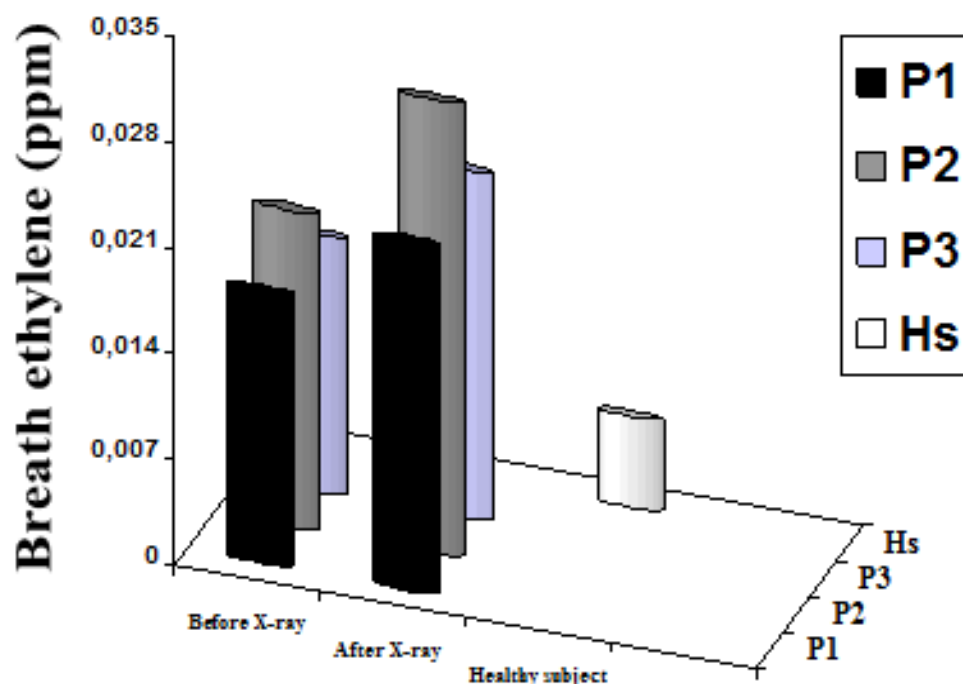


Fig. 2 Concentrația de etilenă pentru un subiect sănătos și trei pacienți tratați prin radioterapie anti-tumorală

După tratamentul anti-tumoral (radiatii X) se observă ca are loc o creștere a concentrației de etilenă în aerul expirat, arătând că au fost inițiate reacții de oxidare asupra membranele și organele celulare iar acest proces poate fi detectat cu ajutorul spectroscopiei fotoacustice în primul minut după iradiere.

Interacția razelor X cu organismul uman modifică statusul stresului oxidativ printr-o creștere a proceselor de peroxidare inițiate de radicalii liberi ai apei care au fost generați de efectul indirect al radiațiilor în țesuturile vii. O parte consistentă a proceselor de peroxidare produce etilenă prin peroxidare lipidică. Frațiunea produsă de etilenă prezentă în aerul exalat ne dezvăluie scara leziunilor tisulare în organismul uman după fiecare sesiune de tratament cu radiații X.

Etapa 2. Analiza amoniacului expirat (etilenei expirate) de la pacienții tratați cu hemodializă și corelarea cu azotul ureic din sânge (stresul oxidativ)

Scopul acestei etape a fost de a măsura atât concentrația de etilenă cât și de amoniac din aerul exalat al pacienților bolnavi de insuficiență renală (IR), tratați prin hemodializă (HD). Cercetarea a fost realizată pe pacienții din cadrul Centrului Medical de Nefrologie și Dializă IHS Fundeni din București. Studiul a inclus un lot

alcătuit din pacienți cu IR, HD iterativ, după un program care a constatat în 3 ședințe pe săptămână a câte 4 ore fiecare. Pacienții au fost instruiți: să nu mănânce înainte cu 12 ore de prelevarea probelor de aer exalat; să curețe suprafața dinților cu periuța și pastă de dinți, după care să se clătească cu apă de gură antiseptică, pentru eliminarea bacteriilor.

Probele de sânge au fost recoltate *à jeun*, înaintea conectării în sesiunea de HD și după sesiunea de HD și investigate în laboratorul de analize medicale MedCenter cu aparatul VITROS51. Lotul investigat a fost alcătuit din bărbați, cu vârste cuprinse în intervalul, 22 - 80 de ani, nefumători, cu o condiție clinică stabilă, în momentul studiului (fără evenimente clinice sau transfuzii de sânge în ultima lună dinaintea studiului) și o vechime minimă în HD de 16 luni. Eficacitatea ședinței de HD a fost evaluată prin calcularea de uree predialitică și uree postdialitică (cu limita normală în intervalul, 19-43 mg/dL).

Caracteristicile sedinței de HD au fost următoarele: calea de abord a fost fistula arteriovenoasă; sedința de HD standard s-a realizat cu aparatul BAXTER; s-au utilizat dializoare de permeabilitate înaltă, cu rata de filtrate *in vivo* mai mare de 8.0 mL/h/mmHg, prevăzute cu membrană de diacetat de celuloză-DICEA 170G (grosime membrană de 15 μm, diametrul interior de 200 μm, suprafața de 1,7 m², sterilizare prin radiații gamma, rata de ultrafiltrare: 12,5 mL/h/mmHg, iar soluția de dializă nu trebuie să depășească 42° C, pentru evitarea lizei hematiilor); pompa de sânge s-a pornit la o viteză mică și a fost ajustată la, cel puțin, 80 mL/min; pentru păstrarea integrității fibrelor, nu a fost depășită valoarea de 500 mmHg pentru presiunea transmembranară; pacientul a fost cântărit atât înainte, cât și după tratamentul prin HD, pentru a verifica ultrafiltrarea.

Etilena este un biomarker al stresului oxidativ, iar amoniacul poate fi un indicator al IR, fiind corelat cu nivelul de azot în ureea din sânge (BUN – blood urea nitrogen – [CO(NH₂)]).

Măsurarea precisă, atât a concentrației de amoniac, cât și a concentrației de etilenă din aerul exalat al pacienților, se face neinvaziv, în timp real și în prezența altor gaze care interferează, inclusiv dioxidul de carbon (> 4 %) și vaporii de apă (> 10 %), pe baza metodelor LPAS.

Probele de aer exalat au fost colectate la intervale de timp regulate: înainte de începerea HD (dar nu înainte de curățarea cavității bucale cu pastă de dinți și apă de

gură antiseptică); în timpul tratamentului de HD (la o oră după începerea tratamentului); imediat după terminarea HD (după ce cavitatea bucală a fost curăţată).

Pentru acest studiu, subiecţii au fost rugaţi să expire în punga aluminizată, la o rată normală a fluxului de expiraţie iar pentru a analiza conţinutul probelor, mai întâi, am vidat celula PA (prin care are loc evacuarea gazelor suplimentare) şi apoi, am spălat şi curăţat sistemul cu azot pur (99,999 %) la presiune atmosferică (aproximativ 10-15 minute).

Probele de aer expirat au fost transferate în celula PA, la un debit controlat de 600 sccm (centimetri cubi standard per minut), iar presiunea totală a gazului, în celula PA, a fost măsurată, aplicându-se factorul de corecţie pentru responsivitate.

Pe durata transferului de aer exalat, din eşantionul de colectare la celula PA, eşantionul de gaz a trecut printr-o capcană umplută cu peleţi de KOH, pentru eliminarea CO₂.

Măsurătorile experimentale pentru concentraţiile de etilenă şi amoniac din respiraţie au fost efectuate în cazul pacienţilor (P1-P13) cu disfuncţie renală şi a subiectului sănătos (P0), iar rezultatele sunt prezentate în fig. 3 şi fig. 4.

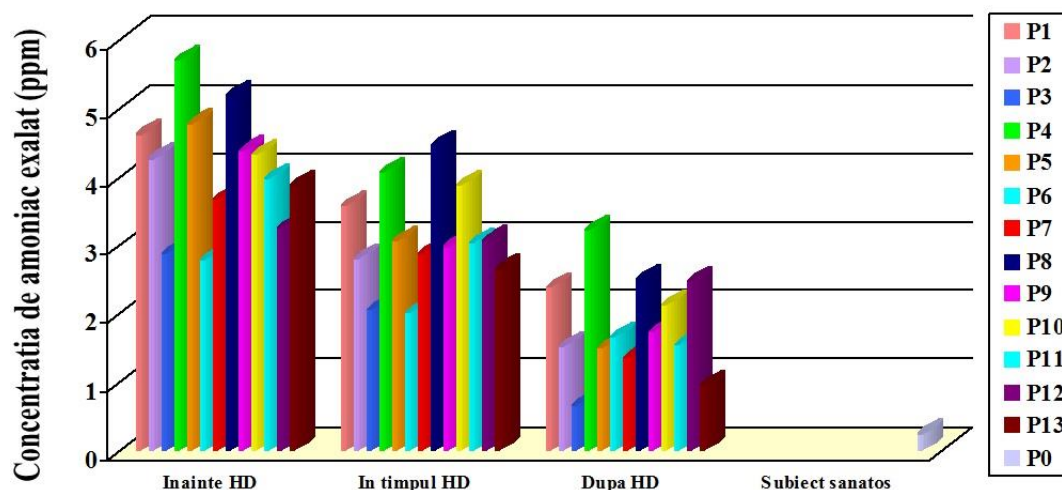


Fig. 3 Concentraţia de amoniac exalat, măsurată pentru 13 pacienţi cu disfuncţie renală (înainte, în timpul şi după tratamentul cu HD) şi pentru un subiect sănătos

Valorile de control P0 sunt: 0,006 ppm etilenă şi 0,25 ppm amoniac. Toate măsurătorile au fost făcute pentru linia 10P (14) a laserului cu CO₂ (10,53 µm), unde coeficientul de absorbţie al etilenei are valoarea cea mai mare (30,4 cm⁻¹atm⁻¹), şi pentru linia 9R (30) a laserului cu CO₂ (9,22 µm), unde coeficientul de absorbţie al amoniacului are valoarea maximă de 57 cm⁻¹atm⁻¹.

În fig. 3 observăm o reducere a concentraţiei de amoniac din aerul exalat, pentru pacienţii sub tratament cu HD, ceea ce înseamnă că amoniacul detectat în respiraţia

umană, folosind sistemul LPAS, poate fi folosit în determinarea duratei exacte de terminare a HD.

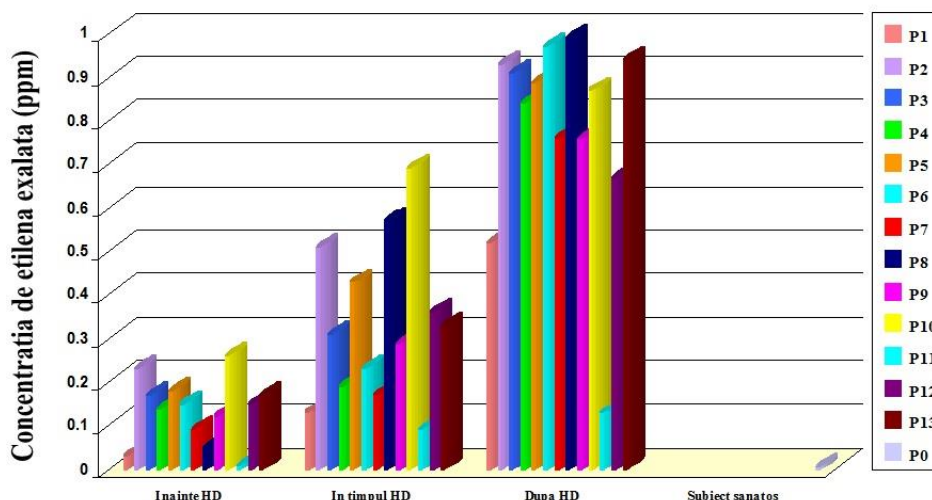


Fig. 4 Concentrația de etilenă exalată, măsurată pentru 13 pacienți cu disfuncție renală (înainte, în timpul și după tratamentul cu HD) și pentru un subiect sănătos

În fig. 4, se observă că, imediat după inițierea HD, concentrația de etilenă crește, dovedind existența unui stres oxidativ crescut, care se exacerbează în timp. Stresul oxidativ reprezintă o manifestare puternică la pacienții cu disfuncție renală, arătând că sistemele antioxidante sunt scăzute la pacienții HD. El apare atunci când există un dezechilibru între nivelul produșilor de peroxidare și mecanismele antioxidante de apărare. În condiții normale, ambele procese se găsesc în echilibru, astfel încât o creștere a nivelului produșilor de oxidare este urmată de o creștere a nivelelor sistemelor antioxidante. La pacienții cu IR și în special, la cei HD, s-a evidențiat (fig. 4) existența unui stres oxidativ crescut. Există o serie de factori care explică exacerbarea stresului oxidativ: formarea, în cantitate crescută, a unor produși de oxidare rezultați din activarea leucocitelor, prezența toxinelor uremice și a unor compuși metalici, biocompatibilitatea membranelor de dializă și a soluțiilor de dializă, invazivitatea metodei etc. După cum se observă fig.4, markerul stresului oxidativ este mai crescut la pacienții HD în comparație cu subiecții clinic sănătoși.

Cea mai importantă problemă este corelația datelor de uree și concentrația de amoniac respectiv, etilenă din respirația pacienților. Figurile 5a și 5b indică o bună corelare între nivelul de amoniac (nivelul de etilenă) și nivelul de uree, pentru pacienții P1-P13.

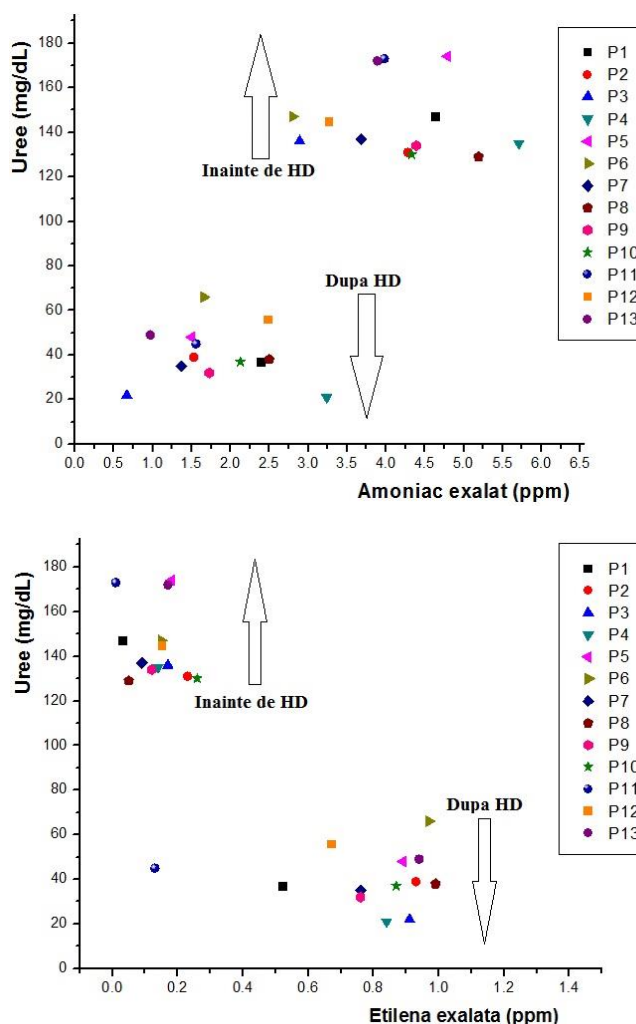


Fig. 5a) Amoniacul exalat versus nivelul de uree; b) Etilena exalată versus nivelul de uree.

Prin stabilirea concentrațiilor amoniacului și a etilenei din aerul expirat este posibilă implementarea unei metode de diagnosticare medicală neinvazivă, cu afișarea rezultatelor absolute, în timp real. Această metodă poate fi extinsă pentru determinări medicale on-line prin reducerea mărimii sistemului de măsură pentru obținerea unei versiuni complexe și miniaturizate a sistemului de LPAS.

Etapa 3. Analiza aerului expirat de la fumătorii activi (folosind țigara tradițională vs. țigara electronică) și fumătorii pasivi

Scopul acestei faze este de a măsura precis și compara concentrația de etilenă din aerul exalat al fumătorilor de țigară electronică cu fumătorii de țigară tradițională (fum vs. emisii de vapori) și fumătorii pasivi, cu ajutorul spectroscopiei fotoacustice cu laser.

Există milioane de fumători în România care se bucură de fumat pe tot parcursul zilei. Cu toate acestea, în ultimii ani, fumatul a fost interzis în mod legal în multe

locuri publice. De atunci, fumătorii au căutat metode alternative pentru fumat cu scopul de a reduce pofta de nicotină. Unii oameni folosesc plasturele cu nicotină, alții mestecă gumă cu nicotină, iar unii oameni folosesc țigările electronice.

Una dintre principalele diferențe între produsele din tutun și țigările electronice este că țigara electronică nu produce fum sau gudron. Când fumezi o țigară tradițională, fumul este expulzat în aer. Acest fum conține peste 4000 de substanțe poluante și diferite toxine. Când fumezi o țigară electronică, expiri vapori care conțin nicotină.

Deși țigările electronice au fost recent comercializate ca o alternativă mai sigură la țigările tradiționale, o nouă analiză a 19 tipuri de e-țigări a arătat că acestea conțin substanțe chimice toxice, de exemplu: dietilen glycol și nitrozamina.

Concentrația de etilenă din aerul expirat, în urma peroxidării lipidice din epiteliul pulmonar (după inhalarea fumului de țigară tradițională și vaporilor de țigară electronică) este studiată în această raportare.

Fumul de țigară conține multe componente toxice care pot induce formarea de etilenă. Oxidul de etilenă este un produs chimic care induce cancer la plămâni .

În scopul de a monitoriza daunele cauzate de fumul inhalat și vaporilor inhalați, sunt efectuate mai multe teste de respirație pentru oferirea informațiilor necesare cu privire la compușii organici volatili în condiții normale și condiții de stres.

Prin stabilirea concentrațiilor de etilenă din aerul expirat este posibilă implementarea unei metode de diagnosticare medicală neinvazivă, cu afișarea rezultatelor absolute, în timp real. Această metodă poate fi extinsă pentru determinări medicale on-line prin reducerea mărimii sistemului de măsură pentru obținerea unei versiuni complexe și miniaturizate a sistemului de LPAS.

Etilena este un biomarker al stresului oxidativ iar măsurarea precisă, a concentrației de etilenă din aerul exalat al subiecților, se face neinvaziv, în timp real și în prezența altor gaze care interferează, inclusiv dioxidul de carbon ($> 4 \%$) și vaporii de apă ($> 10 \%$), pe baza metodelor LPAS.

Probele de respirație au fost colectate la intervale de timp regulate: înainte de începerea inhalarea țigării tradiționale vs țigara electronică și imediat după terminarea inhalării cu țigara tradițională vs. țigara electronică.

Pentru acest studiu, subiecții au fost rugați să expire în punga aluminizată, la o rată normală a fluxului de expirație iar pentru a analiza conținutul probelor, mai întâi,

am vidat celula PA (prin care are loc evacuarea gazelor suplimentare) și apoi, am spălat și curățat sistemul cu azot pur (99,999 %) la presiune atmosferică (aproximativ 10-15 minute).

Măsurătorile experimentale pentru concentrațiile de etilenă din respirația fumătorilor activi au fost efectuate în cazul a patru subiecți iar rezultatele sunt prezentate în fig. 6.

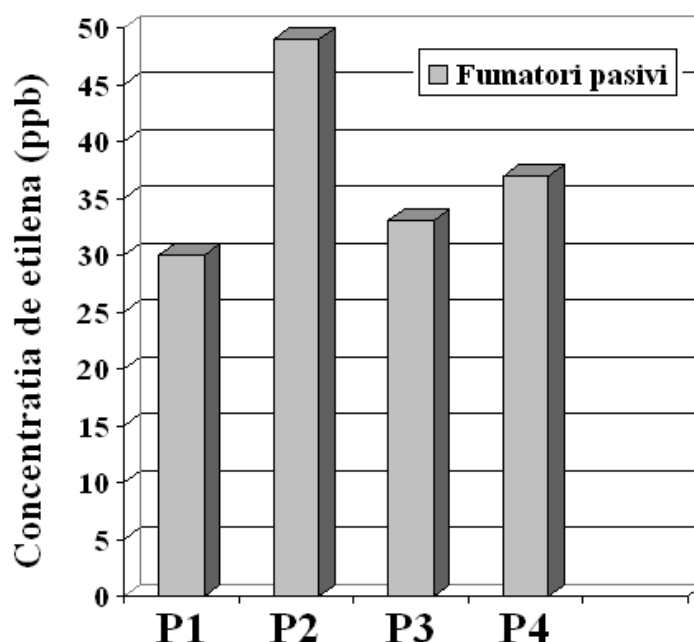


Fig. 6 Concentrația de etilena exalata, măsurată pentru 4 fumatori pasivi.

Probele de aer expirat au fost transferate în celula PA, la un debit controlat de 600 sccm (centimetri cubi standard per minut), iar presiunea totală a gazului, în celula PA, a fost măsurată, aplicându-se factorul de corecție pentru responsivitate.

Pe durata transferului de aer exalat, din eșantionul de colectare la celula PA, eșantionul de gaz a trecut printr-o capcană umplută cu peleți de KOH, pentru eliminarea CO₂.

Toate măsurătorile au fost făcute pentru linia 10P (14) a laserului cu CO₂ (10,53 μm), unde coeficientul de absorbție al etilenei are valoarea cea mai mare (30,4 cm⁻¹atm⁻¹).

Concentrația unui subiect sănătos este cuprinsă între valoarea 1-10 ppb în timp ce pentru cei 4 fumători activi concentrația de etilenă a fost cuprinsă între 30 ppb și ≈ 50 ppb.

Măsurătorile experimentale pentru concentrațiile de etilenă din respirația fumătorilor de țigară tradițională vs. fumătorilor de țigară electronică au fost efectuate în cazul a opt subiecți iar rezultatele sunt prezentate în fig. 7.

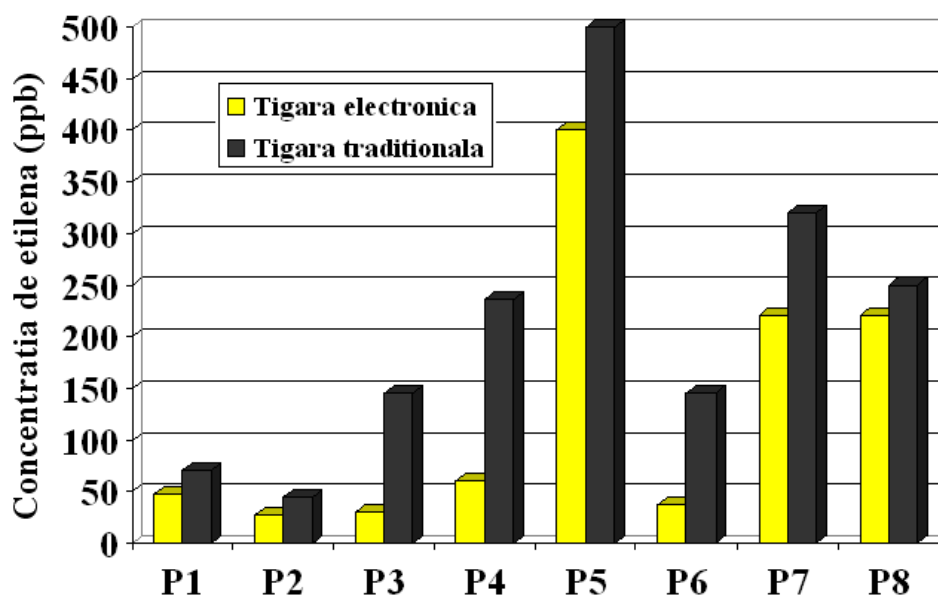


Fig. 7 Concentrația de etilena din respiratia a opt subiecti dupa tigara electronica vs. tigara traditionala.

Se poate observa că, în cazul țigărilor electronice concentrația de etilenă scade (între 20 ppb- 380 ppb), în comparație cu țigara tradițională unde concentrația de etilenă emisă crește (între 50 ppb-500 ppb), dovedind existența unui stres oxidativ crescut (are loc apariția unui dezechilibru între nivelul produșilor de peroxidare și mecanismele antioxidante de apărare). Stresul oxidativ reprezintă o manifestare puternică la subiecții fumători de țigară tradiționala, sistemele antioxidante fiind scăzute.

Etapa 4. Analiza etilenei la fructele si legumele organice vs fructele si legumele nonorganice

În cadrul acestei faze s-a urmărit verificarea calității fructelor/legumelor organice vs. non-organice, prin măsurarea emisiei de etilenă utilizând spectroscopia laser fotoacustică.

Fructele cultivate organic au fost obținute de la fermierii locali (Măgurele-România, în apropiere de laborator) transportate în laborator și analizate imediat după recoltare. Fructele organice au fost obținute fără utilizarea de îngrășăminte chimice, pesticide (insecticide, erbicide, fungicide, acaricide, substanțe dezinfectante, etc.)

aditivi și biostimulatori (antibiotice, coccidiostatice, hormoni, etc.), medicamente, organisme modificate genetic și derivatele lor.

Zona de cultivare organică a fost tratată și menținută doar prin metode biologice, precum: folosirea îngrășămintelor naturale: gunoiul de grajd (este un amestec de dejecții solide și lichide provenite de la animale și în majoritatea cazurilor, de materiale groiere folosite ca așternut cu efecte pozitive asupra solului și a plantelor cultivate); combaterea buruienilor cu ajutorul plivitelui manual, plivitelui cu săpăliga sau prășitul cu sapa; rotația culturilor; compostare (este produsul final al biodegradării controlate/compostării a deșeurilor organice de natură vegetală sau animală, este un produs stabil, igienizat și bogat în humus, ce poate fi utilizat ca îngrășământ, amendament sau suport de cultură cu un aport regulat de compost); controlul insectelor folosind doar metode naturale (păsări sau capcane).

Fructele și legumele non-organice au fost obținute de la producători internaționali (supermarket-uri), importate din țările europene. Fructele și legumele importate sunt tratate cu substanțe cu rol în mărirea perioadei de valabilitate.

Obiectivul principal propus în fază a fost de a determina dacă fructele și legumele non-organice fac posibilă creșterea stresului oxidativ în interiorul fructului/legumei.

Pentru buna desfășurare a măsurătorilor și pentru a creștea sensibilitatii și selectivitatii tehnicii se realizeaza caracterizarea cuvei de prelevare a probelor biologice

- 2 cuve din sticlă transparentă (cu volum de 150 mL și volum de 1800 mL) pentru cercetări pe probele biologice;
- scrubber cu granule de hidroxid de potasiu (KOH) cu rol în reducerea cantității de CO₂ (prezența lui în circuitul de măsură poate introduce efecte nedorite de absorbție la diferite lungimi de undă a radiației laser).

Pe parcursul experimentelor pentru detecția emisiei de etilenă au fost utilizați următorii parametri importanți:

- Linia laser de lucru: 10P(14), deoarece aici avem coeficientul de absorbție maxim pentru etilenă: $\lambda = 10,532 \mu\text{m}$, $\alpha = 30,4 \text{ cm}^{-1}\text{atm}^{-1}$;
- Puterea fasciculului laser pe linia 10P(14) a laserului: 4 W;
- Presiunea în cuvă: 1024 mbar;
- Responsivitatea celulei: 433 cmV/W;
- Aer sintetic: Linde Gaz România, 20% oxigen și 80% azot (impurități: hidrocarburi max 0,1 ppmV, oxizi de azot max 0,1 ppmV);

- Azot : Linde Gaz România , azot 5.0 (puritate 99,999%) și 6.0 (puritate 99,9999%);
- Temperatura de lucru: 23 - 25°C ;
- Volumul total al celor două cuve de sticlă: 150 mL și respectiv 1800 mL;
- Volumul total al celulei fotoacustice: 1000 mL;
- Timpul de analiză a etilenei din probă : ~ 20-30 minute;
- Timpul de pregătire a instalației înainte de începerea măsurătorilor în timp real: ~ 5 minute.

Pentru a analiza conținutul probelor, am vidat mai întâi celula PA (prin care are loc evacuarea gazelor suplimentare) și apoi am spălat și curățat sistemul cu azot pur (99,999%) la presiune atmosferică (aproximativ 10-15 minute).

S-a conectat proba investigată la celula PA printr-un sistem etanș.

Proba de investigat din incinta de sticlă poate fi :

- circulată cu un flux de gaz (de aer sintetic sau de azot) la un debit de 1 L/h;
- circulată cu un flux de gaz (de aer sintetic sau de azot) la presiune atmosferică (1024 mbar) după care gazul rezultat din cuva de sticlă este transferat în celulă și analizat.

- **Evaluarea concentrației de etilenă în condiții aerobe vs. anaerobe la fructe și legume**

- ***Emisia de etilenă în cazul roșiilor cherry organice***

Măsurătorile au fost efectuate pe flori de roșii cherry intacte (cu masa de ≈1,4 g, ≈ 9-10 flori) și fructe (coapte, nepătate, nelovite, cu codițe) cu o masă de aproximativ 33 g (≈ 3-4 buc./eșantion) cu un diametru/fruct de aproximativ 28 mm. Florile și fructele proaspete, organice, s-au introdus în cuva de sticlă cu volumul de 150 cm³, conectată la celulă și apoi au fost analizate. După cum se poate observa în fig. 8, roșiile cherry au fost investigate în 3 etape de dezvoltare: stadiul de floare (1,4 g), stadiul de fruct verde (33 g) și stadiul de fruct roșu, copt (33 g).

Figura 8 prezintă emisia etilenei (timp de 20 minute) pentru cele 3 stadii de dezvoltare ale roșiilor cherry organice în flux de aer sintetic și în flux de azot, la presiune atmosferică, folosind tehnica de spectroscopie laser fotoacustică.

Emisia de etilenă la fructele circulate de un flux de aer sintetic, la presiune atmosferică, în cazul florilor a fost de 97 ppb, pentru fructele verzi s-a înregistrat

concentrația de 33 ppb, în timp ce pentru fructele roșii-coapte concentrația de etilenă a fost de 46 ppb.

În acest caz, se observă că există o emisie de etilenă mai mare, în cazul roșiilor cherry în stadiul de floare.

Cand se înlocuiește fluxul de aer sintetic cu fluxul de azot și se analizează evoluția etilenei se observă că, în cazul florilor etilena scade la 69 ppb, pentru fructele verzi crește la 76 ppb, în timp ce pentru fructele roșii, a crescut de asemenea, la aproximativ 80 ppb.

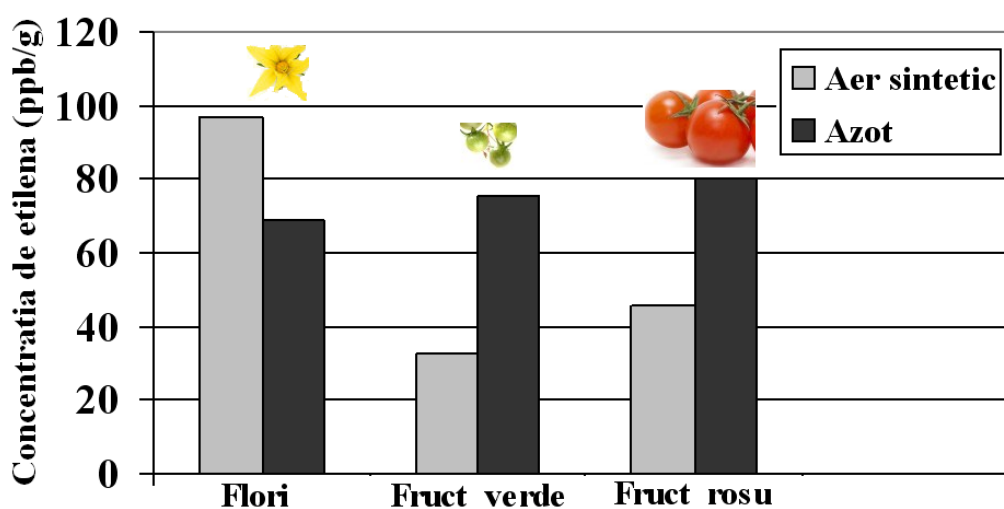


Fig. 8. Producția de etilenă înregistrată în cazul roșiilor cherry în cele 3 etape de dezvoltare în condiții aerobe vs. anaerobe.

Condițiile anaerobe cresc producția de etilenă la fructele verzi și cele coapte, în timp ce în etapa de floare are loc inhibarea emisiei de etilenă. Alternanța condițiilor fluxului de aer sintetic cu fluxul de azot influențează foarte mult emisia de etilenă în cazul roșiilor cherry, în toate cele 3 stadii de dezvoltare.

Pentru biosinteza etilenei este necesară prezența oxigenului, iar înlocuirea fluxului de aer cu cel de azot poate determina apariția unei vătămări biochimice care, în final, poate conduce la creșterea producției de etilenă.

Inhibarea etilenei poate fi făcută prin inhibarea conversiei ASM în ACC, prin consumarea proteinei ACC sintetaza (datorită inhibării sintezei) sau prin inactivarea sintezei ACC.

O altă posibilitate ar fi reducerea eficienței conversiei ACC în etilenă. Acest fapt conduce la inhibarea producției de etilenă, atunci când conținutul de ACC este scăzut.

➤ **Emisia de etilenă în cazul căpșunelor organice**

Căpșunele au fost sortate și evaluate în patru etape de dezvoltare și exprimate în grame: flori deschise (0,8 g), fructe verzi (33 g), fructe roz (33 g) și fructe roșii/coapte (33 g). Căpșunele organice au fost obținute de la fermierii locali și transportate în laborator pentru analiza etilenei, folosind tehnica LPAS.

Toate fructele au fost depozitate la 4 °C, pentru utilizare ulterioară.

Înainte de a începe analiza de etilenă, toate fructele au fost aclimatizate, timp de peste 1 h, la temperatura camerei și apoi, introduse în cuva de sticlă pentru determinări.

Probele de fructe au fost “circulate” cu flux de aer sintetic la presiunea atmosferică, iar gazul rezultat a fost transferat în celulă și analizat.

Figura 9 prezintă producția de etilenă măsurată pe flori deschise de căpșune, căpșune verzi, căpșune roz și căpșune roșii.

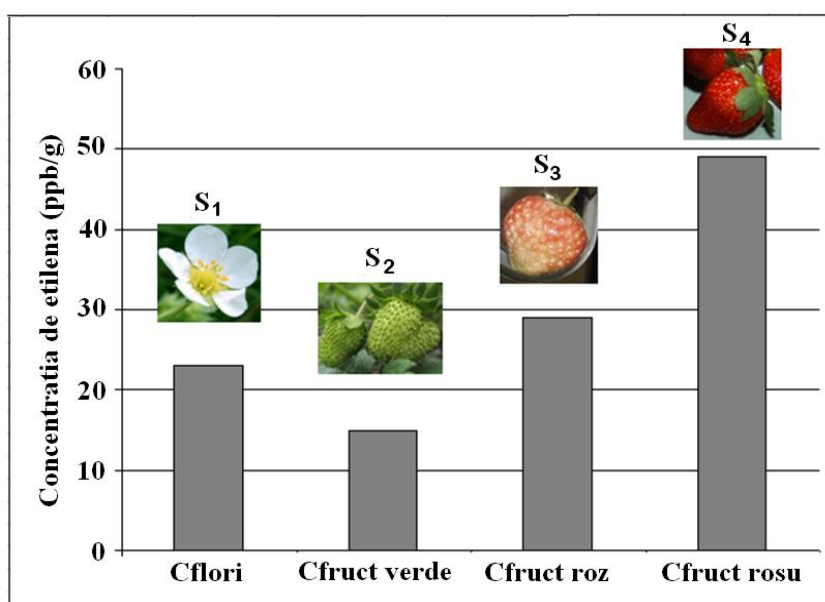


Fig. 9 Emisia etilenei pentru diferite stadii de maturare la căpșunele organice în condiții aerobe.

Din fig. 9, se poate observa că, emisia de etilenă se găsește în concentrație ridicată în stadiul de floare deschisă și în stadiul de fruct roșu, în timp ce în faza de fruct verde și roz producția de etilenă este relativ scăzută. În urma acestor determinări, am găsit cele mai mari rate ale producției de etilenă la căpșunele coapte.

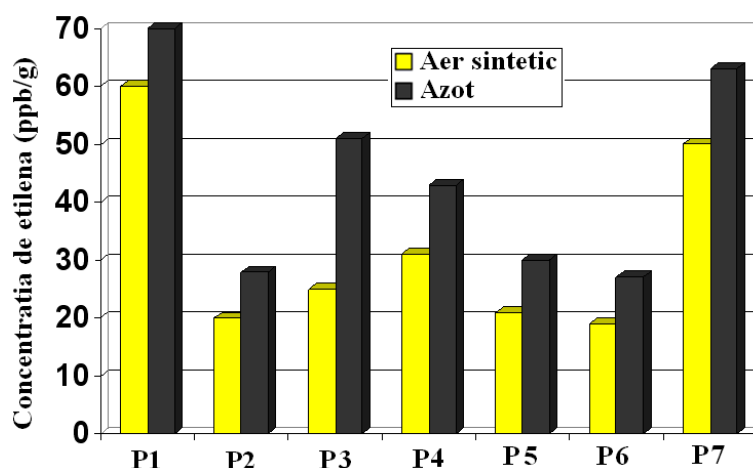


Fig. 10 Concentrația de etilenă produsă la căpșunele organice coapte, în flux de aer sintetic și în flux de azot.

Literatura de specialitate arată, prin intermediul a numeroase cercetări, că fructele cresc ca non-climacterice (nu produc etilenă, în procesul de coacere), dar rezultatele noastre intră în contradicție cu această percepție, deoarece etilena a fost detectată în concentrații mari, atât în stadiul de floare, cât și în stadiul de fruct roșu-copt. Rezultatele prezente dovedesc că aceste fructe sunt climacterice, ceea ce înseamnă că, odată ce producerea etilenei s-a inițiat, procesul nu mai poate fi stopat.

În fig. 10 au fost analizate șapte probe de fructe organice coapte (între 31 g și 33 g) în flux de aer sintetic (aerob) și de azot (anaerob) la presiune atmosferică.

Se poate observa că, în flux de azot, crește producția de etilenă la toate cele șapte probe cu căpșunele organice roșii. Ca și în cazul roșiilor cherry, alternanța condițiilor aerobe cu cele anaerobe influențează foarte mult emisia de etilenă și în cazul căpșunelor organice (în stadiul de fruct). Când s-a aplicat fluxul de azot, la căpșunele organice, nivelul de etilenă a început să crească cu mai mult de 20 %.

➤ ***Emisia de etilenă în cazul a patru stadii de dezvoltare la bananele non-organice***

În general, bananele au șapte grade de maturare: în primul stadiu au o culoare verde închis (1), în al doilea stadiu bananele capătă o nuanță verde deschis (2), în al treilea stadiu coaja fructului este mai mult verde decât galbenă (3), în al patrulea stadiu fructul este mai mult galben decât verde (4), în al cincilea stadiu doar vârful și codița bananei mai sunt verzi (5), în al șaselea stadiu banana este complet galbenă (6), iar în al șaptelea stadiu, pe fructul galben încep să apară mici pete maronii (7).

Bananele din acest studiu au fost selectate și evaluate doar în patru stadii de dezvoltare: banane de culoarea verde închis-stadiul 1 (între 150 g și 160 g), banane de culoarea verde deschis-stadiul 2 (între 150 g și 170 g), banane complet galbene-stadiul 6 (între 100 g și 125 g), și banane cu pete maronii-stadiul 7 (115 g - 130 g).

Producția de etilenă (fig. 4) în cazul bananelor din stadiul 1 a fost de 120 ppb, pentru bananele din stadiul 2 s-a înregistrat concentrația de 330 ppb, pentru bananele din stadiul 6, nivelul de etilenă a fost de 160 ppb, în timp ce pentru fructele din stadiul 7, concentrația de etilenă a fost de 200 ppb.

Deoarece bananele sunt fructe climacterice, acestea produc etilenă în procesul de coacere și grăbesc procesele metabolice (precum îndulcirea bananei). La primul grad de maturare verde închis, banana conține foarte mult amidon, având un gust asemănător cu al cartofului, iar concentrația de etilenă este foarte mică, însă ca urmare a unor reacții enzimaticе, declanșate tot de etilenă, amidonul este convertit în zaharuri solubile care dau gustul dulce (stadiul 2 de maturare).

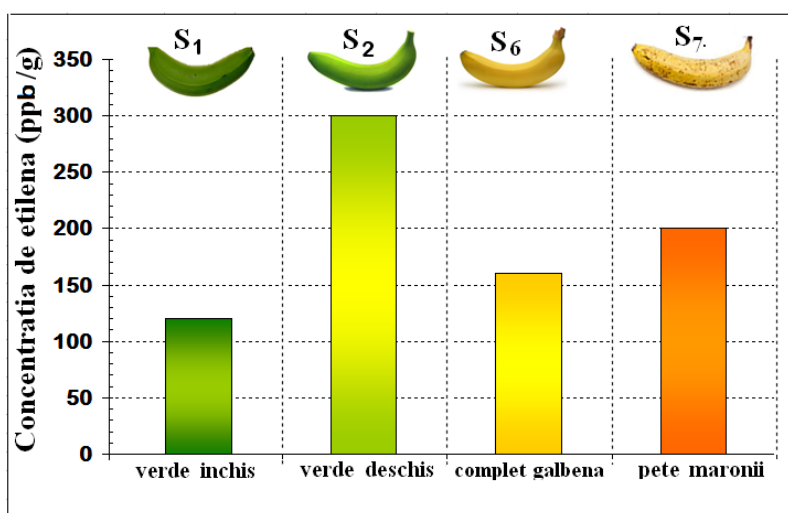


Fig. 11 Producția de etilenă în flux de aer sintetic în cazul a patru stadii de maturare la bananele non-organice.

Bananele importate sunt culese înainte de declanșarea reacțiilor enzimaticе (coacere), iar maturarea acestora se face artificial și controlat în camere speciale de maturare, cu ajutorul unor instalații ce pompează etilena din butelii. Această grăbire a proceselor biologice și biochimice din timpul coacerii artificiale poate denatura caracteristicile fructului prin pierderea aromei specifice și a gustului.

➤ **Emisia de etilenă la zmeura organică**

Pentru a analiza calitatea fructelor de zmeură organică am măsurat patru probe cu fructe mature, cu masa între 24.8 și 28 g, supuse unui flux de aer sintetic și unui flux de azot la presiune atmosferică (fig. 12).

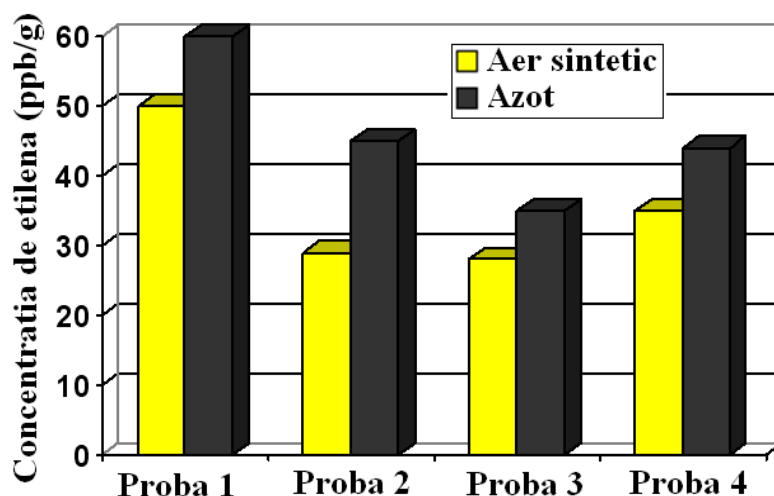


Fig. 12 Concentrația de etilenă evaluată în cazul zmeurei organice în flux de aer sintetic și flux de azot.

Când s-a aplicat fluxul de azot, la zmeura organică, nivelul de etilenă, ca și în cazul anterior (la căpșune), începe să crească cu mai mult de 20%.

➤ **Emisia de etilenă la ciupercile champignon organice**

S-au examinat patru probe cu ciuperci champignon (numite și ciuperci albe) organice (33-35 g) și patru probe cu ciuperci non-organice (33-35 g) în flux de aer sintetic și flux de azot, la presiune atmosferică.

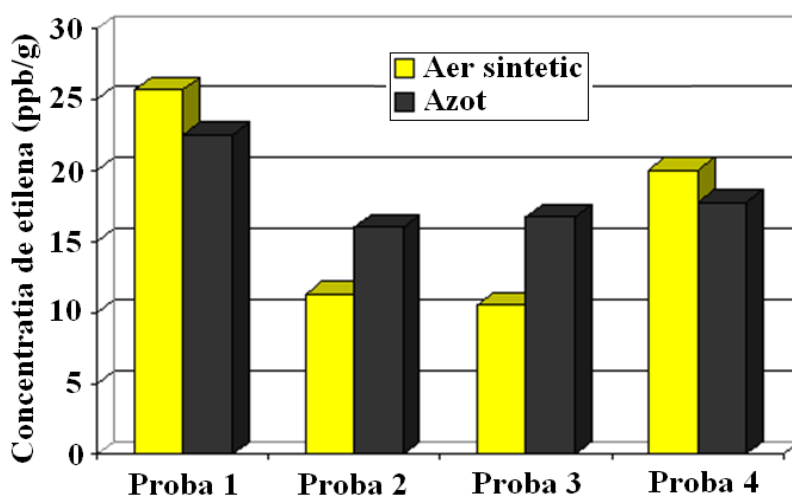


Fig. 13 Emisia de etilenă la ciupercile champignon organice în flux de aer sintetic și azot.

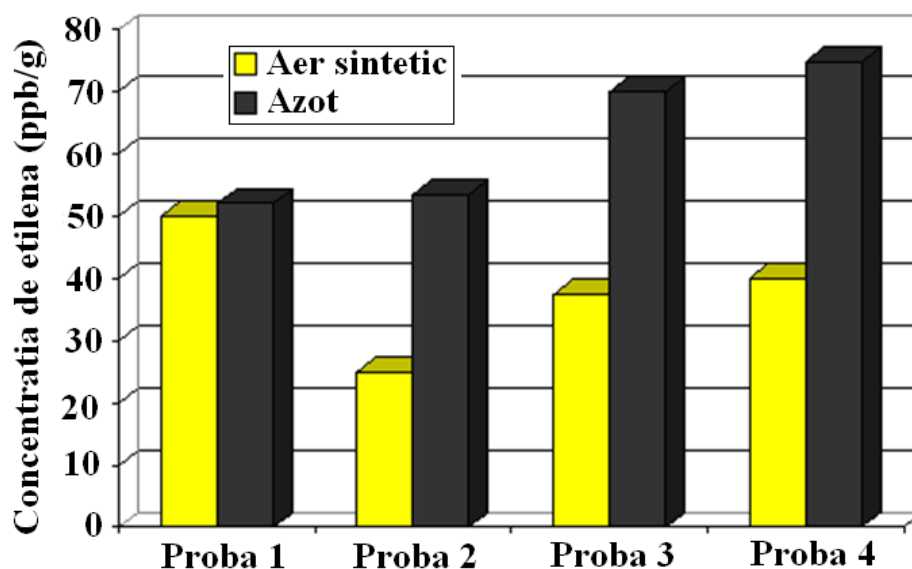


Fig. 14 Emisia de etilena la ciupercile champignon non-organice in flux de aer sintetic și azot.

Rezultatele din figurile 13 și 14 ilustrează faptul că, atunci când am aplicat fluxul de azot la ciupercile champignon organice și non-organice (comparativ cu fluxul de aer sintetic), producția de etilenă este forțată și începe să crească.

➤ ***Emisia de etilenă la cireșele și caisele verzi non-organice***

Cireșele (aproximativ 20 g) și caisele verzi (aproximativ 25 g) analizate au fost acceptate ca fiind organice. Acestea au fost menținute în frigider (4 °C), timp de câteva ore urmând ca, înainte de a începe monitorizarea emisiilor de etilenă, fructele să fie aclimatizate, timp de 2 h, după care au fost introduse în cuva de măsură (volum 150 cm³) conectată la celula fotoacustică.

Fructele din cuva de măsură au fost circulate încontinuu cu un flux de aer sintetic (condiții aerobe) cu un debit de 1 L/h. După aproximativ 30 de minute de la începerea măsurărilor (atunci când producția de etilenă a devenit stabilă) fluxul de aer sintetic a fost redus treptat și înlocuit cu un flux de azot (condiții anaerobe) cu debit de 1 L/h.

Pentru analiza etilenei din cuva de sticlă, s-a evacuat amestecul de gaz precedent de pe tot sistemul de manipulare, inclusiv din celula fotoacustică, conducte etc., iar apoi s-a curățat sistemul cu azot pur, la presiune atmosferică, timp de 10-15 minute, după care gazul din probă a fost transferat în celula PA și analizat la temperatura camerei.

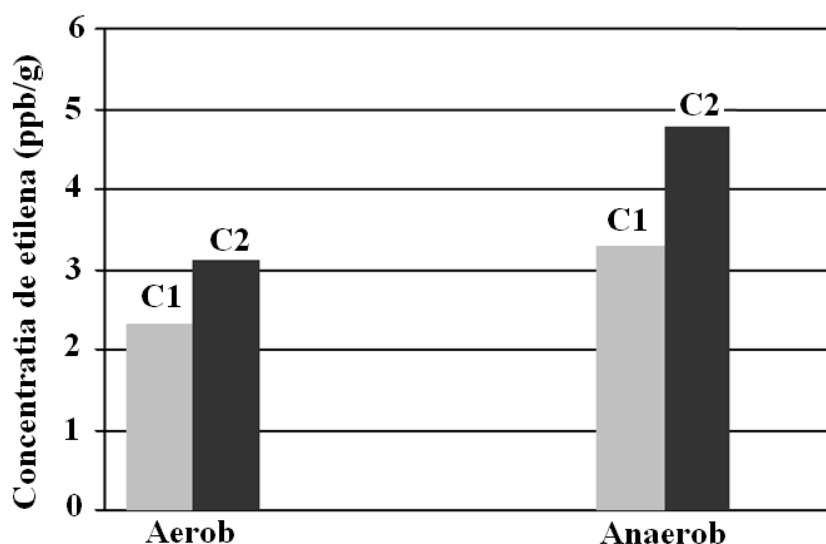


Fig. 15 Producția de etilenă înregistrată în cazul caiselor verzi, în condiții aerobe vs. anaerobe.

Figurile 15 și 16 prezintă emisia de etilenă măsurată experimental pentru caise verzi și respectiv, cireșelor în condiții aerobe vs. anaerobe.

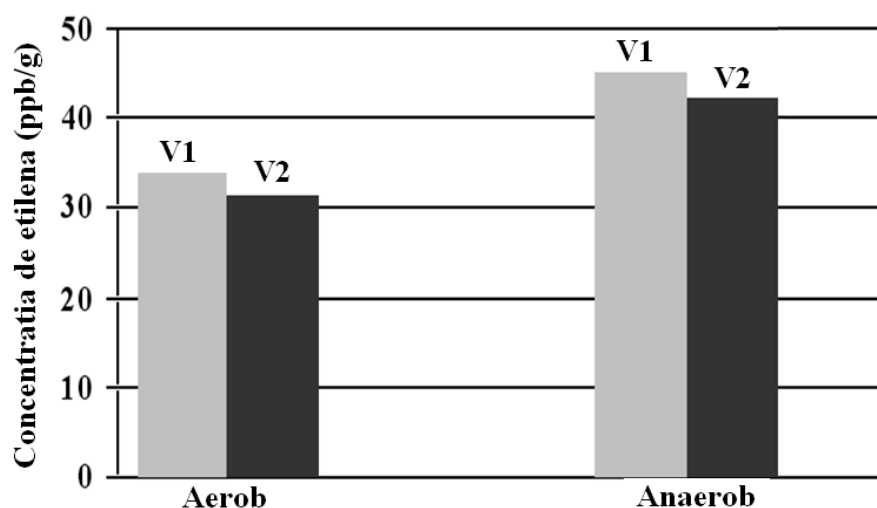


Fig. 16 Producția de etilenă înregistrată în cazul cireșelor, în condiții aerobe vs. anaerobe.

Concentrația de etilenă pentru caisele verzi (C1, C2), înainte de întreruperea fluxului de aer, a fost de aproximativ 2,5 ppb și respectiv, 3 ppb în cazul celor două eșantioane, în timp ce după înlocuirea fluxului de aer sintetic cu fluxul de azot, emisia de etilenă s-a stabilizat la aproximativ 3 ppb și respectiv, 4 ppb. În cazul cireșelor (V1, V2), putem observa că, înainte de întreruperea fluxului de aer sintetic, emisia de etilenă a fost de ~ 35 ppb și respectiv, 30 ppb pentru cele două esantioane, iar după înlocuirea fluxului de aer cu cel de azot, aceasta crește la ~ 38 ppb și respectiv ~ 36 ppb (creștere de 15-20 %).

Pentru biosinteza etilenei este necesară prezența oxigenului, iar înlocuirea fluxului de aer cu cel de azot poate determina apariția unei vătămări biochimice ce poate conduce în final la creșterea producției de etilenă.

➤ **Emisia de etilenă la dovleceii non-organici**

Respirația și biosinteza etilenei reprezintă procese fiziologice de bază, în toate sistemele vegetale, iar aceasta poate fi măsurată ca un indicator al PL, atât la fructe, cât și la legume.

Au fost investigați dovlecei de culoare alb-verzuie (din supermarket), neloviți, tari, cu coaja intactă, fără pete, considerați non-organici (~ 150 g).

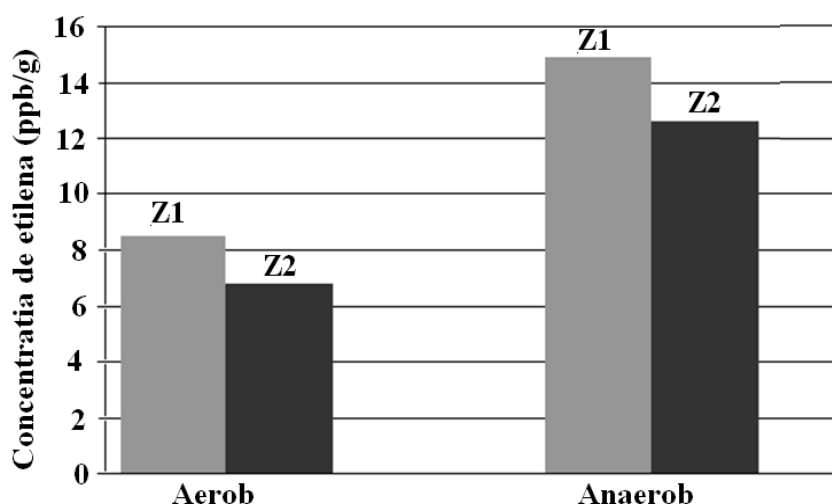


Fig. 17 Producția de etilenă înregistrată în cazul dovleceilor în condiții aerobe vs. anaerobe.

Nivelul de etilenă pentru dovleceii Z1 și Z2 a fost de ~ 8.5 ppb și, respectiv, ~ 7 ppb, înainte de întreruperea fluxului de aer, în timp ce pentru fluxul de azot a fost de ~ 15 ppb și respectiv ~ 12.3 ppb (fig. 17).

După cum se poate observa, emisia de etilenă are același comportament de creștere la introducerea fluxului de azot ca și în cazul fructelor supuse condițiilor anaerobe.

- **Evaluarea concentrației de etilenă la fructe/legume organice vs. non-organice**

➤ **Emisia de etilenă în cazul căpșunelor organice vs. non-organice**

În figura 18 am comparat concentrația de etilenă emisă de căpșunele organice (7 probe) cu etilena emisă de căpșunele non-organice (7 probe).

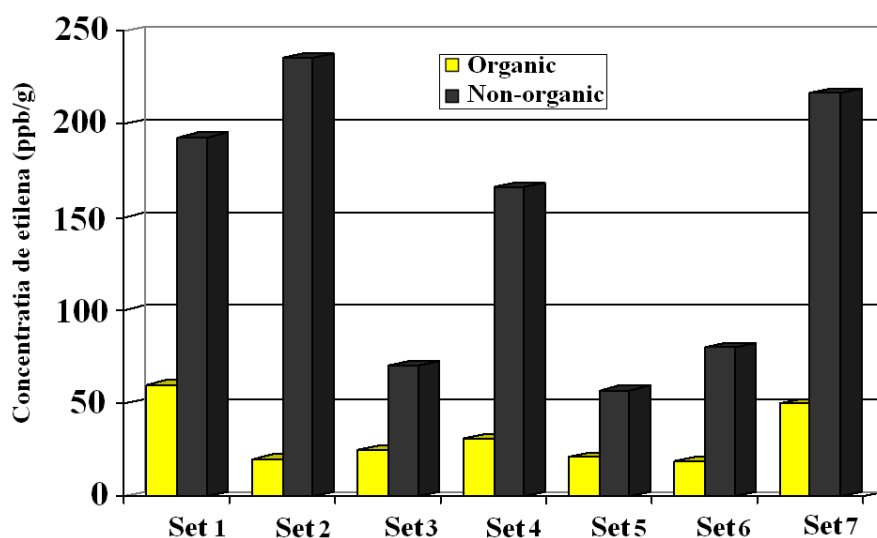


Fig. 18 Producția de etilenă emisă de căpșunile organice vs. non-organice, în condiții aerobe.

Căpșunile au fost exprimate în grame: fructe roșii/coapte (≈ 33 g). Căpșunile organice au fost obținute de la fermierii locali și transportate în laborator pentru analiza etilenei, folosind tehnica LPAS.

Probele au fost circulat cu flux de aer sintetic la presiune atmosferică, iar gazul rezultat a fost transferat în celulă și analizat.

Ca o primă observație a evaluărilor noastre asupra eșantioanelor de fructe organice vs. non-organice (fig. 18), am ajuns la concluzia că, pentru toate probele de căpșune controlate cu metode naturale (organice), nivelul de etilenă este mai mic în comparație cu nivelul de etilenă provenit din probele de căpșune de la supermarket-uri (considerate non-organice), în acest ultim caz concentrația de etilenă crescând cu mai mult de 300 %.

Se poate afirma că etilena din respirația căpșunelor non-organice are aceeași comportare ca etilena emisă în condiții anaerobe (pentru căpșunile organice), datorită substanțelor cu rol în mărirea perioadei de valabilitate (acestea pot fi: pesticide, aditivi, biostimulatori, iradiere, hormoni de creștere, de culoare etc.) care pot produce modificări majore în metabolismul fructelor depozitate.

Potrivit organizației non-profit, Environmental Working Group, care analizează rezultatele testelor cu pesticide în SUA, căpșunile au cele mai ridicate niveluri de pesticide, în medie, atunci când sunt cultivate, în mod convențional, și de aceea, se recomandă cumpărarea căpșunelor organice.

➤ **Emisia de etilenă în cazul zmeurei organice vs. non-organice**

Pentru a determina calitatea fructelor de zmeură organică, comparativ cu fructele de zmeură non-organică s-au măsurat opt probe cu fructe mature (patru cu fructe organice și patru cu fructe non-organice), cu masă între 25 și 28 de grame, care au fost supuse unui flux de aer sintetic, la presiune atmosferică (fig. 19).

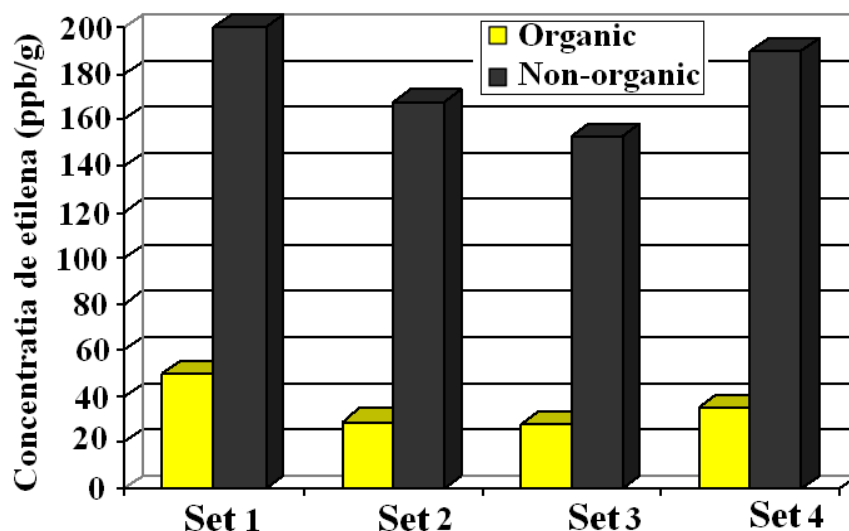


Fig. 19. Producția de etilenă în aer sintetic evaluată în cazul zmeurei organice vs. non-organice.

În fig. 19, cum era de așteptat din determinările anterioare, se observă că pentru toate eșantioanele, concentrația de etilenă crește cu mai mult de 400 % în cazul zmeurei non-organice (supusă fluxului de aer sintetic), comparativ cu zmeura organică (supusă fluxului de aer sintetic).

➤ **Emisia de etilenă în cazul roșiilor cherry organice vs. non-organice**

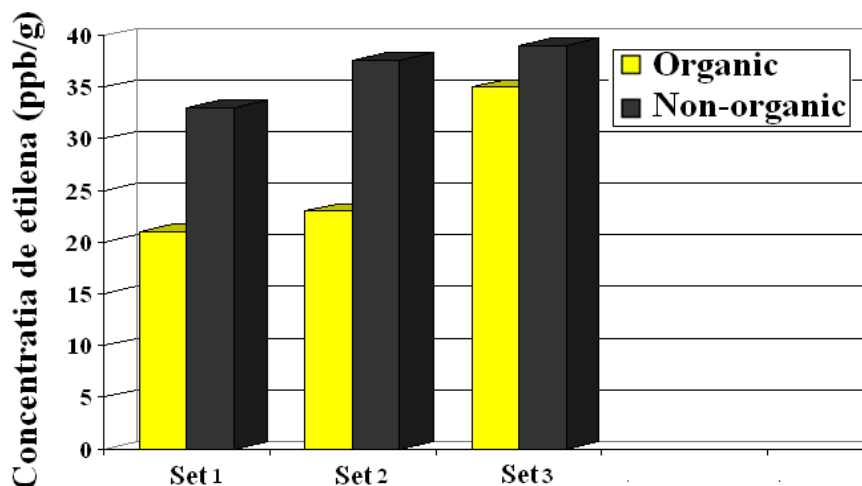


Fig. 20 Emisia de etilenă în aer sintetic la roșiile cherry organice vs. non-organice.

Măsurătorile au fost efectuate pe roșii cherry intacte cu o masă de aproximativ 33 g ($\approx 3-4$ buc./eșantion) cu un diametru/fruct de aproximativ 28 mm.

Fructele proaspete, organice s-au introdus în cuva de sticlă cu volumul de 150 cm³, conectată la celulă și apoi, au fost analizate.

După cum se poate observa în figura 20, pentru toate eșantioanele, concentrația de etilenă crește cu peste 15 % (60 % pentru setul 1, 68 % pentru setul 2 și 15 % pentru setul 3) în cazul fructelor de roșii cherry non-organice (supuse fluxului de aer sintetic), comparativ cu roșiile cherry organice (supuse fluxului de aer sintetic).

➤ **Emisia de etilenă în cazul ciupercilor champignon organice vs. non-organice**

Au fost examinate patru eșantioane de ciuperci champignon (numite și ciuperci albe) organice (33-35 g) și patru probe de ciuperci non-organice (33-35 g) în flux de aer sintetic, la presiune atmosferică.

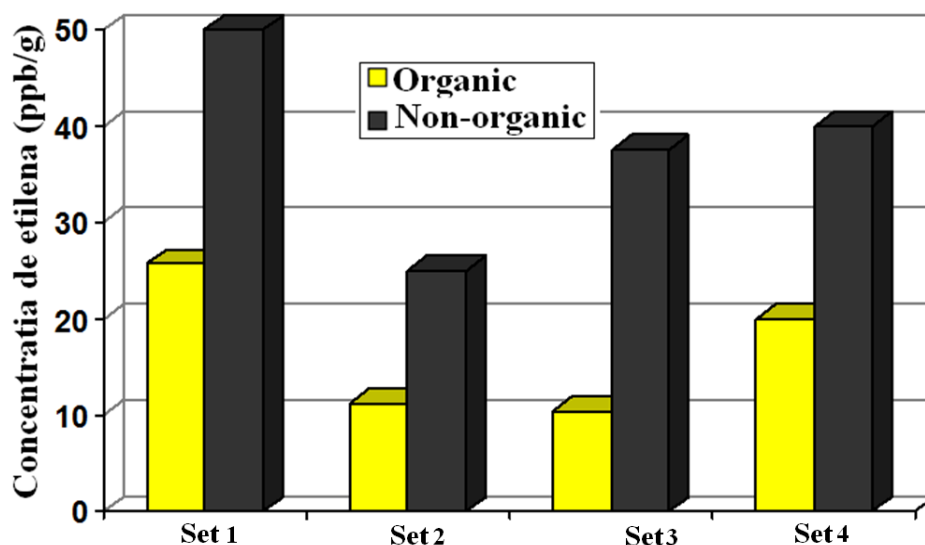


Fig. 21 Emisia de etilenă în aer sintetic la ciupercile champignon organice vs. non-organice.

Se observă că, pentru toate ciupercile champignon organice în fluxul de aer sintetic (fig. 21), nivelul de etilenă este mai mic, în comparație cu ciupercile champignon non-organice, concentrația de etilenă crescând cu mai mult de 100 %.

Măsurătorile fotoacustice cu probele biologice de ciuperci, prezentate în această secțiune, au pus în evidență relația dintre rata de producere a etilenei și diferiți factori de stres (pentru ciupercile non-organice).

Principalul rezultat a fost identificarea unui criteriu obiectiv care permite selectarea fructelor/legumelor organice de cele non-organice, respectiv un nivel de emisie al etilenei mult mai coborât.

Concluzii

Obiectivele principale pe toata perioada de executie ale proiectului pana in prezent au fost:

1. de a monitoriza concentrațiile de etilenă la pacienții tratați cu radiații X,
2. de a determina dacă IR și HD pot fi asociate cu creșterea stresului oxidativ și pentru a se afla dacă măsurarea amoniacului, din aerul exalat, poate fi folosită pentru selectarea duratei optime de HD pentru stadiul dorit.
3. de a determina dacă fumătorii de țigară electronică emit mai multă concentrație de etilenă în comparație cu fumătorii de țigară tradițională, ca urmare a creșterii stării de stres oxidativ.

Fără îndoială, aceste aplicație prezintă unele dintre cele mai noi și interesante direcții de cercetare, în care detecția fotoacustică dovedește rezultate promițătoare. Investigațiile prezentate aici reprezintă testele preliminare efectuate în acest domeniu, urmând ca în continuare aceste studii să se extindă în sfera cercetării medicale, având la bază colaborarea eficientă cu personalul de specialitate.

Măsurătorile au demonstrat că HD determină simultan o creștere a concentrației de etilenă în aerul exalat al pacienților (ca urmare a stresului oxidativ) și o reducere a concentrației de amoniac, corelată cu nivelul de uree.

Măsurătorile au demonstrat că țigara electronică determină o scădere a concentrației de etilenă în aerul exalat al celor opt subiecți (ca urmare a stresului oxidativ).

Sistemul de spectroscopie fotoacustică a demonstrat că joacă un rol important în analiza de aer expirat din respirația umană, attributele acestei tehnici fiind: sensibilitatea, selectivitatea, rapiditatea de răspuns, în timp real și ușurința de utilizare.

S-a testat deasemenea emisia de etilenă a probelor organice atât în condiții aerobe, cât și anaerobe (sau condiții de stres, cu flux de azot) și s-a observat că nivelul de etilenă se comportă similar cu nivelul de etilenă din respirația probelor non-organice, în condiții aerobe (sau condiții normale, flux de aer sintetic). Drept urmare, se pot corela aceste determinări efectuate în condiții anaerobe, cu rezultatele obținute pe probele non-organice (în condiții aerobe), emisia de etilenă având aceeași comportare.

Ca observație generală a determinărilor, s-a ajuns la concluzia că pentru toate fructele și legumele organice, emisia de etilenă, în condiții aerobe este mult mai mică, în comparație cu nivelul de etilenă provenit din respirația fructelor și legumelor non-

organice din supermarket-uri, aceasta din urmă crescând cu mai mult de 100 %, în toate cazurile (cu excepția roșiilor cherry unde concentrația de etilenă crește cu peste 15 %).

O cauză a creșterii concentrației de etilenă, la toate fructele și legumele non-organice, poate fi folosirea de stimulatori de creștere, a unor bioregulatori vegetali sau folosirea ingineriei genetice, care pot avea un impact covârșitor asupra sănătății oamenilor.

Potrivit organizației non-profit, Environmental Working Group, care analizează rezultatele testelor cu pesticide în SUA, căpșunile, merele, roșiile cherry, strugurii, ardeii grași, nectarinele, au cele mai ridicate niveluri de pesticide, și de aceea, se recomandă cumpărarea fructelor și legumelor organice.

Bibliografie

- [1]. C. Popa, A. M. Bratu, C. Matei, R. Cernat, A. Popescu and D. C. Dumitras, “Qualitative and quantitative determination of human biomarkers by laser photoacoustic spectroscopy methods”, *Laser Physics* Vol. 21, No. 7, pp. 1336–1342 (2011).
- [2]. C. Popa, D. C. A. Dutu, R. Cernat, C. Matei, A. M. Bratu, S. Banita, and D. C. Dumitras, “Ethylene and ammonia traces measurements from the patients breath with renal failure via LPAS method”, *Applied Physics B – Lasers and Optics*, Vol. 105, No. 3, pp. 669-674 (2011).
- [3]. C. Popa, C. Matei “Photoacoustic Assessment of Oxidative Stress in Dialysis and Radiotherapy by LPAS System”, *Optoelectronics and Advanced Materials - Rapid Communications OAM - RC*, Vol. 5, No. 11, pp. 1237-1242 (2011).
- [4]. C. Popa, M. Pațachia, S. Băniță, and D. C. Dumitraș, “Exertion in Kangoo Jumps aerobic: evaluation and interpretation using spectroscopic technique determinations”, *J. Spectroscopy*, Vol. 2013, Article ID 602434, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/602434>, (2013).
- [5]. C. Popa, Ș. Băniță, A. M. Bratu, M. Pațachia, C. Matei, and D. C. Dumitraș, “The level of ethylene biomarker in renal failure of elderly patients analyzed by photoacoustic spectroscopy”, *Laser Physics*, Vol. 23, No. 12, doi:10.1088/1054-660X/23/12/125701, Article ID 125701 (2013).
- [6]. McQueen, Amy; Tower, Stephanie; Sumner, Walton (2011). "Interviews with "vapers": implications for future research with electronic cigarettes". *Nicotine & Tobacco Research* 13 (9): 860–7. doi:10.1093/ntr/ntr088. PMID 21571692.
- [7]. C. Popa, A. M. Bratu, D. C. Dumitraș, M. Pațachia, and Ș Băniță, “Photoacoustic detection of ethylene concentration in cherry tomatoes”, *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, Vol. 16, No.1-2, (2014).
- [8]. Ș. Băniță, “Spectroscopic assessment of ethylene hormone production at strawberry fruits”, *U.P.B Sci. Bull., Series A*, Vol. 76, No. 1-2, (2014).

- [9]. C. Popa, D. C. Dumitraş, A. M. Bratu, M. Paţachia and Ş Băniţă, “Ethylene production of organic and nonorganic mature mushrooms measured by LPAS”, *Rom. Rep. Phys.*, Vol. 66, No.3 (2014) .
- [10]. Ş. Băniţă, C. Popa, M. Paţachia and D. C. Dumitraş, “Ethylene concentration at fruits under aerobic vs. anaerobic conditions”, *U.P.B Sci. Bull., Series A*, Vol. 75, No. 3, pp. 217-226 (2013).

Director proiect,
Dr. Cristina ACHIM

