

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„IULIU HAȚIEGANU” CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE FARMACIE

TÜNDE-SAROLTA HORVATH

**ANALIZA CONȚINUTULUI ÎN OLIGOELEMENTE
AL UNOR PLANTE INDIGENE
(AESCULUS HIPPOCASTAMUM L.)**

Conducător științific: Prof. Dr. ELENA CUREA

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cluj-Napoca
2009

CUPRINS

INTRODUCERE.....	pag. 1
------------------	--------

STADIUL CUNOAȘTERII

Capitolul I.: OLIGOELEMENTE ÎN BIOSFERĂ: Cu, Zn, Mn, Cr, Ni, Cd și Pb

I.1. Generalități asupra oligoelementelor.....	3
1.1. Oligoelemente în sol.....	3
1.2. Oligoelemente în apă și aer.....	3
1.3. Oligoelemente în plante.....	5
1.4. Oligoelemente în alimente.....	6
I.2. Cupru: importanță biologică, interrelații și surse.....	8
I.3. Zinc: importanță biologică, interrelații și surse.....	12
I.4. Mangan: importanță biologică, interrelații și surse.....	18
I.5. Crom: importanță biologică, interrelații și surse.....	22
I.6. Nichel: importanță biologică, interrelații și surse.....	26
I.7. Cadmu: importanță biologică, interrelații și surse.....	29
I.8. Plumb: importanță biologică, interrelații și surse.....	36

Capitolul II.: METODE SEMIMICROANALITICE DE DETERMINARE A OLIGOELEMENTELOR DIN COMBINАȚII ANORGANICE ȘI ORGANICE

II.1. Generalități.....	42
II.2. Etapele analizei.....	42
II.3. Metode spectrometrice de analiză.....	43
3.1. Spectrometria de absorbție atomică: principiul metodei.....	44
3.2. Spectrometria de absorbție atomică: analiza calitativă și cantitativă.....	46
3.3. Alte metode semimicroanalitice.....	46

CONTRIBUȚII PERSONALE

Capitolul III.: STUDII GENERALE ASUPRA ARBORELUI *AESCULUS HIPPOCASTUM L.* (ORIGINAR DIN JUDEȚUL BIHOR-ROMÂNIA)

III.1. Scurt istoric.....	49
1.1. Aria de răspândire.....	50
III.2. Caracterizare botanică și morfofuncțională.....	53
2.1. Încadrare sistematică.....	54
2.2. Descrierea speciei <i>Aesculus hippocastanum L.</i> - anatomia și morfologia.....	55
2.3. Caracterizare macroscopică.....	57
2.4. Caracterizarea microscopică a unor țesuturi vegetale.....	59
III.3. Fitoterapie, bioterapie, utilizări.....	61
3.1. Acțiune și utilizări.....	63
III.4. Toxicitate.....	69

Capitolul IV: DATE EXPERIMENTALE PRIVIND COMPOZIȚIA CHIMICĂ A UNOR PĂRTI AERIENE DE *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*

IV.1. Compoziția chimică a unor părți aeriene de <i>Aesculus hippocastanum L.</i> generalități.....	71
IV.2. Determinare microchimică pe țesuturi de muguri și semințe de <i>Aesculus hippocastanum L.</i>	77
2.1. Metode de identificare a unor grupe de compuși chimici.....	77
IV.3. Extracția și identificarea saponozidelor din semințe de <i>Aesculus hippocastanum L.</i>	79
3.1. Extracția saponozidelor din <i>Aesculus hippocastanum L.</i>	80
3.2. Identificarea saponozidelor extrase din Hippocastani Semen.....	81
3.3. Citotoxicitatea saponozidelor extrase din <i>Aesculus hippocastanum L.</i>	85
3.4. Determinarea acțiunii saponozidelor extrase asupra diviziunii celulare mitotice.....	87
3.5. Concluzii.....	92

Capitolul V: STUDII ANALITICE PRIVIND DETERMINAREA CONȚINUTULUI ÎN OLIGOELEMENTE DIN UNELE PĂRȚI AERIENE ALE ARBORELUI *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*

V.1. Ipoteza de lucru.....	95
V.2. Alegerea metodei de separare, extracție și determinare cantitativă a microelementelor din probe vegetale.....	96
2.1. Etapele premergătoare analizei și modul de lucru.....	96
V.3. Spectrometria de absorbție atomică în flacără (SAAF)-metodă de determinare a oligoelementelor din frunze, flori și fructe de <i>Aesculus hippocastanum L.</i> (castan porcesc).....	103
3.1. Noțiuni teoretice.....	103
3.2. Metoda de măsurare și aparatura folosită.....	104

Capitolul VI: DETERMINAREA OLIGOELEMENTELOR ESENȚIALE (Cu, Zn, Mn, Cr) DIN FRUNZE, FLORI ȘI FRUCTE DE *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*

VI.1. Determinarea cuprului.....	114
1.1. Cupru - caracterizare fizico-chimică și biologică.....	114
1.2. Materiale și metodă.....	114
1.3. Pregătirea probelor vegetale.....	115
1.4. Spectrometria de absorbție atomică: stabilirea parametrilor aparatului.....	116
1.5. Mod de lucru.....	116
1.6. Rezultate și discuții.....	118
1.7. Concluzii.....	121
VI.2. Determinarea zincului.....	122
2.1. Zinc- caracterizare fizico-chimică și biologică.....	122
2.2. Materiale și metodă.....	123
2.3. Pregătirea probelor vegetale.....	123
2.4. Spectrometria de absorbție atomică: stabilirea parametrilor aparatului.....	123
2.5. Mod de lucru.....	124
2.6. Rezultate și discuții.....	125
2.7. Concluzii.....	128
VI.3. Determinarea manganului.....	129
3.1. Mangan - caracterizare fizico-chimică și biologică.....	129
3.2. Materiale și metodă.....	130
3.3. Pregătirea probelor vegetale.....	130
3.4. Spectrometria de absorbție atomică: stabilirea parametrilor aparatului.....	131
3.5. Mod de lucru.....	131
3.6. Rezultate și discuții.....	133
3.7. Concluzii.....	136
VI.4. Determinarea cromului.....	137
4.1. Crom - caracterizare fizico-chimică și biologică.....	137
4.2. Materiale și metodă.....	138
4.3. Pregătirea probelor vegetale.....	138
4.4. Spectrometria de absorbție atomică: stabilirea parametrilor aparatului.....	138
4.5. Mod de lucru.....	139
4.6. Rezultate și discuții.....	140
4.7. Concluzii.....	143

Capitolul VII: DETERMINAREA OLIGOELEMENTELOR NEESENȚIALE (Ni, Cd, Pb) DIN FRUNZE, FLORI ȘI FRUCTE DE *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*

VII.1. Efectele nocive ale poluanților chimici asupra ecosistemelor vegetale și animale.....	143
VII.2. Determinarea nichelului.....	145
2.1. Nichel - caracterizare fizico-chimică și biologică.....	145
2.2. Materiale și metodă.....	145
2.3. Pregătirea probelor vegetale.....	146
2.4. Spectrometria de absorbție atomică: stabilirea parametrilor aparatului.....	147
2.5. Mod de lucru.....	147
2.6. Rezultate și discuții.....	149
2.7. Concluzii.....	152

VII.3. Determinarea cadmiului.....	153
3.1. Cadmiu- caracterizare fizico-chimică și biologică.....	153
3.2. Materiale și metodă.....	153
3.3. Pregătirea probelor vegetale.....	154
3.4. Spectrometria de absorbție atomică: stabilirea parametrilor aparatului.....	155
3.5. Mod de lucru.....	155
3.6. Rezultate și discuții.....	157
3.7. Concluzii.....	160
VII.4. Determinarea plumbului.....	161
4.1. Plumb - caracterizare fizico-chimică și biologică.....	161
4.2. Materiale și metodă.....	161
4.3. Pregătirea probelor vegetale.....	162
4.4. Spectrometria de absorbție atomică: stabilirea parametrilor aparatului.....	162
4.5. Mod de lucru.....	163
4.6. Rezultate și discuții.....	163
4.7. Concluzii.....	164
Capitolul VIII: DETERMINAREA UNOR OLIGOELEMENTE DIN POLEN DE <i>AESCULUS HIPPOCASTANUM L.</i>	
VIII.1. Caracterizarea condițiilor climatice din județul Bihor și influența acestora asupra poluării cu metale.....	165
VIII.2. Metoda și tehnica de determinare a oligoelementelor: <i>Cu, Zn, Mn, Cr, Ni, Cd, Pb</i> din polen.....	168
2.1. Materiale și metodă.....	168
2.2. Pregătirea probelor vegetale.....	168
2.3. Spectrometria de absorbție atomică: stabilirea parametrilor specifici și calibrarea aparatului.....	169
2.3.1. Efectuarea determinărilor.....	170
2.3.2. Măsurarea concentrațiilor.....	170
2.3.3. Rezultate.....	171
2.4. Concluzii.....	172
CONCLUZII.....	174
BIBLIOGRAFIE.....	180

Cuvinte cheie: Oligoelemente, cupru, zinc, mangan, crom, nichel, cadmiu, plumb, Aesculus hippocastanum L., flori, frunze, fructe, polen, spectroscopia de absorbție atomică, dozare, µg/g produs vegetal uscat.

INTRODUCERE

Cuantificarea oligoelementelor din unele plante reprezintă o temă de actualitate a cercetătorilor pe plan mondial care apelează la metode analitice de mare performanță, reușind astfel să depășească dificultățile legate de izolare elementelor din matrița organică, protejării lor prin evitarea pierderilor prin oxidare sau a supradoxării prin poluare.

Spectroscopia de absorbție atomică este metoda care dă rezultate foarte bune pentru determinarea microelementelor. Rapiditatea și sensibilitatea acestei metode a determinat folosirea ei în multe laboratoare, pentru un număr mare de analize.

Tema abordată în această lucrare dezvoltă cercetări privind identificarea și cuantificarea oligoelementelor esențiale (*Cu, Zn, Mn, Cr*) și neesențiale (*Ni, Cd, Pb*) din diferite părți aeriene (frunze, flori, fructe, polen) ale arborelui de castan sălbatic autohton, date experimentale corelate cu mediul în care se dezvoltă (Oradea și Adoni, județul Bihor).

STADIUL CUNOAȘTERII

Capitolul I.: OLIGOELEMENTE ÎN BIOSFERĂ: *Cu, Zn, Mn, Cr, Ni, Cd și Pb*

Termenul de „oligoelemente” este atribuit elementelor care sunt prezente în cantități infinitezimale, având o funcție biocatalitică, fiind susceptibile de a interveni biochimic în ameliorarea funcțiilor vitale [1]. Deoarece oligoelementele joacă un rol indispensabil vieții: rolul de catalizator sau coenzimă în numeroase căi metabolice, deficietele profunde la om pot diminua vitalitatea, rezistența la agresiuni (răspuns imunitar) și la diverse boli. În acest capitol sunt prezentate concentrațiile în oligoelemente în sol, apă și plante, date de referință pentru evaluarea rezultatelor obținute de noi la determinarea oligoelementelor din părțile aeriene ale arborelui *Aesculus hippocastanum L.* originar din județul Bihor.

Microelementele cele mai importante sunt: **Cu, Zn, Mn, Cr, Fe, B, Sr, Ba, Li, I, Br, Al, Ni, Cd, Pb, Mo, As, Va, Rb** fiind prezente în cantități cuprinse între 0,00001 și 0,001% din substanța uscată a plantei.

Capitolul II.: METODE SEMIMICROANALITICE DE DETERMINARE A OLIGOELEMENTELOR DIN COMBINAȚII ANORGANICE ȘI ORGANICE

Alegerea metodelor de analiză trebuie să țină seama de o serie de parametrii: limita de detecție, sensibilitatea, selectivitatea, exactitatea și precizia metodei, astfel spectroscopia de absorbție corespunde în mare măsură exigențelor din domeniul microanalizei.

Sunt analizate succint datele din literatură privind metodele analitice utilizate pentru determinarea unor cantități mici de analiți anorganici din matricea organică vegetală.

Metodele analitice menționate pentru determinarea microelementelor din plante trebuie să fie selective, sensibile și specifice, și sunt precedate de o serie de operații de separare și extracție a analitului din masa vegetală.

CONTRIBUȚII PERSONALE

Capitolul III.: STUDII GENERALE ASUPRA ARBORELUI *AESCULUS HIPPOCASTUM L.* (ORIGINAR DIN JUDEȚUL BIHOR-ROMÂNIA)

Denumirea de *Aesculus* (din *esca* –aliment) a fost dată prima dată unei specii de stejar, care conform lui *Pliny* era foarte apreciat pentru ghindele sale, dar nu se știe din ce motiv a fost transferată denumirea asupra castanului sălbatic /porcesc/; poate după cum sugerează *Loudon*, denumirea a fost dată ironic, deoarece fructele lui seamănă foarte mult la exterior cu cele ale castanului dulce /comestibil/, dar nu sunt comestibile [70,71,72].

Interesul cercetătorilor pentru această plantă au condus totuși la obținerea unui extract din castană utilizat în tratarea bolilor venelor de la picioare. În Germania, castana este una din cele mai vândute produse obținute din plante, fiind a treia după *Ginkgo biloba L.* și *Hypericum perforatum L.*. În Japonia, pentru reducerea inflamațiilor postoperatorii sau posttraumatice se folosește o formă injectabilă obținută din castană, dar acest produs nu este disponibil în SUA.

Acțiunea farmacodinamică a extractelor totale de castan sălbatic este imprimată în principal de prezența saponozidelor triterpenice, care exercită îndeosebi acțiune antiedematoasă și antiinflamatoare, pe când flavonoidele sunt vasoconstrictoare venoase și cu activitate de factori P [86,87,88].



Aesculus hippocastanum L.

Castanul sălbatic la noi în țară crește de obicei plantat în orașe, parcuri, pe marginea șoselelor și aleilor, precum și în unele păduri, plantați special pentru hrana căprioarelor și mistreților. În județul Bihor (*Oradea, Adoni*, Mădăraș, Cighid, Salonta, Săcuieni, Tinca, Cetariu) se întâlnește *Aesculus hippocastanum L.*, castanul sălbatic (porcesc), un arbore cu o înălțime care poate să atingă 30 metri și corespunde următoarei formulă florală:



Castanul porcesc (*Aesculus hippocastanum L.*) prezintă frunze opuse, palmat-compuse, flori bisexuate, zigomorfe, grupate în panicule mari, a cărei corola prezintă petalele inegale, ușor crenelate. Trunchiul copacului este foarte drept, scoarța este netedă, de culoare gri-verzuie. Mugurii sunt cei mai mari dintre cei cunoscuți la speciile din flora României, ating 3-8 cm și sunt protejați cu o substanță lipicioasă, care uneori se dezvoltă în decurs de trei sau patru săptămâni. Semințe întregi, sănătoase, cu coaja de culoare brună caracteristic și miezul alb, cu o nuanță ușoară de crem, fără miros și cu gust amar.

Arboarele *Aesculus hippocastanum L.* care crește în această zonă transilvană a fost studiat prin metoda și tehnica de investigație corespunzătoare, pentru a fi caracterizat sub aspect botanic și morfofuncțional. Diagnosticul microscopic pe secțiuni transversale, longitudinale și radiare la nivelul scoarței, sau pe pulbere din muguri și semințe de castan uscate, au contribuit la identificarea elementelor de recunoaștere anatomică și încadrare sistematică a speciei studiate.

Capitolul IV: DATE EXPERIMENTALE PRIVIND COMPOZIȚIA CHIMICĂ A UNOR PĂRTI AERIENE DE *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*

Prin examenul microchimic s-au identificat compușii chimici din produsul vegetal, direct în celulele țesuturilor cu ajutorul unor reacții specifice. Înțând seama de caracterul selectiv al acestor reacții, examenul histochimic care s-a efectuat pe secțiuni (transversale sau longitudinale) a permis localizarea unor principii active în părțile vegetale studiate (Hippocastani Turiones și Hippocastani Semen).

Saponozidele s-au identificat datorită proprietăților tensioactive prin proba de spumeiere și datorită proprietăților hemoragice (prin hemoliza unei probe gelatin-sânge). Structura nucleului se identifică cu ajutorul reacției Liebermann-Burchard. Întrucât există și alte substanțe care spumifică (poliuronide) sau care hemolizează eritrocitele (lecitina, săpunuri, uleiuri volatile, amine) numai rezultatele pozitive ale tuturor acestor teste combinate cu reacția Liebermann-Burchard caracteristică agliconilor pot preciza existența saponozidelor. Proba de spumeiere se execută pe o infuzie 1% obținută din semințele de castan uscate și pulverizate, care se agită timp

de 15 secunde într-o eprubetă cu diametrul de 16 mm. Se formează o coloană de spumă persistentă cel puțin 15 minute.

În biotestul efectuat pe cariopse de *Triticum aestivum L.* valorile coeficenților de inhibiție au depășit valoarea minimă limită de 50%. Toate soluțiile testate au dovedit o intensă acțiune de inhibare a procesului de germinare. Valoarea obținută este direct proporțională cu concentrația soluției testate. Aceste rezultate au impus efectuarea testului pentru monitorizarea acțiunii saponozidelor la nivel celular, mai precis în timpul diviziunii celulare.

Influența diferenților compuși la nivel microscopic este foarte ușor de urmărit prin determinarea acțiunii asupra diviziunii celulare mitotice. Acest tip de determinare este motivată de proprietatea cromozomilor de a se diferenția în timpul diviziunii celulare, de aceea pentru evidențierea lor se folosesc țesuturi cu diviziuni numeroase, cum sunt meristemele radiculare (țesuturi apicale). Metoda de lucru este metoda rapidă, de evidențiere a cromozomilor mitotici și meiotici la plante [114]. Prin această metodă ADN se colorează selectiv, în timp ce celelalte componente celulare nu se colorează. Pentru intensificarea colorației preparatele microscopice vor fi etalate în soluție de orceină acetică ®. Conform rezultatelor examinării microscopice soluțiile de *Aesculus hippocastanum L.* influențează diviziunea celulară în strictă corelație cu concentrația soluțiilor.

Capitolul V: STUDII ANALITICE PRIVIND DETERMINAREA CONȚINUTULUI ÎN OLIGOELEMENTE DIN UNELE PĂRȚI AERIENE ALE ARBORELUI *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*

În cercetările noastre s-au prelevat diferențe părți aeriene ale plantei *Aesculus hippocastanum L.* (castan sălbatic) din două zone (Oradea – Centru și localitatea Adoni – jud. Bihor), în aceleași perioade ale anului 2005, 2006, 2007. Pentru analiza cantitativă a oligoelementelor, în extractele obținute, s-a utilizat metoda: *spectrometria de absorbție atomică SAA*, metoda care corespunde nivelului de sensibilitate și specificitate pe care-l necesită analiza acestor elemente *în urme*, în probele vegetale studiate de noi.

Factorii care influențează hotărâtor rezultatele determinărilor:

- metoda de separare și extractie a elementului activ din probele vegetale și
- metoda de analiză – a acestuia.

În vederea determinării, probele vegetale prelevate, uscate și mărunțite în condiții adecvate se supun unor operații de mineralizare (oxidare umedă acidă) și extracție cu solventi. Probele astfel pregătite sunt introduse în dispozitivul spectrometrului.

Aparatura folosită: spectrometru de absorbție atomică cu flacără tip GBC AVANTA. Parametrii aparatului: flacără aer/acetilenă, corecție de fond cu lampă deuteriu, lungime arzător 10 cm, sistem optic cu dublu fascicol. Comanda aparatului și prelucrarea datelor prin software AVANTA. Calculul concentrațiilor se realizează astfel:

$$\mu\text{g oligoelement/g produs vegetal uscat} = (\text{A}-\text{M}) \times \text{V/m}$$

unde:

A și M – valorile citite pe ecranul aparatului pentru proba A și pentru martor (M=0)

V - volumul balonului cotat în care s-a adus proba exact cântărită (50)

m – cantitatea de pulbere de material vegetal cântărită (0,2 g)

Capitolul VI: DETERMINAREA OLIGOELEMENTELOR ESENȚIALE (Cu, Zn, Mn, Cr) DIN FRUNZE, FLORI ȘI FRUCTE DE *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*

Determinarea **cuprului** din frunze, flori și fructe de *Aesculus hippocastanum L.* prin metoda SAA evidențiază o scădere a concentrație în Cu în perioada 2005 > 2006 > 2007; concentrații medii mai mari în flori 175,34 µg/g (Oradea) și 25,56 µg/g (Adoni) în anii 2005 > 2007; concentrații medii mult mai scăzute în Cu (µg/g) în organele de plantă recoltate în Adoni față de Oradea: ex. 27,55 µg/g Cu în frunze (Oradea) față de 5,98 µg/g Cu (Adoni) în anul 2007.

În perioada analizată concentrația în **zinc** crește 2005 < 2007 în frunze (Oradea), flori (Adoni) și fructe (Oradea) - concentrațiile medii în perioada 2005 – 2007 în frunze, flori și fructe sunt mai mari pentru arborii din Oradea față de cei din Adoni. Valorile medii pentru anul 2007 se situează între 60,24 µg/g (Oradea) și 45,36 µg/g (Adoni).

Concentrațiile de **mangan** ($\mu\text{g/g}$) scad în perioada 2005 – 2007 în frunze și flori (Oradea) și cresc în frunze, flori și fructe (Adoni), iar valorile medii în 2007 sunt: 28,34 $\mu\text{g/g}$ (Oradea) și 71,56 $\mu\text{g/g}$ (Adoni).

În frunze, flori și fructe de *Aesculus hippocastanum L.* se scoate în evidență o variație nesemnificativă a concentrațiilor de **crom** de la un an la altul (2005 - 2007). Valorile medii ($\mu\text{g/g}$) înregistrate în perioada analizată sunt: 86,26 – frunze, 185,49 – flori și 189,36 – fructe (Oradea); 205,53 – frunze, 175,68 – flori și 227,40 – fructe (Adoni). Concentrațiile în crom sunt mai mari în părțile aeriene ale arborilor din Adoni.

Tabel VI.2.;VI.6.; VI.10.;VI.14.: Rezultatele determinării conținutului de Cu,Zn, Mn și Cr ($\mu\text{g/g plantă}$) în materialul vegetal uscat

Material vegetal	Localitate / Anul	Cu ($\mu\text{g/g plantă}$)*	Zn ($\mu\text{g/g plantă}$)*	Mn ($\mu\text{g/g plantă}$)*	Cr ($\mu\text{g/g plantă}$)*
FRUNZE	Oradea / 2005	52,03	41,49	107,24	79,18
	Oradea / 2006	40,25	49,25	76,10	84,27
	Oradea / 2007	27,55	58,30	18,88	95,35
	Adoni / 2005	19,87	27,64	46,26	220,37
	Adoni / 2006	13,70	37,10	81,23	203,65
	Adoni / 2007	5,98	46,78	119,70	192,58
FLORI	Oradea / 2005	175,34	110,28	61,79	200,25
	Oradea / 2006	113,30	100,10	56,08	180,79
	Oradea / 2007	44,58	94,40	54,00	175,45
	Adoni / 2005	25,56	46,10	40,43	197,14
	Adoni / 2006	18,04	59,20	67,13	179,21
	Adoni / 2007	7,73	75,62	86,65	150,68
FRUCTE	Oradea / 2005	16,68	21,73	11,28	181,70
	Oradea / 2006	20,03	25,33	12,01	187,25
	Oradea / 2007	27,08	28,03	12,13	199,13
	Adoni / 2005	18,65	53,90	6,32	183,68
	Adoni / 2006	14,14	37,77	7,25	227,13
	Adoni / 2007	9,33	13,68	8,32	271,40

* - media aritmetică a unui număr de 3 determinări (n=3)

Capitolul VII: DETERMINAREA OLIGOELEMENTELOR NEESENȚIALE (Ni, Cd, Pb) DIN FRUNZE, FLORI ȘI FRUCTE DE *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*

Rezultatele pun în evidență un aspect îngrijorător: concentrațiile în **nichel** ($\mu\text{g/g}$) raportate la cele din literatură (150 – 350 $\mu\text{g/g}$ pentru vegetale verzi) se situează mult peste aceste valori. Astfel, în perioada 2005 – 2007 valorile medii cresc semnificativ, cele mai mari semnalate în fructe: 536,51 $\mu\text{g/g}$ (Oradea) și 568,59 $\mu\text{g/g}$ (Adoni) și cele mai mici în frunze: 266,78 $\mu\text{g/g}$ (Oradea) și 374,13 $\mu\text{g/g}$ (Adoni). În concluzie, în arborii din Adoni concentrațiile în Ni sunt ușor mai mari, deși gradul de poluare în regiune este mai mic.

În urma studiilor efectuate de unii autori [24,56,58,61] concentrația **cadmiului** în plante se situează între 0,027 $\mu\text{g/g}$ – 0,070 $\mu\text{g/g}$, mai crescută în zonele contaminate industriale. În probele analizate de noi (frunze, flori și fructe de *Aesculus hippocastanum L.*) se constată o scădere a concentrațiilor în perioada 2005 > 2007 atât în Oradea cât și în Adoni. Deși în anul 2007 se înregistrează valori medii 0,744 $\mu\text{g/g}$ (Oradea) și 0,236 $\mu\text{g/g}$ (Adoni), concentrațiile sunt de 10 ori mai ridicate decât valorile prezentate în literatură. În 2007 aceste valori se situează sub valorile anilor 2005.

Determinarea **plumbului** din aceleasi probe nu s-a ridicat la un nivel de sensibilitate corespunzător din lipsa unor etaloane. Se poate concluziona, că plumbul este prezent în concentrații sub 1 $\mu\text{g/g}$ în 2007 în toate părțile aeriene. S-a constatat o creștere a concentrațiilor de Pb (0,40 – 1,00 $\mu\text{g/g}$) între anii 2005 < 2007.

Tabel VII.1.; VII.5.; VII.9.: Rezultatele determinării conținutului de Ni, Cd, și Pb (µg/g plantă) în materialul vegetal uscat

Material vegetal	Localitate / Anul	Ni (µg/g plantă)*	Cd (µg/g plantă)*	Pb (µg/g plantă)*
FRUNZE	Oradea / 2005	198,65	1,070	< 0,400
	Oradea / 2006	271,25	1,057	< 0,800
	Oradea / 2007	330,43	1,025	< 1,000
	Adoni / 2005	187,13	1,460	< 0,400
	Adoni / 2006	403,67	0,935	< 0,800
	Adoni / 2007	531,58	0,191	< 1,000
FLORI	Oradea / 2005	192,27	3,020	< 0,400
	Oradea / 2006	398,02	2,061	< 0,800
	Oradea / 2007	503,65	1,182	< 1,000
	Adoni / 2005	195,64	1,003	< 0,400
	Adoni / 2006	297,16	0,679	< 0,800
	Adoni / 2007	428,20	0,325	< 1,000
FRUCTE	Oradea / 2005	520,30	0,202	< 0,400
	Oradea / 2006	535,15	0,112	< 0,800
	Oradea / 2007	554,08	0,025	< 1,000
	Adoni / 2005	489,97	1,403	< 0,400
	Adoni / 2006	529,27	0,781	< 0,800
	Adoni / 2007	686,53	0,194	< 1,000

* - media aritmetică a unui număr de 3 determinări (n=3)

Capitolul VIII: DETERMINAREA UNOR OLIGOELEMENTE DIN POLEN DE *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*

Probele provenite din Oradea sunt de aprox. 5 ori mai concentrate în **cupru** și de 4 ori mai concentrate în **crom** față de cele din Adoni; concentrația în **zinc** și **mangan** sunt ușor crescute în probele recoltate din Adoni.

Oligoelementele neesențiale: **Ni**, **Cd** și **Pb** se găsesc în polen în concentrații semnificative; polenul din probele recoltate din Oradea față de cele provenite din Adoni prezintă pentru Ni o creștere de aprox. 3 ori și pentru cadmiu de 7 ori, iar plumbul în ambele cazuri este sub 1 µg/g polen uscat.

CONCLUZII

Pe baza unui număr însemnat de date bibliografice se motivează oportunitatea abordării acestui studiu asupra arborelui *Aesculus hippocastanum L.* răspândit în două zone ale județului Bihor (Oradea și Adoni), care nu a fost cercetat sub aspectul conținutului în oligoelemente.

Arboarele *Aesculus hippocastanum L.* care crește în această zonă transilvană a fost studiat prin metode și tehnici de investigație corespunzătoare, pentru a fi caracterizat sub *aspect botanic, morofuncțional* și al *compoziției chimice*.

Identificarea și dozarea unor oligoelemente esențiale (*Cu, Zn, Mn, Cr*) și neesențiale (*Ni, Cd, Pb*) din părțile aeriene (frunze, flori, fructe, polen) ale arborelui *Aesculus hippocastanum L.* originar din județul Bihor, s-a realizat printr-o metodă de înaltă performanță: spectroscopia de absorbție atomică.

Oligoelementele absorbite de plante în general sub formă de ioni, migrează spre părțile aeriene ale plantelor. Proportia cantitativă a elementelor chimice din corpul plantelor variază și depinde de concentrația lor în sol, de tipul de metal, specia vegetală și organul de plantă.

Cu ajutorul acestei metode moderne – *spectroscopia de absorbție atomică – SAA-* am quantificat aceste oligoelemente în unele părți aeriene ale arborelui *Aesculus hippocastanum L.* din regiunea Bihor – Transilvania, contribuind la completarea unor date importante referitor la compoziția chimică a acestuia și la semnalarea unor nivele de poluare a aerului, apei și solului din această parte a țării.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Chappuis P.: „*Les oligoéléments en médecine et biologie*”, Ed. Médicales Internationales, Paris, 1991
27. King J.C., Ph. D., R.D.: „*Zinc*” - Western Human Nutrition Research Center, University of California, Davis, 2005
31. Geerling B.J., Badart-Smook A., Stockbrügger R.W., Brummer R-JM.: „*Comprehensive nutritional status in recently diagnosed patients with inflammatory bowel disease compared with population controls*”, Eur.J.Clin.Nutr., 54:514-521, 2000
34. Wexler Ph.: „*Encyclopedia of toxicology*”, four volume, set. 1-4; National Institutes of Health, Bethesda, Second Ed, Maryland, USA, 2005
58. Bojiță M., Săndulescu R., Roman L., Oprean R. : „*Analiza și controlul medicamentelor*”, Vol I, II, Editura Intelcredo, Deva, 2003
59. Muntean D.L., Bojiță M.: „*Controlul Medicamentelor; Metode Spectrale cromatografice și electroforetice de analiză*”, Ed. Medicală Universitară “Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, 2004
64. www.elsevier.sciencedirect.com/II Farmaco, “*Determination of Fe (II) and Zn (II) by spectrophotometry, atomic absorption spectrometry and ions chromatography methods in Vitrium R*”, Volume 60, pag. 459-464, 2005
102. Newal C. A., Anderson L. A., Phillipson J.D.: „*Herbal Medicines; A guide for healthcare professionals*”, The Pharmaceutical Press, London, 1996
104. Istudor V.: „*Farmacognozie, fitochimie, fitoterapie*”, Ed. Tehnoplast Company, București, vol.I., 1996
117. Roman L., Săndulescu R.: ”*Chimie analitică*” Vol.3., Metode de separare și analiză instrumentală, Ed. Didactică și Pedagogică, R.A. București, 118-171, 256-290, 1999
124. Roman L., Bojiță M., Săndulescu R., Muntean D.L.: „*Validarea metodelor analitice*”, Editura Medicală, București, 2007
132. *** Pharmacopee Europeene 6.1 ed, Editions du Conseil de l'Europe, 2008
133. *** British Pharmacopoeia, Her Majesty's Stationery Office, London, 2007
134. *** United States Pharmacopoeia, USP 30, United States Pharmacopoeia Convention Inc, Rockville Md., 2007

CURRICULUM VITAE

1. DATE BIBLIOGRAFICE

- 1.1. Numele și prenumele: **HORVATH TÜNDE-SAROLTA**
1.2. Data și locul nașterii: 1975, august, 24, Oradea
1.3. Domiciliul stabil: Oradea Str. Italiana nr.37, Bl. Z4, Sc. B, Et. III, Ap. 35,
Nr. telefon: 0727338084, 0359452057
E-mail: farmacia.primula@gmail.com; tundeh75@gmail.com; tundeh75@yahoo.com
1.4. Stare civilă: necăsătorită
1.5. Locul de muncă:
1. Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie;
str. Nicolae Jiga, nr. 29, Oradea, jud. Bihor, 410028; Tel.+4 0259 412801/110
2. SC HYGEA SRL, Farmacia Primula, Nufărului 45, Oradea, Tel. +4 0359805412

2. STUDII

- 2.1. Gimnaziale: Școala Generală Nr.16., Oradea; 1981-1989
2.2. Liceale: Liceul teoretic „Ady Endre”, Profil Chimie - Biologie, Oradea; 1989-1993
2.3. Universitar: Facultatea de Medicină și Farmacie, Specializarea Farmacie, Universitatea din Oradea, cu diplomă de licență acordată de UMF „Carol Davila”, București; 1993-1998

3. ACTIVITATEA PROFESIONALĂ

- ❖ octombrie 1998 - octombrie 1999: Farmacist stagiar la S.C. HYGEA S.R.L., Farmacia Hygea
- ❖ noiembrie 1999 – prezent: Farmacist diriginte la S.C. HYGEA S.R.L., Farmacia Primula
- ❖ octombrie 2004 – prezent: Asistent universitar, Facultatea de Medicină și Farmacie din Oradea, Departamentul de Științe Farmaceutice Generale, disciplina – Chimie Terapeutică
- ❖ mai 2005 – mai 2008: Farmacist rezident, specializarea farmacie clinică
- ❖ din 14.10.2008: Farmacist specialist, pe baza examenului organizat la Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca
- ❖ 2008: Master formarea profesorilor, Universitatea din Oradea, sesiunea iunie 2008

4. ACTIVITATEA ȘTIINȚIFICĂ

- ❖ Lucrare de licență: Compuși 2-amino-1,3,4-tiadiazolici cu activitate biologică
Conducător științific: Prof. Dr. Lidia Proinov
- ❖ Doctorat: U.M.F. Cluj-Napoca – înscrisă în noiembrie 2002
*„Analiza conținutului în oligoelemente al unor plante indigene (*Aesculus hippocastanum L.*)”*
Domeniul Farmacie, Analiza și controlul medicamentului
Conducător științific: Prof. Dr. Elena Curea
- ❖ 5 lucrări publicate în extenso în reviste din țară – anexa 1
- ❖ 5 lucrări științifice publicate în rezumat în țară – anexa 2
- ❖ 1 lucrare științifică prezentată în rezumat în străinătate – anexa 3
- ❖ Participări cu lucrări la congrese și manifestări științifice – anexa 4
- ❖ 15 cursuri postuniversitare – anexa 5

5. APARTANENȚĂ ȘA SOCIETĂȚI ȘTIINȚIFICE SAU PROFESIONALE DE PRESTIGIU

- ❖ Membru al Colegiului Farmaciștilor din România (1998)
- ❖ Membru în Societatea de Chimie din România (2005)
- ❖ Membru în Societatea de Științe Farmaceutice din România (2005)

6. LIMBI STRĂINE CUNOSCUTE

- ❖ franceză: bine scris și vorbit
- ❖ maghiară: foarte bine scris și vorbit

ANEXA 1

Lucrări publicate în extenso în reviste din țara

Nr. crt.	Titlu și autorii	Volum și/sau revistă	Anul
1.	„ <i>Spectroscopia atomică de absorbție în analiza unor oligoelemente din produse vegetale</i> ” Tünde Horvath, Otilia Bradea, Elena Curea	Perspective în practica farmaceutică, Editura Universității din Oradea, ISBN 973-613-780-5, 79-82 pp.	2005
2.	„ <i>Analysis of oligoelements in the aerial parts of pig chestnut (<i>Aesculus hippocastanum L.</i>) using atomic absorption spectrometry</i> ” Tünde Horvath, Elena Curea, Ildiko Szabo	Farmacia Nr.4, July-August, ISSN 0014-8237, 468-474 pp.	2007
3.	„ <i>Evaluation by atomic absorption spectroscopy with flame of the content of oligoelements in the fruit of <i>Aesculus hippocastanum L.</i></i> ” Tünde Horvath, Elena Curea, Ildiko Szabo	Clujul Medical, Vol. LXXX 2007, Nr.2, ISSN 1222-2119, 499-504 pp.	2007
4.	„ <i>Phytobiological tests on the radicular meristem of <i>Triticum aestivum L.</i> using Hippocastani Semen extractive solutions</i> ” Tünde Horvath, Ildiko Szabo, Annamaria Pallag	Timișoara Medical Journal, Volume 58, Supplement 2, ISSN 1583-5251, 469-474 pp.	2008
5.	„ <i>Preliminary pharmacobotanical study on cultured Pleurotus species</i> ” Ildiko Szabo, Tünde Horvath, Annamaria Pallag, Simona Bungău, Amelia Lucaciu	Studia Universitatis „Vasile Goldiș”, Seria științele vietii, Ed. Vasile Goldis University Press, Arad, ISSN: 1584-2363, vol.18, 169-173 pp.	2008

ANEXA 2

Lucrări științifice publicate în rezumat în țară

Nr. crt.	Titlu și autori	Volum și/sau revistă	Anul
1.	„ <i>Spectrophotometry of atomic absorption in the analysis of some oligoelements on airy parts of Aesculus hippocastanum L.</i> ” Tünde Horvath , Curea Elena, Bradea Otilia	Congresul Național de Farmacie, ediția a XIII-a, Cluj-Napoca, 28-30 sept., 111 pp.	2006
2.	„ <i>Determination of oligoelements in Hippocastani Semen</i> ” Szabo Ildiko, Pallag Annamaria, Tünde Horvath , Lucaciu Amelia, Filipoiu Dana, Bungău Simona	Congresul Național de Farmacie, ediția a XIII-a, Cluj-Napoca, 28-30 sept., 284 pp.	2006
3.	„ <i>Spectrophotometric method for determination of amlodipine besylate base on Fe(III) ion's reduction properties</i> ” Otilia Bradea, Elena Curea, Tünde Horvath	Congresul Național de farmacie, ediția a XIII-a, Cluj-Napoca, 28-30 sept., 98 pp.	2006
4.	„ <i>Determinarea coeficientului de inhibiție pe meristeme radiculare de Triticum Aestivum sub acțiunea soluțiilor extractive de Hippocastani Semen</i> ” Tünde Horvath , Ildiko Szabo, Pallag Annamaria	Zilele Medicale Orădene, Oradea 11-13 oct., 136 pp.	2007
5.	„ <i>Studiu farmacobotanic al speciilor de Pleurotus din cultură</i> ” Szabo Ildiko, Horvath Tünde , Nemeth S.T., Pallag A., Dobjanschi L.	Zilele Medicale Orădene, Oradea 11-13 oct., 136 pp.	2007

ANEXA 3

Lucrare științifică prezentată în rezumat în străinătate

Nr. crt.	Titlu și autori	Volum și/sau revistă	Anul
1.	“ <i>A szabadgyökök termelődésének hatása a mitokondriumok működésére</i> ”, Annamaria Pallag, L.Ritli, Ildiko Szabo, Mureșan Mariana, Sebastian T. Nemeth, Tunde Horvath	Erdélyi Múzeum Egyesület, Orvos és Gyógyszertudományi Szakosztály, XVIII. Tudományos Ülésszak, Oradea, 01-03 mai	2008

ANEXA 4

Participări cu lucrări la congrese și manifestări științifice

1. Simpozionul științific „*Farmacia astăzi, între promovare și cercetare*”, Universitatea de Medicină și Farmacie Victor Babeș, Timișoara, 24-24 septembrie 2008-poster
2. Conferința Științifică Internațională „*Zilele Academice Arădene*” ediția a XVIII-a, Universitatea de Vest Vasile Goldiș, Arad, 16-18 mai 2008-poster
3. Conferința națională „*Zilele Medicale Orădene*” – 16-19 octombrie 2008 comunicare
4. Conferința națională „*Zilele Medicale Orădene*”– 11-13 octombrie 2007 - comunicare
5. Congresul Național de farmacie, ediția a XIII-a, Cluj-Napoca, 28-30 septembrie 2006- poster
6. Simpozionul științific „*Perspective în practica farmaceutic*”, Ordea, 10-12 martie, 2005 - poster

ANEXA 5

Cursuri postuniversitare

Nr. crt.	Instituția de învățământ superior	Titlul cursului	Perioada	Ore EFC
1.	Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, Oradea Colegiul farmaciștilor din România	<i>Farmacoterapia în BRGE și ulcerul peptic</i>	2008	40
2.	Universitatea de Vest Vasile Goldiș, Arad	<i>Zilele Academice Arădene</i>	2008	20
3.	Universitatea de Medicină și Farmacie Victor Babeș, Timișoara	<i>Farmacia astăzi, între promovare și cercetare</i>	2008	24
4.	Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, Oradea	Sesiunea de Comunicări Științifice „MEDICA 2007”	2007	20
5.	Universitatea de Medicină și Farmacie Iuliu Hatieganu, Cluj-Napoca	<i>O farmacie puternică într-o Românie europeană</i>	2006	40
6.	Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, Oradea	<i>Rolul industriei farmaceutice în realizarea politicilor naționale de sănătate</i>	2006	8
7.	Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, Oradea	<i>Adaptarea farmaciei în vederea integrării în Uniunea Europeană</i>	2006	20
8.	Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, Oradea	<i>Tratamentul hipertensiunii arteriale. Diuretice de actualitate</i>	2006	8
9.	Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, Oradea	<i>Actualități în homeopatie</i>	2005	10
10.	Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, Oradea	<i>Perspective în practica farmaceutică</i>	2005	30
11.	Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, Oradea	<i>Farmacogenomica și terapia genică</i>	2004	10
12.	Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, Oradea	<i>Actualități în fitoterapie și legislație</i>	2004	40
13.	Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, Oradea Spitalul Clinic Județean Oradea	<i>Protecție cardiovasculară cu simvastatin. Implicațiile Oxford Heart Protection Study</i>	2002	8

14.	Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, Oradea	<i>HDL colesterolul și factorii de risc coronarian. Noutăți în prevenția și tratamentul aterosclorozei</i>	2001	15
15.	Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, Oradea	<i>Actualități în practica farmaceutică</i>	2001	10

„IULIU HATIEGANU” UNIVERSITY OF MEDICINE
AND PHARMACY, CLUJ-NAPOCA
THE FACULTY OF PHARMACY

TÜNDE-SAROLTA HORVATH

**THE ANALYSIS OF THE OLIGOELEMENTS
CONTENT OF SOME
NATIVE PLANTS
(AESCULUS HIPPOCASTAMUM L.)**

Scientific coordinator: **Prof. Dr. ELENA CUREA**

THE SUMMARY OF THE MASTER'S DEGREE PAPER

Cluj-Napoca
2009

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION.....	pag.1
--------------------------	--------------

STAGE OF KNOWLEDGE

Chapter I.: OLIGOELEMENTS IN BIOSPHERE: Cu, Zn, Mn, Cr, Ni, Cd și Pb

I.1. General facts on oligoelements.....	3
1.1. Oligoelements in the soil.....	3
1.2. Oligoelements in the water and in the air.....	3
1.3. Oligoelements in the plants.....	5
1.4. Oligoelements in the food.....	6
I.2. Copper: biological importance, interrelations and sources.....	8
I.3. Zinc: biological importance, interrelations and sources.....	12
I.4. Manganese: biological importance, interrelations and sources.....	18
I.5. Chromium: biological importance, interrelations and sources.....	22
I.6. Nickel: biological importance, interrelations and sources.....	26
I.7. Cadmium: biological importance, interrelations and sources.....	29
I.8. Lead: biological importance, interrelations and sources.....	36

Chapter II.: SEMIMICROANALYTICAL METHODS OF DETERMINING THE OLIGOELEMENTS IN ORGANIC AND INORGANIC COMBINATIONS

II.1. General facts.....	42
II.2. The stages of the Analysis.....	42
II.3. Spectrometric Methods of Analysis.....	43
3.1. Atomic Absorption Spectrometry: the method principle.....	44
3.2. Atomic Absorption Spectrometry: the qualitative and quantitative analysis.....	46
3.3. Other Semimicroanalytical Methods.....	46

PERSONAL CONTRIBUTIONS

Chapter III.: GENERAL STUDIES ON *AESCULUS HIPPOCASTUM L* TREE . (ORIGINATING FROM BIHOR COUNTY, ROMANIA)

III.1. Short history.....	49
1.1. Spreading area.....	50
III.2. Botanical and morphofunctional characterization.....	53
2.1. Systematic framing.....	54
2.2. The description of the <i>Aesculus hippocastaum L.</i> – anatomy and morphology.....	55
2.3. Macroscopic characterization.....	57
2.4. Microscopic characterization of some vegetal tissues.....	59
III.3. Phytotherapy, biotherapy, ways to use.....	61
3.1. Action and ways to use.....	63
III.4. Toxicity.....	69

Chapter IV: EXPERIMENTAL DATA CONCERNING THE CHEMICAL COMPOSITION OF SOME AERIAL PARTS OF *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*

IV.1. The chemical composition of some aerial parts of <i>Aesculus hippocastanum L.</i> generalities.....	71
IV.2. Microchemical determination on tissues of <i>Aesculus hippocastanum L.</i> buds and seeds	77
2.1. Methods of identifying some groups of chemical compounds.....	77
IV.3. Extracting and identifying the saponosides of <i>esclus hippocastanul L</i> seeds.....	79
3.1. The extraction of saponosides from <i>Aesculus hippocastanum L.</i>	80
3.2. Identifying the saponosides extracted from Hippocastani Semen	81
3.3. Cytotoxicity of saponosides extracted from <i>Aesculus hippocastanum</i>	85

3.4. Determination of the action of the extracted saponosides on the mitotic cellular division.....	87
3.5. Conclusions.....	92

Chapter V: ANALYTICAL STUDIES REGARDING THE ESTABLISHMENT OF OLIGOELEMENTS CONTENT FROM SOME AERIAL PARTS OF THE *AESCULUS HIPPOCASTANUM L* TREE.

V.1. Work hypothesis.....	95
V.2. Choosing the method of separation, extraction and quantitative determination of the microelements from vegetal samples.....	96
2.1. The preliminary stages of the analysei and working methods.....	96
V.3. Atomic absorption spectrometry in flame (AASF) - method of establishing the oligoelements from leaves, flowers and fruits of <i>Aesculus hippocastanum L.</i> (wild chestnut tree).....	103
3.1. Theoretical data.....	103
3.2. The measurement method and the device used.....	104

Chapter VI: THE ESTABLISHMENT OF THE ESSENTIAL OLIGOELEMENTS (*Cu, Zn, Mn, Cr*) FROM THE LEAVES, FLOWERS AND FRUITS OF *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*

VI.1. Establishing the Copper.....	114
1.1. Copper – physico-chemical and biological characterization.....	114
1.2. Materials and method.....	114
1.3. Preparation of the vegetal samples.....	115
1.4. The Atomic Absorption Spectrometry: establishing the device's parameters.....	116
1.5. Working method.....	116
1.6. Results and discussions.....	118
1.7. Conclusions.....	121
VI.2. Establishing the Zinc.....	122
2.1. Zinc - physico-chemical and biological characterization.....	122
2.2. Materials and method.....	123
2.3. Preparation of the vegetal samples.....	123
2.4. The Atomic Absorption Spectrometry: establishing the device's parameters.....	123
2.5. Working method.....	124
2.6. Results and discussions.....	125
2.7. Conclusions.....	128
VI.3. Establishing the Manganese	129
3.1. Manganese - physico-chemical and biological characterization.....	129
3.2. Materials and method.....	130
3.3. Preparation of the vegetal samples.....	130
3.4. The Atomic Absorption Spectrometry: establishing the device's parameters.....	131
3.5. Working method.....	131
3.6. Results and discussions.....	133
3.7. Conclusions.....	136
VI.4. Establishing the Chromium.....	137
4.1. Chromium - physico-chemical and biological characterization.....	137
4.2. Materials and method.....	138
4.3. Preparation of the vegetal samples.....	138
4.4. The Atomic Absorption Spectrometry: establishing the device's parameters.....	138
4.5. Working method.....	139
4.6. Results and discussions.....	140
4.7. Conclusions	143

Chapter VII: THE ESTABLISHMENT OF NON-ESSENTIAL OLIGOEEMENTS (*Ni, Cd, Pb*) FROM THE LEAVES, FLOWERS AND FRUITS OF *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*

VII.1. The harmful effect of the chemical effluents on the vegetal and animal ecosystems.....	143
VII.2. Establishing the Nickel.....	145
2.1. Nickel - physico-chemical and biological characterization.....	145

2.2. Materials and method.....	145
2.3. Preparation of the vegetal samples.....	146
2.4. The Atomic Absorption Spectrometry: establishing the device's parameters.....	147
2.5. Working method.....	147
2.6. Results and discussions.....	149
2.7. Conclusions.....	152
VII.3. Establishing the Cadmium.....	153
3.1. Cadmium - physico-chemical and biological characterization.....	153
3.2. Materials și method.....	153
3.3. Preparation of the vegetal samples.....	154
3.4. The Atomic Absorption Spectrometry: establishing the device's parameters.....	155
3.5. Working method.....	155
3.6. Results and discussions.....	157
3.7. Conclusions.....	160
VII.4. Establishing the Lead.....	161
4.1. Lead - physico-chemical and biological characterization.....	161
4.2. Materials and method.....	161
4.3. Preparation of the vegetal samples.....	162
4.4. The Atomic Absorption Spectrometry: establishing the device's parameters.....	162
4.5. Working method.....	163
4.6. Results and discussions.....	163
4.7. Conclusions.....	164
Chapter VIII: THE ESTABLISHMENT OF SOME OLIGOELEMENTS FROM THE POLLEN OF <i>AESCULUS HIPPOCASTANUM L.</i>	
VIII.1. Characterization of the climatic conditions in the Bihor county and their influence on the metal pollution.....	165
VIII.2. The method and the establishment technique of the oligoelements: Cu, Zn, Mn, Cr, Ni, Cd, Pb From pollen.....	168
2.1. Materials and method.....	168
2.2. Preparation of the vegetal samples.....	168
2.3. The Atomic Absorption Spectrometry: establishing the specific parameters and calibrating the device.....	169
2.3.1. <i>The execution of the establishments</i>	170
2.3.2. <i>The measurement of concentrations</i>	170
2.3.3. <i>Results</i>	171
2.4. Conclusions.....	172
CONCLUSIONS.....	174
BIBLIOGRAPHY.....	180

Key words: Oligoelements, copper, zinc, manganese, chromium, nickel, cadmium, lead, *Aesculus hippocastanum* L., flowers, leaves, fruits, pollen, atomic absorption spectrometry, dosing, µg/g dry vegetal product

INTRODUCTION

The quantification of oligoelements in some plants represents a current subject for researchers on a worldwide level; they appeal to analytical methods of great performance, thus managing to overpass the difficulties connected to isolating the elements in the organic mould and protecting them by avoiding the losses through oxidation or the overdosing through pollution.

The atomic absorption spectrometry is the method that gives excellent results in the establishment of microelements. The speed and sensitivity of this method has led to its use in many laboratories, for a great number of tests.

The subject approached in this paper develops researches regarding the identification and quantification of the essential oligoelements (Copper, Zinc, Manganese, Chromium) and of the non-essential ones (Nickel, Cadmium, Lead) from the different aerial parts (leaves, flowers, fruits, pollen) of the native wild chestnut tree, experimental data related to the environment where it grows (Oradea and Adoni; Bihor county)

STAGE OF KNOWLEDGE

Chapter I.: OLIGOELEMENTS ÎN BIOSPHERE: Cu, Zn, Mn, Cr, Ni, Cd și Pb

The term „oligoelements” is attributed to the elements that are present in infinitesimal quantities, having a biocatalytical function and being apt to interfere in a biochemical way in the improvement of the vital function [1]. Since the oligoelements play a crucial vital role: the catalyser role or coenzyme in numerous metabolic ways, the deep deficits of humans can diminish vitality, resistance to aggressions (immunological answer) and to different diseases. In this chapter we present the oligoelements concentrations in soil, water and plants, reference data for the evaluation of the results obtained by us in the establishing the oligoelements present in the aerial parts of the *Aesculus Hippocastanum* L., originating from Bihor county.

The most important microelements are: Copper, Zinc, Manganese, Chromium, Iron, Boron, Strontium, Barium, Lithium, Molybdenum, Arsenic, Vanadium, Rubidium, being presented in quantities between 0,00001 and 0,001% of the dry substance of the plant.

Chapter II.: SEMIMICROANALYTICAL METHODS OF ESTABLISHING THE OLIGOELEMENTS IN ORGANIC AND INORGANIC COMBINATIONS

The choice of analyses methods must take into account a series of parameters: the detection limit, sensitivity, exactness and the precision of the method; thus the absorption spectrometry correspond to a great extent, to the exigencies in the microanalyses area.

The literature data - regarding the analytical methods used for the establishment of small quantities of inorganic analits from the organic vegetal mould – are shortly presented.

The analytical method mentioned for the establishment of the microelements in plants must be selective, sensitive and specific and are preceded by a series of operations to separate and extract the analit from vegetal mass.

PERSONAL CONTRIBUTIONS

Chapter III.: GENERAL STUDIES ON *AESCULUS HIPPOCASTUM* L. TREE (ORIGINATING FROM BIHOR COUNTY, ROMANIA)

The name *Aesculus* (deriving from esca – food) has been first given to an oak species, which according to *Pliny* was highly appreciated for its acorns, but it is not known why the name was later transferred to the wild chestnut tree; perhaps, as *Loudon* suggests, the name

was given ironically because the external part of its leaves ressemble very well those of the edible chestnut tree, but they aren't edible [70, 71, 72]



Aesculus hippocastanum L.

In our country, the wild chestnut tree usually grows in cities, in parks, by the side of the roads and alleys and in some forests and are especially planted to provide nourishment for deer and wild boars. In Bihor county (**Oradea, Adoni**, Madaras, Cighis, Salonta, Sacuieni, Tinca, Cetariu), grows *Aesculus hippocastanum L.*, the wild chestnut tree, with a height that can reach 30 meters and corresponds to the following floral formula:



The wild chestnut tree (*Aesculus hippocastanum L.*) has opposite, fan-shaped leaves, bisexed zygomorphic flowers, grouped in big panicles, whose corolla has uneven petals, a little crenelated. The trunk is very straight, the bark is smooth, of grey-greenish colour. The buds are the biggest ones in the species of the Romanian flora, they come to 3-8 cm and are protected by a gluey substance, that sometimes develops within three or four weeks. The seeds are whole, healthy, with a brown skin, the core is white, slightly cream-coloured, with no smell and a bitter taste.

The researchers' interest for this plant has, however, lead to the obtaining of a chestnut extract, used for the treatment of the best sold product obtained from plants, being on the third place, after *Ginkgo biloba L.* and *Hypericum perforatum L.*. In Japan, in order to reduce the postoperative or posttraumatic swells, they use an injectable form obtained from chestnut, but this product is not available in the U.S.A.

The pharmaceutical-dynamic action of all the wild chestnut extracts is due mainly to the presence of the triterpenic saponosides, which have an anti-oedematic and an anti-inflammatory action, whereas the flavonoids are venous vasoconstrictors and with an activity of P factors [86, 87, 88].

The *Aesculus hippocastanum L.* tree that grows in this transilvanian area has been studied through the appropriate method and technique of investigation, in order to be characterized from a botanical and morphofunctional point of view. The microscopic diagnoses on transversal, longitudinal and radial sections at the level of the bark, or on the powder from the chestnut dry buds and seeds, have contributed to the identification of anatomical acknowledgement elements and of systematic framing of the studied species.

Chapter IV: EXPERIMENTAL DATA REGARDING THE CHEMICAL COMPOSITION OF SOME AERIAL PARTS OF *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*

Through a microchemical exam, the chemical compound of the vegetal product have been identified, directly in the tissues' cells by the help of some specific reactions. Taking into consideration the selective character of these reactions, the histochemical exam that has been

done on sections (transversal or longitudinal) has allowed the localization of some active principles in the studied vegetal parts (Hippocastani Turiones and Hippocastani Semen).

The saponosides have been identified due to their tensionate-active characteristics through the foaming test and due to the haemorrhagic characteristics (through the hemolysis of a gelatine-blood test). The structure of the nucleus can be identified using the reaction Liebermann-Burchard. As there are also other substances which foam (poliuronides) or which hemolyse the erythrocytes (the lecithin, soaps, volatile oils, amines), only the positive results combined with the Liebermann-Burchard reaction characteristic to the aglycones can specify the existence of saponosides. The foaming test is executed on an 1% infusion obtained from the dry, pulverized chestnut seeds, that will be stirred for 15 seconds in a test-tube with a diameter of 16 mm. A column of foam is formed and persists for at least 15 minutes.

In the biotest made on the caryopsis of *Triticum aestivum L.*, the values of the inhibition coefficients overpassed the minimum-limit value of 50%. All the solutions tested have proved an intense action of inhibition of the germination process. The value obtained is directly proportional to the concentration of the tested solution. These results have imposed taking the test for monitoring the action of the saponosides on cellular level, more exactly during the cellular division.

The influence of different compounds at microscopical level is very easy to watch by determining the action on the mitotic cell division. This type of establishment is motivated by the chromosomes' characteristic to differentiate themselves during cellular division, that is why, for their highlighting, tissues with numerous divisions such as radicle meristems (apical tissues) are used. The working method is the fast one, of highlighting the mitotic and meiotic chromosomes at plants [114]. Through this DNA method, they are colored selectively, while the other cellular components are not colored. To intensify the color, the microscopic preparations will be exposed in acetic orcein ®. According to the results of the microscopic examination, the *Aesculus hippocastanum L.* solutions influence the cellular division in strict connection to the solutions' concentration

Chapter V: ANALYTICAL STUDIES REGARDING THE ESTABLISHMENT OF OLIGOELEMENTS CONTENT OF SOME AERIAL PARTS OF THE *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.* TREE

In our research different aerial parts of *Aesculus hippocastanum L* (wild chestnut tree) have been drawn, from two areas (Oradea – in the center and Adoni – Bihor county) in the same periods of time in 2005, 2006, 2007. For the quantitative analyses of the oligoelements, in the obtained extracts, the method of atomic absorption spectrometry AAS was used, the method that corresponds to the level of sensitivity and specificity that the analyses of these elements requires in marks, in the vegetal samples that we studied.

The factors that influence in a decisive way the results of the determinations:

- the method of separation and extraction of the active element in the vegetal samples
- the method of analysis

In order to obtain the determination, the vegetal samples are drawn, dried and shredded in appropriate conditions and are submitted to mineralization operations (acid moist oxidation), extracted with solvents and prepared in order to be introduced in the spectrometer device.

The device used: GBC AVANTA atomic absorption flame spectrometer. The parameters of the device: flame air/acetylene, substance correction with deuterium lamp, the length of the burner being 10 cm, optical system with double fascicle. The command of the device and the data processing is done using the *AVANTA* software.

The calculus of the concentrations is done as follows:

$$\text{Oligoelement } (\mu\text{g/g}) = (A-M) \times V/m$$

where:

A and M – values read on the device screen for exhibit A and for the witness (M=0)

V – the volume of the quoted balloon in which the exact measured exhibit was weighed
(50)

m – the powder quantity of measured vegetal material (0,2 g)

Chapter VI: THE ESTABLISHMENT OF THE ESSENTIAL OLIGOELEMENTS (Cu, Zn, Mn, Cr) FROM LEAVES, FLOWERS AND FRUITS OF *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*

The establishment of **Copper** from leaves, flowers and fruits of *Aesculus hippocastanum L.*, through AAS method shows a decrease of Cu concentration in the period 2005 > 2006 > 2007; higher average concentrations in flowers 175,34 µg/g (Oradea) and 25,56 µg/g (Adoni) in 2005 > 2007; much lower average concentrations in Cu (µg/g) in the plant organs collected in Adoni in comparison to Oradea: for example 27,55 µg/g Cu in leaves (Oradea) in comparison to 5,98 µg/g Cu (Adoni) in 2007.

In the analysed period the **Zinc** concentration increases in 2005 < 2007 in leaves (Oradea), flowers (Adoni) and fruits (Oradea) – the average concentrations in 2005 – 2007 in leaves, flowers and fruits are higher for the trees in Oradea in comparison to those in Adoni. The average values for 2007 are situated between 60,24 µg/g (Oradea) and 45,36 µg/g (Adoni).

The **Manganese** concentrations (µg/g) decrease in 2005 – 2007 in leaves and flowers (Oradea) and increase in leaves, flowers and fruits (Adoni) and the average values in 2007 are: 28,34 µg/g (Oradea) and 71,56 µg/g (Adoni).

In the flowers, leaves and fruits of *Aesculus hippocastanum L.*, there is an unsignificant variation of **Chromium** concentrations from one year to another (2005 – 2007). The average values (µg/g) registered in the analysed period are: 86,26 – leaves, 185,49 – flowers and 189,36 – fruits (Oradea); 205,53 – leaves, 175,68 – flowers and 227,40 – fruits (Adoni). The Chromium concentrations are higher in the aerial parts of the trees in Adoni.

Table VI.2.;VI.6.; VI.10.;VI.14.: The results of the establishment of Cu,Zn, Mn și Cr (µg/g plant) content in the dry vegetal material

Vegetal material	Area / Year	Cu (µg/g plant)*	Zn (µg/g plant)*	Mn (µg/g plant)*	Cr (µg/g plant)*
LEAVES	Oradea / 2005	52,03	41,49	107,24	79,18
	Oradea / 2006	40,25	49,25	76,10	84,27
	Oradea / 2007	27,55	58,30	18,88	95,35
	Adoni / 2005	19,87	27,64	46,26	220,37
	Adoni / 2006	13,70	37,10	81,23	203,65
	Adoni / 2007	5,98	46,78	119,70	192,58
FLOWERS	Oradea / 2005	175,34	110,28	61,79	200,25
	Oradea / 2006	113,30	100,10	56,08	180,79
	Oradea / 2007	44,58	94,40	54,00	175,45
	Adoni / 2005	25,56	46,10	40,43	197,14
	Adoni / 2006	18,04	59,20	67,13	179,21
	Adoni / 2007	7,73	75,62	86,65	150,68
FRUITS	Oradea / 2005	16,68	21,73	11,28	181,70
	Oradea / 2006	20,03	25,33	12,01	187,25
	Oradea / 2007	27,08	28,03	12,13	199,13
	Adoni / 2005	18,65	53,90	6,32	183,68
	Adoni / 2006	14,14	37,77	7,25	227,13
	Adoni / 2007	9,33	13,68	8,32	271,40

* - the arithmetic average of a number with 3 determinations (n=3)

Chapter VII: THE ESTABLISHMENT OF NON-ESSENTIAL OLIGOELEMENTS (Ni, Cd, Pb) FROM LEAVES, FLOWERS AND FRUITS OF *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*

The results show an alarming aspect: the **Nickel** concentrations ($\mu\text{g/g}$) compared to those from literature (150 – 350 $\mu\text{g/g}$ for green vegetals) are situated high above these values. Thus, between 2005 – 2007, the average values rise significantly, the highest ones being observed in fruits: 536,51 $\mu\text{g/g}$ (Oradea) and 568,59 $\mu\text{g/g}$ (Adoni) and the lowest ones in leaves: 266,78 $\mu\text{g/g}$ (Oradea) and 374,13 $\mu\text{g/g}$ (Adoni). In conclusion, at the trees in Adoni, the Nickel concentrations are slightly higher, even though the pollution degree in the region is lower.

According to the surveys of some authors [24,56,58,61] the **Cadmium** concentration from plants is situated between 0,027 $\mu\text{g/g}$ – 0,070 $\mu\text{g/g}$, higher in the areas that are industrially contaminated. In the samples that we analyzed (leaves, flowers and fruits of *Aesculus hippocastanum L.*) we can notice a decrease of concentrations between 2005 – 2007 both in Oradea and Adoni. Even though in 2007 average values of 0,744 $\mu\text{g/g}$ (Oradea) and 0,236 $\mu\text{g/g}$ (Adoni), concentrations are 10 times higher than the values presented in literature. In 2007, these values are situated below those from 2005.

The establishment of **Lead** from the same samples has not shown an adequate level of sensitivity because of the lack of some standards. It may be concluded that Lead is present in concentrations below 1 $\mu\text{g/g}$ in 2007 in all the aerial parts. An increase of Pb (0,40 – 1,00 $\mu\text{g/g}$) has been observed between 2005 < 2007.

Table VII.1.;VII.5.; VII.9.: The results of the establishment of the Ni, Cd, and Pb content ($\mu\text{g/g}$ plant) in the dry vegetal material

Vegetal material	Area / Year	Ni ($\mu\text{g/g}$ plant)*	Cd ($\mu\text{g/g}$ plant)*	Pb ($\mu\text{g/g}$ plant)*
LEAVES	Oradea / 2005	198,65	1,070	< 0,400
	Oradea / 2006	271,25	1,057	< 0,800
	Oradea / 2007	330,43	1,025	< 1,000
	Adoni / 2005	187,13	1,460	< 0,400
	Adoni / 2006	403,67	0,935	< 0,800
	Adoni / 2007	531,58	0,191	< 1,000
FLOWERS	Oradea / 2005	192,27	3,020	< 0,400
	Oradea / 2006	398,02	2,061	< 0,800
	Oradea / 2007	503,65	1,182	< 1,000
	Adoni / 2005	195,64	1,003	< 0,400
	Adoni / 2006	297,16	0,679	< 0,800
	Adoni / 2007	428,20	0,325	< 1,000
FRUITS	Oradea / 2005	520,30	0,202	< 0,400
	Oradea / 2006	535,15	0,112	< 0,800
	Oradea / 2007	554,08	0,025	< 1,000
	Adoni / 2005	489,97	1,403	< 0,400
	Adoni / 2006	529,27	0,781	< 0,800
	Adoni / 2007	686,53	0,194	< 1,000

* - the arithmetical average of a number with 3 determinations (n=3)

Chapter VIII: THE ESTABLISHMENT OF SOME OLIGOELEMENTS IN THE POLLEN OF *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.*

The samples of Oradea are approximately 5 times more concentrated in **Copper** and 4 times more concentrated in **Chromium** compared to those in Adoni; the **Zinc** and **Manganese** concentration are highly superior in the samples from Adoni.

The non-essential oligoelements **Ni**, **Cd** and **Pb** are found in pollen, in significant concentrations; the pollen from the samples of Oradea compared to those from Adoni show an increase of Nickel of approximately 3 times and of Cadmium 7 times, and the Lead in both cases is below 1 $\mu\text{g/g}$ dry pollen.

CONCLUSIONS

A high number of bibliographical data offer the necessary arguments and also explain the opportunity of approaching this study on *Aesculus hippocastanum L.*, present in two areas of Bihor county (Oradea and Adoni), which has not been studied from the point of view of its oligoelements content.

The *Aesculus hippocastanum L.* Tree, which grows in this transilvanian area has been studied through appropriate methods and techniques of investigation, in order to be characterized under its *botanical* and *morphofunctional* aspect and its *chemical composition*.

The identification and dosing of the essential oligoelements (Cu, Zn, Mn, Cr) and the non-essential ones (Ni, Cd, Pb) from the aerial parts (leaves, flowers, fruits, pollen) of *Aesculus hippocastanum L.*, from Bihor county, has been accomplished through a highly-performance method: the atomic absorption spectrometry.

The oligoelements absorbed by plants in general as ions, migrate towards the aerial parts of plants. The quantitative proportion of the chemical elements in the plants' body varies and depends on their concentration in soil, on the metal type, vegetal species and on the plant organ.

With the help of this modern method - the atomic absorption spectrometry – AAS – we quantified these oligoelements in some aerial parts of *Aesculus hippocastanum L.* of Bihor county – Transilvania, contributing to the completion of some important data on its chemical composition and to the signaling of some levels of pollution of the air, water and soil in this part of the country

SELECTED BIBLIOGRAPHY

1. Chappuis P.: „Les oligoéléments en médecine et biologie”, Ed. Médicales Internationales, Paris, 1991
27. King J.C., Ph. D., R.D.: „Zinc” - Western Human Nutrition Research Center, University of California, Davis, 2005
31. Geerling B.J., Badart-Smook A., Stockbrügger R.W., Brummer R-JM.: „Comprehensive nutritional status in recently diagnosed patients with inflammatory bowel disease compared with population controls”, Eur.J.Clin.Nutr., 54:514-521, 2000
34. Wexler Ph.: „Encyclopedia of toxicology”, four volume, set. 1-4; National Institutes of Health, Bethesda, Second Ed, Maryland, USA, 2005
58. Bojiță M., Săndulescu R., Roman L., Oprean R.: „Analiza și controlul medicamentelor”, Vol I, II, Editura Intelcredo, Deva, 2003
59. Muntean D.L., Bojiță M.: „Controlul Medicamentelor; Metode Spectrale cromatografice și electroforetice de analiză”, Ed. Medicală Universitară “Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, 2004
64. www.elsevier.sciencedirect.com/II Farmaco, “Determination of Fe (II) and Zn (II) by spectrophotometry, atomic absorption spectrometry and ions chromatography methods in Vitrium^R”, Volume 60, pag. 459-464, 2005
102. Newal C. A., Anderson L. A., Phillipson J.D.: „Herbal Medicines; A guide for healthcare professionals”, The Pharmaceutical Press, London, 1996
104. Istudor V.: „Farmacognozie, fitochimie, fitoterapie”, Ed. Tehnoplast Company, București, vol.I., 1996
117. Roman L., Săndulescu R.: ”Chimie analitică” Vol.3., Metode de separare și analiză instrumentală, Ed. Didactică și Pedagogică, R.A. București, 118-171, 256-290, 1999
124. Roman L., Bojiță M., Săndulescu R., Muntean D.L.: „Validarea metodelor analitice”, Editura Medicală, București, 2007
132. *** Pharmacopee Europeene 6.1 ed, Editions du Conseil de l'Europe, 2008
133. *** British Pharmacopoeia, Her Majesty's Stationery Office, London, 2007
134. *** United States Pharmacopoeia, USP 30, United States Pharmacopoeia Convention Inc, Rockville Md., 2007

CURRICULUM VITAE

1. PERSONAL INFORMATION

1.1 Surname / First name: **HORVATH TÜNDE-SAROLTA**

1.2 Date and place of birth: 24th August 1975, Oradea

1.3 Address: 37 Italiana Street, Bl Z4, Sc.B, Ap.35

Telephone: 0727338084, 0359452057

E-mail: farmacia.primula@gmail.com; tundeh75@gmail.com; tundeh75@yahoo.com

1.4 Marital status: single

1.5 Current positions:

1. University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, 29 Nicolae Jiga Street,
410028, Oradea, Bihor County, telephone +4 0259 412801/110

2. S.C. HYGEA S.R.L., Primula Pharmacy, 45 Nufarului Street, Oradea,
telephone +4 0359805412

2. STUDIES

2.1 Gymnasium: General School No.16, Oradea; 1981-1989

2.2 High-school: Ady-Endre Theoretical High-school, Oradea, Chemistry-Biology profile

2.3 University: Faculty of Medicine and Pharmacy, Specialization Pharmacy, University of
Oradea;

Bachelor of Science in Pharmacy granted by “Carol Davila” University of Medicine and
Pharmacy, Bucharest; 1993-1998

3. PROFESSIONAL ACTIVITY

- ❖ October 1998- October 1999: in-service training pharmacist, S.C. HYGEA S.R.L, Hygea Pharmacy
- ❖ November 1999 - present: Chief Pharmacist, S.C. HYGEA S.R.L, Primula Pharmacy
- ❖ October 2004 - present: Assistant, Faculty of Medicine and Pharmacy, Oradea University, Department of General Pharmaceutical Sciences, Therapeutic Chemistry
- ❖ May 2005 - May 2008: Resident pharmacist, Clinical pharmacy Specialization
- ❖ starting October 14th, 2008: Specialist pharmacist, qualification awarded after passing the exam organized at “Iuliu Hatieganu” University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca
- ❖ Master degree course: Teacher training, University of Oradea, June 2008

4. SCIENTIFIC ACTIVITY

- ❖ Bachelor Degree Thesis: 2-Amino-1,3,4- thiadiazole compounds with biologic activity
Scientific coordinator: Prof. Dr. Lidia Proinov
- ❖ Doctorate: University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca - enrolled in november 2002

“The analysis of oligoelement content in some indigenous plants (*Aesculus hippocastanum L.*)”

Field: Pharmacy, Drog Analysis

Scientific Coordinator: Prof. Dr. Elena Curea

- ❖ 5 papers published in extenso in Romanian magazines - appendix 1
- ❖ 5 scientific papers published in abstract in Romania - appendix 2
- ❖ 1 scientific paper presented in abstract abroad - appendix 3
- ❖ active participation with papers at congresses and scientific manifestations- appendix 4
- ❖ 15 post-graduate courses - appendix 5

5. MEMBERSHIP IN PRESTIGIOUS SCIENTIFIC OR PROFESSIONAL ASSOCIATIONS

- ❖ Member of Romanian College of Pharmacists (1998)
- ❖ Member of Romanian Society of Chemistry (2005)
- ❖ Member of Romanian Society of Pharmaceutical Sciences (2005)

6. FOREIGN LANGUAGES

- ❖ French: Good knowledges both written and spoken
- ❖ Hungarian: Very good knowledges both written and spoken

APPENDIX 1

Papers published in extenso in Romanian magazines

Nr.	Title and authors	Volume and/or magazine	Year
1.	„Spectroscopia atomică de absorbție în analiza unor oligoelemente din produse vegetale” Tünde Horvath , Otilia Bradea, Elena Curea	Perspective în practica farmaceutică, Editura Universității din Oradea, ISBN 973-613-780-5, 79-82 pp.	2005
2.	„Analysis of oligoelements in the aerial parts of pig chestnut (<i>Aesculus hippocastanum L.</i>) using atomic absorption spectrometry” Tünde Horvath , Elena Curea, Ildiko Szabo	Farmacia Nr.4, July-August, ISSN 0014-8237, 468-474 pp.	2007
3.	„Evaluation by atomic absorption spectroscopy with flame of the content of oligoelements in the fruit of <i>Aesculus hippocastanum L.</i> ” Tünde Horvath , Elena Curea, Ildiko Szabo	Clujul Medical, Vol. LXXX 2007, Nr.2, ISSN 1222-2119, 499-504 pp.	2007
4.	„Phytobiological tests on the radicular meristem of <i>Triticum aestivum L.</i> using <i>Hippocastani Semen extractive solutions”</i> Tünde Horvath , Ildiko Szabo, Annamaria Pallag	Timișoara Medical Journal, Volume 58, Supplement 2, ISSN 1583-5251, 469-474 pp.	2008
5.	„Preliminary pharmacobotanical study on cultured <i>Pleurotus</i> species” Ildiko Szabo, Tunde Horvath , Annamaria Pallag, Simona Bungău, Amelia Lucaciu	Studia Universitatis „Vasile Goldiș”, Seria științele vieții, Ed. Vasile Goldis University Press, Arad, ISSN: 1584-2363, vol.18, 169-173 pp.	2008

APPENDIX 2

Scientific papers published in abstract in Romania

Nr.	Title and authors	Volume and/or magazine	Year
1.	„Spectrophotometry of atomic absorption in the analysis of some oligoelements on airy parts of <i>Aesculus hippocastanum L.</i> .” Tünde Horvath , Curea Elena, Bradea Otilia	The 13th National Congress of Pharmacy, Cluj-Napoca, 28-30 september, 284 pp	2006
2.	„Determination of oligoelements in <i>Hippocastani Semen</i> ” Szabo Ildiko, Pallag Annamaria, Tünde Horvath , Lucaciu Amelia, Filipoiu Dana, Bungău Simona	The 13th National Congress of Pharmacy, Cluj-Napoca, 28-30 september, 284 pp	2006
3.	„Spectrophotometric method for determination of amlodipine besylate base on Fe(III) ion's reduction properties” Otilia Bradea, Elena Curea, Tünde Horvath	The 13th National Congress of Pharmacy, Cluj-Napoca, 28-30 september, 98 pp	2006
4.	„Determinarea coeficientului de inhibiție pe meristeme radiculare de <i>Triticum Aestivum</i> sub acțiunea soluțiilor extractive de <i>Hippocastani Semen</i> ” Tünde Horvath , Ildiko Szabo, Pallag Annamaria	Zilele Medicale Orădene, Oradea 11-13 oct., 136 pp.	2007
5.	„Studiu farmacobotanic al speciilor de <i>Pleurotus</i> din cultură” Szabo Ildiko, Horvath Tünde , Nemeth S.T., Pallag A., Dobjanschi L.	Zilele Medicale Orădene, Oradea 11-13 oct., 136 pp.	2007

APPENDIX 3

Scientific work presented in abstract abroad

Nr.	Title and authors	Volume and/or magazine	Year
1.	“A szabadgyökök termelődésének hatása a mitokondriumok működésére”, Annamaria Pallag, L.Ritli, Ildiko Szabo, Mureșan Mariana, Sebastian T. Nemeth, Tunde Horvath	Erdélyi Múzeum Egyesület, Orvos és Gyógyszertudományi Szakosztály, XVIII. Tudományos Ülőszak, Oradea, 01-03 mai	2008

APPENDIX 4

Active participation with papers at congresses and scientific manifestations

1. Scientific Symposium “Pharmacy today, between promotion and research”, Victor Babes University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, 24 september 2008, poster
2. International Scientific Conference: “Zilele Academice Aradene” 18th edition, Vasile Goldis Western University of Arad, 16-18 May, 2008 - poster
3. National Conference “Zilele Medicale Oradene” - 16-19 October, 2008- communication
4. National Conference “Zilele Medicale Oradene” - 11 - 13 October, 2007-communication
5. 13th National Congress of Pharmacy, Cluj- Napoca, 28-30 September, 2006- poster
6. Scientific Symposium “Perspectives in Pharmaceutical Practice”, Oradea 10-12 March, 2005- poster

APPENDIX 5
Post-graduate courses

Nr.	Institution of Higher Education	Title of the course	Period	Hours EFC
1.	University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy Romanian College of Pharmacists	<i>Farmacotherapy in GERD and peptic ulcer</i>	2008	40
2.	Vasile Goldis Western University of Arad	<i>Zilele Academice Arădene</i>	2008	20
3.	Victor Babes University of Medicine and Pharmacy, Timisoara	<i>Pharmacy today, between promotion and research</i>	2008	24
4.	University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, Oradea	Scientific Communications Session “MEDICA 2007”	2007	20
5.	Iuliu Hatieganu University of Medicine and Farmacy, Cluj Napoca	<i>A strong pharmacy in a European Romania</i>	2006	40
6.	University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, Oradea	<i>The role of pharmaceutical industry in accomplishing national health policies</i>	2006	8
7.	University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, Oradea	<i>Pharmacy readjustment for European Union Integration</i>	2006	20
8.	University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, Oradea	<i>High blood pressure treatment. Present-day diuretics</i>	2006	8
9.	University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, Oradea	<i>Novelties in homeopathy</i>	2005	10
10.	University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, Oradea	<i>Perspectives in Pharmaceutical Practice</i>	2005	30
11.	University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, Oradea	<i>Pharmacogenomics and genic therapy</i>	2004	10
12.	University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, Oradea	<i>Novelties in Phytotherapy and Legislation</i>	2004	40
13.	University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, Oradea County Clinical Hospital, Oradea	<i>Cardiovascular protection with simvastatin. The implications. Oxford Heart Protection Study</i>	2002	8
14.	University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, Oradea	<i>HDL Cholesterol and coronary risk factors. News in prevention and treatment of atherosclerosis</i>	2001	15

15.	University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, Oradea	<i>News in Pharmaceutical Practice</i>	2001	10
-----	---	--	------	----