

**UNIVERSITATEA TEHNICĂ „GHEORGHE ASACHI”
DIN IAȘI**



SISTEME DE BIOREMEDIERE FOLOSIND TEHNICI INTEGRATE ȘI MATERIALE SUSTENABILE

Emanuel Gheorghiță Armanu

Conducător de doctorat: Prof. univ. dr. habil. ing. Irina Volf

IAȘI, 2026

SISTEME DE BIOREMEDIERE FOLOSIND TEHNICI INTEGRATE ȘI MATERIALE SUSTENABILE

Emanuel Gheorghiță Armanu

Domeniul: Ingineria Mediului

Președinte comisie doctorat: Prof. univ. dr. ing. Teodor Măluțan

Conducător de doctorat: Prof. univ. dr. habil. ing. Irina Volf

Referenți oficiali: CS I dr. ing. Gabriela Hristea

Conf. univ. dr. biolog Irina-Neta Gostin

Prof. univ. emerit dr. ing. Carmen Teodosiu

Comisa de îndrumare și
integritate academică:

Prof. univ. dr. ing. Ioan Mămăligă

Conf. univ. dr. chim. Elena Ungureanu

Șef lucrări dr. biol. Camelia Bețianu

CS II dr. ing. Marius Sebastian Secula

MULȚUMIRI

Doresc să adresez mulțumiri și profunde aprecieri tuturor celor care m-au ghidat, sprijinit și încurajat pe tot parcursul elaborării acestei teze de doctorat.

În primul rând aș dori să adresez cele mai calde mulțumiri coordonatorului meu de doctorat Prof. univ. dr. habil. ing. Irina Volf pentru sprijinul constant, îndrumarea profesională și încurajările oferite pe tot parcursul procesului de cercetare. De asemenea, aș dori să mulțumesc colaboratorilor și coordonatorilor Dr. Hermann Heipieper și Dr. Christian Eberlein pentru sfaturile, sprijinul și amabilitatea de a mă primi pentru 1 an de zile în grupul de cercetare pe care îl coordonează din cadrul Helmholtz-UFZ Leipzig din Germania. În cadrul acestei mobilități am putut să aprofundez domeniul studiat și să abordez cu încredere provocările întâlnite în realizarea tezei de doctorat.

Un gând de mulțumire le adresez lui Dr. ing. Bogdan Tofănică și CS II dr. ing. Marius Secula pentru ajutorul oferit în planificarea și efectuarea unor experimente de laborator, necesare elaborării tezei. Suportul lor practic și colaborările constante din cadrul laboratorului, dar și nenumăratele discuții științifice m-au motivat și menținut curios. De asemenea, aș dori să îi mulțumesc și lui Șef lucr. dr. ing. Cătălin Bălan pentru sfaturile și suportul oferit pe tot parcursul meu academic din Iași.

De asemenea, sunt profund recunoscător doamnei Prof. univ. dr. Olga Nunes și Dr. ing. Salomé Soares pentru oportunitatea pe care mi-au oferit-o de a efectua un stagiu de cercetare în laboratoarele pe care le coordonează din cadrul Universității Porto din Portugalia. Acest stagiu mi-a oferit șansa de a realiza o serie de noi experimente utilizând ape uzate orășenești și astfel a putea obține suficiente date pentru a-mi finaliza teza.

Mulțumesc tuturor colegilor și colaboratorilor pe care i-am avut pe tot parcursul academic, îndeosebi pentru sprijinul oferit, sfaturile constructive și disponibilitatea de a mă ajuta în orice moment. Fără implicarea lor, realizarea experimentelor și obținerea rezultatelor ar fi fost mult mai dificilă.

Distinse mulțumiri adresez referenților oficiali din comisia de evaluare și susținere a tezei de doctorat prezidată de domnul Prof. univ. dr. ing. Teodor Măluțan, alături de doamnele CS I dr. ing. Gabriela Hristea, Conf. univ. dr. biolog Irina-Neta Gostin și Prof. univ. emerit dr. ing. Carmen Teodosiu.

Aș dori să adresez cele mai speciale mulțumiri bunicilor, părinților și surorii mele pentru sprijinul, răbdarea, încrederea și încurajările necondiționate pe care mi le-au oferit de-a lungul acestor ani. Le mulțumesc pentru că m-au inspirat să merg înainte, chiar și atunci când drumul părea dificil.

CUPRINS

INTRODUCERE	8
PARTEA I: STUDII DE LITERATURĂ	17
CAPITOLUL 1. STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR ÎN DOMENIUL BIOREMEDIERII FACTORILOR DE MEDIU UTILIZÂND TULPINI BACTERIENE IMOBILIZATE PE SUPORTURI NATURALE	17
1.1. Tipuri de poluanți ce afectează calitatea factorilor de mediu.....	17
1.2. Tehnici de bioremediere utilizate pentru solurile poluate și apele uzate.....	24
1.2.1. Bioremedierea solurilor poluate.....	24
1.2.2. Bioremedierea apelor uzate.....	26
1.3. Suporturi utilizate pentru imobilizarea microorganismelor.....	28
1.3.1. Surse de materii prime utilizate pentru obținerea de suporturi de imobilizare...28	
1.3.2. Tipuri de materiale suport utilizate pentru imobilizarea microorganismelor.....	30
1.3.3. Caracteristicile fizico-chimice ale materialelor suport.....	31
1.4. Tehnici de valorificare a deșeurilor de biomasă.....	33
1.5. Tulpini bacteriene utilizate în procese de bioremediere.....	36
1.6. Metode de imobilizare a microorganismelor.....	42
1.7. Factori care influențează eficiența proceselor de bioremediere.....	45
1.7.1. Parametrii fizico-chimici ai mediului (pH, temperatură, umiditate, oxigen, salinitate).....	46
1.7.2. Interacțiuni între microorganisme și poluanți.....	47
1.7.3. Stabilitatea microorganismelor imobilizate în medii poluate.....	48
PARTEA II: CONTRIBUȚII ORIGINALE	51
CAPITOLUL 2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE	51
2.1. Materiale utilizate în cercetare.....	51
2.1.1. Biomasa lignocelulozică.....	51
2.1.2. Substanțe chimice.....	51
2.2. Metode utilizate în cercetare.....	52
2.2.1. Pregătirea probelor de biomasă.....	52
2.2.2. Metode analitice utilizate pentru analiza caracteristicilor compoziționale ale	

deșeurilor de biomasă vegetală.....	53
2.2.3. Analiza Spectroscopică în Infraroșu cu Transformată Fourier (FTIR).....	59
2.2.4. Analiza Termogravimetrică (TGA).....	59
2.2.5. Planificarea experimentală și modelarea statistică a procesului de hidrotermoliză (HTC)	59
2.2.6. Conversia deșeurilor de biomasă prin hidrotermoliză.....	60
2.2.7. Microscopia electronică de baleaj (SEM) și spectroscopia cu raze X cu dispersie de energie (EDX).....	61
2.2.8. Microscopia cu Ioni de Helium (HIM).....	62
2.2.9. Spectroscopia Raman.....	63
2.2.10. Determinarea suprafeței specifice prin metoda Brunauer-Emmett-Teller (BET)	64
2.2.11. Determinarea punctului izoelectric (pH _I) al materialului suport obținut.....	65
2.2.12. Analiza materialului suport (hidrocărbune) utilizând tehnica WEKA-plugin..	66
2.2.13. Izolarea, identificarea și cultivarea tulpinilor bacteriene.....	66
2.2.14. Analiza prin Cromatografie Lichidă de Ultra-Performanță (UPLC).....	67
2.2.15. Metoda de adsorbție pe suportul de hidrocărbune.....	67
2.2.16. Metoda de imobilizare bacteriană și evaluarea biodegradării poluanților organici	

68

CAPITOLUL 3. CARACTERIZAREA FIZICĂ, CHIMICĂ ȘI MORFOLOGICĂ A DEȘEURILOR DE BIOMASĂ LIGNOCELULOZICĂ.....

3.1. Caracterizarea fizico-chimică a biomasei lignocelulozice (SB, VSs și WSs).....	70
3.2. Evaluarea grupărilor funcționale prin spectroscopia în Infraroșu cu Transformată Fourier (FTIR) pentru deșeurile de biomasă studiate.....	73
3.3. Analiza termogravimetrică (TGA) a biomasei lignocelulozice	75
3.4. Analiza biomasei lignocelulozice prin microscopia electronică de baleaj (SEM).....	77
3.5. Analiza suprafeței specifice a biomasei lignocelulozice.....	79
3.6. Estimarea randamentului de conversie termochimică în funcție de caracteristicile chimice ale deșeurilor de biomasă lignocelulozică.....	79
3.7. Concluzii parțiale.....	81

CAPITOLUL 4. OBȚINEREA UNOR MATERIALE SUPORT NATURALE PENTRU

IMOBILIZAREA BACTERIANĂ.....	83
4.1. Studiul procesului de hidrotermoliză.....	83
4.2. Caracterizarea morfologică a hidrocarbunilor	97
4.2.1. Analiza SEM-EDX.....	98
4.2.2. Analiza porilor utilizând plugin-ul Trainable WEKA.....	100
4.3. Caracterizarea chimică, morfologică și structurală a hidrocarbunilor obținuți în condiții optime	102
4.3.1. Analiza SEM a hidrocarbunilor obținuți în condiții optime.....	102
4.3.2. Cuantificarea suprafețelor specifice pentru materialele suport obținute	104
4.4. Determinarea punctului izoelectric (pH _I).....	105
4.5. Spectroscopia Raman.....	107
4.6. Concluzii parțiale.....	109

CAPITOLUL 5. IZOLAREA ȘI IMOBILIZAREA TULPINILOR BACTERIENE PENTRU DEGRADAREA DIETIL FTALATULUI

5.1. Izolarea microorganismelor folosite în studiu.....	112
5.2. Optimizarea mediului de cultură pentru selecția bacteriană.....	113
5.3. Teste de toxicitate cu dietil ftalat (DEP).....	114
5.4. Analiza consorțiului bacterian prin microscopie electronică de baleiaj și microscopie optică	115
5.5. Pregătirea și imobilizarea culturii bacteriene pe hidrocarbune.....	116
5.6. Adsorbția dietil ftalatului de către hidrocarbune.....	117
5.7. Biodegradarea microbiană a dietil ftalatului în prezența și absența suportului poros.....	119
5.8. Concluzii parțiale.....	122

CAPITOLUL 6. EPURAREA APELOR UZATE ORĂȘENEȘTI UTILIZÂND CULTURI BACTERIENE IMOBILIZATE PE HIDROCĂRBUNE.....

6.1. Analiza morfologică a biomasei lignocelulozice și a hidrocarbunilor prin microscopia cu ioni de heliu (HIM).....	124
6.2. Adsorbția poluanților din apa uzată sintetică cu ajutorul hidrocarbunilor.....	126
6.3. Determinarea compoziției fizico-chimice și microbiologice a apelor uzate studiate.....	129
6.4. Adsorbția poluanților din apa uzată reală cu ajutorul hidrocarbunilor	132

6.5. Pregătirea și imobilizarea culturii bacteriene pe hidrocarbune.....	136
6.6. Adsorbția și eficiența de îndepărtare a poluanților utilizând celule bacteriene imobilizate pe suport de hidrocarbune în apa uzată sintetică.....	137
6.7. Adsorbția și eficiența de îndepărtare a poluanților utilizând celule bacteriene imobilizate pe suport de hidrocarbune în apa uzată reală.....	140
6.8. Concluzii parțiale.....	144

CONCLUZII GENERALE	146
---------------------------------	------------

BIBLIOGRAFIE	152
---------------------------	------------

ANEXE.....	181
-------------------	------------

A1. Curbele de calibrare pentru DEP, BPA și MB.....	181
---	-----

A2. NTPA APE UZATE ORĂȘENEȘTI	183
-------------------------------------	-----

ABREVIERI	190
------------------------	------------

LISTĂ TABELE.....	193
--------------------------	------------

LISTĂ FIGURI	194
---------------------------	------------

Notă: *Rezumatul tezei de doctorat cuprinde, într-o formă sintetică, introducerea, materialele și metodele de cercetare, o selecție a rezultatelor experimentale proprii, concluziile generale, precum și o bibliografie selectivă. La redactarea rezumatului au fost respectate aceleași notații și aceeași numerotare a capitolelor, paragrafelor, figurilor, tabelor și ecuațiilor utilizate în cadrul tezei de doctorat.*

INTRODUCERE

În ultimele decenii, contaminarea mediului cu poluanți toxici a devenit una dintre cele mai semnificative provocări cu care se confruntă umanitatea. Printre numeroșii poluanți de natură organică și anorganică, o clasă anume ridică mari îngrijorări din cauza persistenței lor în mediu, rezistenței la degradare și capacității de a se acumula în organismele vii. Acești poluanți cunoscuți ca poluanți organici persistenți (POPs) sunt substanțe hidrofobe, lipofile, semivolatile și prezintă stabilitate ridicată la degradarea chimică, fizică și fotolitică [1]. Se estimează că la nivel global au fost produse și comercializate aproximativ 31 de kilotone (kt) de POPs, cuprinzând 25 de tipuri ale acestei clase [2]. POPs includ o varietate largă de poluanți precum: pesticidele, hidrocarburile aromatice policiclice, bifenilii policlorurați, dioxinele și furanii, substanțele perfluoroalchilate și polifluoroalchilate, perturbatori endocrini, produsele farmaceutice, produsele cosmetice, etc., [3], [4], [5], [6]. Din cauza persistenței, toxicității și bioacumulării lor în lanțul trofic, POPs provoacă o gamă largă de efecte adverse florei și faunei sălbatice, vieții acvatice și populațiilor umane [7]. Prin urmare, este imperios necesar să fie luate măsuri urgente de minimizare a toxicității acestor poluanți prin dezvoltarea unor sisteme care să utilizeze tehnici și materiale sustenabile.

O abordare sustenabilă pentru degradarea acestor poluanți o reprezintă procesul de bioremediere. În acest proces este valorifică activitatea enzimatică a microorganismelor (de exemplu bacterii și fungi) sau a plantelor pentru a degrada și transforma poluanții din mediu (sol, apă și aer) sub forme mai puțin toxice [8]. Bioremedierea se poate realiza in-situ dar și ex-situ, fiecare metodă având avantajele și dezavantajele ei. Bioremedierea in situ este o metodă puțin costisitoare, sustenabilă pentru mediu, ce permite tratarea/epurarea contaminanților direct la fața locului și poate fi adaptată pentru o gamă largă de poluanți [9]. Această tehnică este dependentă de parametrii naturali (pH-ul, umiditatea, temperatura, nutrienții, etc.), având o durată relativ lungă de realizare și este limitată în profunzime (adâncime) [10]. Bioremedierea ex-situ permite un control mai precis al condițiilor de degradare și poate fi mai eficientă pentru solurile puternic contaminate dar implică costuri ridicate, poate altera flora și fauna autohtonă, și poate conduce la dispersia contaminanților în urma proceselor de excavare [11].

În procesul de bioremediere in-situ cei mai eficienți agenți de biodegradare ai poluanților, sunt bacteriile. Datorită versatilității metabolice, rezistenței și numărului mare de genuri bacteriene, acestea joacă un rol central în descompunerea și transformarea poluanților

organici, în special a celor care sunt greu de degradat prin metode chimice sau fizice convenționale [12]. Cu toate acestea, pentru ca bioremedierea să fie eficientă în diverse condiții de mediu (ostile), imobilizarea microorganismelor pe suporturi solide poate îmbunătăți stabilitatea și activitatea pe termen lung a acestora.

Imobilizarea bacteriilor pe diverse materiale suport a căpătat o atenție deosebită în ultimii ani, deoarece oferă multiple avantaje față de culturile microbiene libere. Culturile bacteriene imobilizate prezintă o stabilitate crescută, rezistență sporită la stres de mediu și pot fi reutilizate în cicluri multiple [13]. Alegerea materialelor suport adecvate este esențială pentru procesul de imobilizare bacteriană. În ultimii ani au fost studiate diverse suporturi sintetice, dar există un interes tot mai mare pentru utilizarea materialelor naturale și regenerabile pentru obținerea de suporturi (naturale) pentru culturile bacteriene. În acest sens, deșeurile de biomasă agricolă și forestieră capătă atenție datorită disponibilității și compoziției chimice valoroase.

Biomasa rezultată în urma culturilor agricole (~956 mii de tone/an) și forestiere (~444 de mii de tone/an) reprezintă o sursă ideală pentru a obține diferite bio-produse [14], [15]. Biomasa vegetală conține cantități însemnate de hemiceluloze, celuloză și lignină [2], ce pot fi valorificate pentru obținerea de materiale poroase cu proprietăți adsorbitive iar ulterior pot constitui suporturi valoroase pentru imobilizarea microorganismelor [16].

Una dintre cele mai eficiente tehnici de conversie a biomasei agricole și forestiere este hidrotermoliza [17]. Acest proces presupune conversia biomasei la temperaturi relativ moderate (180-280 °C) și presiuni ridicate în prezența apei [18]. Această metodă conduce la descompunerea structurii complexe a lignocelulozei și producerea unei faze solide, a unei faze lichide precum și a unor cantități mici de gaze [19]. Faza solidă rezultată, ce poartă denumirea generică de hidrocarbune, este un material bogat în carbon ce prezintă numeroase grupări funcționale, are o structură relativ poroasă și capacități bune de adsorbție [20].

Totodată, utilizarea deșeurilor de biomasă agricolă și forestieră, transformate prin hidrotermoliză se aliniază principiilor economiei circulare, ce presupun transformarea deșeurilor în noi materiale cu valoare adăugată, promovând sustenabilitatea și reducând folosirea materialelor de sinteză.

Obiectivul general al tezei de doctorat este elaborarea unui sistem eficient de adsorbție și biodegradare a unor poluanți organici persistenți din apele uzate prin utilizarea unor tulpini bacteriene imobilizate pe un suport sustenabil, de tip hidrocarbune.

Pentru atingerea acestui scop s-au propus următoarele obiective specifice:

- O₁: Identificarea deșeurilor de biomasă agricolă și forestieră studiate pentru obținerea de suporturi pentru imobilizare bacteriană și caracterizarea fizico-chimică, morfologică și structurală a acestora;
- O₂: Valorificarea biomasei lignocelulozice prin procesul de hidrotermoliză pentru obținerea unor materiale suport pentru microorganisme cu aplicații în bioremedierea factorilor de mediu;
- O₃: Modelarea și optimizarea parametrilor procesului de conversie pentru obținerea unui grad de conversie ridicat și a unei structuri eficiente pentru imobilizarea bacteriană;
- O₄: Identificarea și selectarea unor tulpini bacteriene capabile să degradeze poluanți organici persistenti;
- O₅: Obținerea sistemului microorganism-suport și integrarea în studii experimentale de bioremediere pentru evaluarea eficienței acestuia în condiții controlate.

Teza de doctorat este structurată în două părți, după cum urmează:

Partea I: Studiul de literatură intitulat „Stadiului actual al cercetărilor în domeniul bioremedierii factorilor de mediu utilizând tulpini bacteriene imobilizate pe suporturi naturale.

Capitolul 1, sintetizează datele disponibile din literatura de specialitate referitoare la utilizarea bacteriilor imobilizate pe suporturi naturale poroase pentru bioremedierea factorilor de mediu afectați de poluanți organici persistenti. Partea de început conține o clasificare a compușilor organici persistenti și a efectelor asupra ecosistemelor și sănătății umane, precum și a metodelor de bioremediere disponibile. Mai apoi, s-au studiat principalele surse de obținere a materialelor suport dar și posibilitățile de valorificare a deșeurilor de biomasă prin procese termochimice (hidrotermoliză). De asemenea, factorul cheie pentru dezvoltarea sistemului de bioremediere a fost identificarea unor microorganisme ce pot degrada poluanți organici persistenti. Iar în finalul primei părți au fost discutate mecanismele de imobilizare și principalii factori care influențează procesul de bioremediere.

Partea II: cuprinde contribuțiile originale, prezentate în 6 capitole, ce sunt realizate pe toată durata de cercetare din cadrul programului de pregătire prin doctorat.

Capitolul 2 prezintă utilizarea diverselor materiale și metode pentru a explora conversia biomasei lignocelulozice, imobilizarea și biodegradarea poluanților organici persistenți. Pentru început au fost prezentate metodele de caracterizare a principalilor parametri compoziționali ai biomasei agricole și forestiere, urmată de hidrotermoliză pentru a obține un hidrocarbune suport pentru imobilizarea bacteriană. Hidrocarbunele a fost analizat chimic, morfologic și structural în vederea evaluării stabilității, compoziției și compatibilității sale cu procesul de imobilizare. Tulpinile bacteriene au fost cultivate și testate pentru metabolizarea dietilftalatului, bisfenolului A și albastrului de metilen, incluzând imobilizarea acestora pe hidrocarbune, urmată de o analiză morfo-structurală. În final, analizele efectuate prin Cromatografie Lichidă de Ultra-Performanță (UPLC) au evaluat eficiența sistemului în degradarea poluanților organici persistenți, oferind o abordare integrată și concisă.

Capitolul 3 se concentrează pe caracterizarea deșeurilor de biomasă agricolă și forestieră luate în studiu. Au fost studiați parametrii compoziționali ai biomasei lignocelulozice, conform standardelor elaborate de Technical Association of the Pulp and Paper Industry (TAPPI). De asemenea, s-a realizat analiza elementală utilizând Spectroscopia de raze X cu dispersie de energie (EDX), aceasta oferind informații despre compoziția chimică a suprafeței materialelor lignocelulozice. Pentru a examina structura biomasei, s-a folosit Microscopia Electronică de Baleiaj (SEM), metodă ce a permis obținerea unor imagini de înaltă rezoluție. Spectroscopia în Infraroșu cu Transformată Fourier (FT-IR) a fost utilizată pentru identificarea grupelor funcționale prezente în biomasă, spre final apelându-se la Analiza Termogravimetrică (TGA) pentru a evalua stabilitatea termică și comportamentul de degradare al biomasei, aspecte esențiale pentru înțelegerea potențialelor sale aplicații ca suport natural pentru imobilizare.

Capitolul 4 prezintă rezultatele obținute în studiul de modelare și optimizare a parametrilor procesului de hidrotermoliză în cazul deșeurilor de biomasă. Principalii factori (temperatură, timp, raport solid/lichid) de proces au fost analizați conform unui plan experimental, această analiză permițând o mai bună înțelegere a condițiilor necesare pentru o conversie eficientă și un randament mai mare de obținere de fază solidă.

De asemenea, în acest capitol se prezintă rezultatele obținute la analiza chimică, morfologică și structurală a hidrocarbunelui. Pentru acest scop s-a determinat compoziția chimică elementală utilizând SEM-EDX, iar cu ajutorul SEM au fost obținute imagini morfo-structurale ale hidrocarbunelui. De asemenea, hidrocarbunele a fost analizat folosind izotermele de adsorbție, acestea oferind informații despre porozitate și suprafața specifică. Au fost

efectuate și teste de determinare a punctului izoelectric (pH_I) pentru hidrocarbune, teste ce arată comportamentul de încărcare al suprafeței în diferite medii de pH cât și interacțiunile cu alți compuși. O altă investigație structurală suplimentară a fost realizată prin spectroscopia Raman care a furnizat informații detaliate despre structura moleculară și caracteristicile legăturilor chimice ale hidrocarbunelui.

Capitolul 5 abordează partea de izolare, identificare și caracterizare a tulpinilor bacteriene utilizate în procesele de biodegradare. În această etapă a fost prelevată proba ce conține tulpinile bacteriene și analizată pentru a identifica tulpina de interes, utilizând secvențierea ARN-ului (RNA-Seq). A urmat o etapă de selecție bacteriană utilizând un mediu de cultură cu săruri minerale. Tulpinile bacteriene au fost testate la 1, 2, 3 și 4 mM dietilftalat (DEP), pentru a evalua rezistența tulpinilor la acest poluant. Pentru a putea analiza morfo-structural (prin SEM) aceste bacterii, s-a realizat o fixare chimică a celulelor, acest proces fiind necesar pentru a putea păstra structura peretelui celular.

În continuare, s-a studiat procesul de biodegradare a DEP-ului utilizând culturi bacteriene nepatogene (clasa S_1) imobilizate pe suporturile de hidrocarbune obținute, utilizând mediu mineral. Cultura bacteriană a fost pregătită pentru imobilizare, după ce în prealabil s-a verificat dacă celulele se aflau în starea optimă pentru acest proces. Ulterior, celulele bacteriene au fost imobilizate pe hidrocarbune, permițând o interacțiune mai eficientă cu DEP-ul. Testele de biodegradare au fost apoi realizate cu bacterii imobilizate în prezența DEP-ului la concentrații de 4, 8, 16 și 32 mM. Aceste teste au fost esențiale pentru evaluarea potențialului de degradare al bacteriilor în aceste condiții și a le compara cu celulele bacteriene libere. Au fost utilizate mai multe metode analitice pe parcursul studiilor de biodegradare, inclusiv analiza UV-VIS pentru monitorizarea absorbției și concentrației poluantului, UPLC pentru separarea și identificarea precisă a produselor de degradare și SEM pentru examinarea modificărilor morfologice ale biofilmului bacterian la diferite perioade de timp.

Capitolul 6 prezintă aplicații ale hidrocarbunelui ca suport de imobilizare pentru celulele bacteriene cu rol în degradarea unor compuși organici din apele uzate (sintetice și reale). Inițial, cultura bacteriană a fost pregătită și imobilizată pe hidrocarbune, asigurând o interacțiune optimă cu poluanții. Testele cu hidrocarbune au evaluat mai întâi capacitatea de adsorbție a poluanților (DEP, BPA și MB) din apele uzate. Apoi, culturile bacteriene imobilizate pe hidrocarbune au fost utilizate pentru epurarea apelor uzate, acestea demonstrând un potențial ridicat de biodegradare. Eficiența procesului de degradare a poluanților a fost

analizat prin Spectrofotometrie Ultraviolet-Vizibil (UV-VIS) și Cromatografie de Lichide de Înaltă Performanță (HPLC).

Teza de doctorat se încheie cu o serie de concluziile generale, ce sintetizează cele mai importante rezultate obținute privind dezvoltarea unui sistem de bioremediere sustenabil și eficient.

ACTIVITATE ȘTIINȚIFICĂ

Rezultatele obținute de-a lungul celor patru ani de activitate de cercetare științifică au fost concretizate prin:

- Elaborarea a **6 articole** publicate în reviste cotate ISI (Web of Science cu factor de impact), total **IF = 24,5**;
- Elaborarea unui **(1) articol** publicat în revistă indexată în baze de date internaționale (BDI);
- Participarea la **10 conferințe internaționale** (7 comunicări orale și 4 postere);
- **Referent științific** pentru Springer Nature Link: Applied Microbiology and Biotechnology (IF 4.3); Reviews of Environmental Contamination and Toxicology (IF 6.6) și ScienceDirect: Results in Engineering (IF 7.9);
- Efectuarea unui stagiu de cercetare de **1 an** la Helmholtz Centre for Environmental Research – UFZ din Leipzig, Germania, în cadrul programului Erasmus+ (01.11.2022-01.11.2023);
- Efectuarea unui stagiu de cercetare “Short-term Scientific Missions” (STSM) în cadrul proiectului COST: Sustainable Resource Recovery Strategies Toward Zero Waste (FULLRECO4US). Acest stagiu a fost efectuat la Universitatea din Porto, Portugalia, timp de **2 luni** (12.08.2024 – 10.10.2024);
- **Membru** în echipa proiectului "Bio-based porous materials for hydrogen storage and environmental applications" BIOPOROMAT, PN-III-P4-PCE-2021-1455;
- **Cerere de brevet**: Volf I., **Armanu G.E.**, Secula M.S., 2024, Suport natural sustenabil pentru imobilizare microbiană cu rol în bioremedierea factorilor de mediu (A natural sustainable carrier for bacterial immobilization used in bioremediation), A/00606 din 11.10.2024;
- **Medalie de argint** obținută în cadrul EUROINVENT – European Exhibition of Creativity and Innovation din 8-10 mai 2025, Iași, România. Prezentarea cererii de

brevet „Suport natural sustenabil pentru imobilizare microbiană cu rol în bioremedierea factorilor de mediu (A natural sustainable carrier for bacterial immobilization used in bioremediation)”, A/00606.

1. Lucrări științifice publicate în reviste cotate ISI (Web of Science cu factor de impact):

- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Sebastian Marius Secula, Bogdan Marian Tofănică, Irina Volf, “The impact of biomass composition variability on the char features and yields resulted through thermochemical processes” *Polymers* 2024, 16(16), 2334. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym16162334> (IF: 4.9);
- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Sebastian Marius Secula, Nicanor Cimpoeșu, Hermann Josef Heipieper, Irina Volf, “A biobased nano/micro-structured material for microorganisms’ immobilization” *Proceedings of 24th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM* 2024, 24, 3-10. DOI: [10.5593/sgem2024/6.1/s24.01](https://doi.org/10.5593/sgem2024/6.1/s24.01) (IF: 0.64);
- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Simone Bertoldi, Lukasz Chrzanowski, Irina Volf, Hermann Josef Heipieper, Christian Eberlein, “Benefits of immobilized bacteria in bioremediation of sites contaminated with toxic organic compounds” *Microorganisms* 2025, 13(1), 155. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms13010155> (IF: 4.2);
- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Simone Bertoldi, Matthias Schmidt, Hermann J. Heipieper, Irina Volf, Christian Eberlein, “Hydrochar from Agricultural Waste as a Biobased Support Matrix Enhances Bacterial Degradation of Diethyl Phthalate” *Molecules* 2025, 30, 1167. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules30051167> (IF: 4.6);
- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Marius Sebastian Secula, Christian Eberlein, Matthias Schmidt, Hermann J. Heipieper, Irina Volf, “Hydrochars from agricultural and forestry waste designed to achieve multipurpose matrices: Modeling and optimization of process parameters” *Results in Engineering*, 2025, <https://dx.doi.org/10.2139/ssrn.5336396> (IF: 7.9);
- **Emanuel Gheorghita Armanu**, Sara Ribeirinho-Soares, Christian Eberlein, Hermann J. Heipieper, Irina Volf, Olga C. Nunes, Olívia Salomé G. P. Soares, „Biomass-Derived Hydrochars as Eco-Friendly Adsorbents for Wastewater Treatment Applications”, *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 2026 (IF: 2.3);

2. Articole publicate în reviste indexate în baze de date internaționale (BDI):

- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Irina Volf “Natural carriers for bacterial immobilization used in bioremediation”, Buletinul Institutului Politehnic din Iași, 2022, Volumul 68 (72), Numărul 3. DOI: [10.5281/zenodo.7545779](https://doi.org/10.5281/zenodo.7545779).

3. Comunicări la conferințe internaționale:

- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Irina Volf “Natural carriers for bacterial immobilization used in bioremediation”, 5th International Conference of the Doctoral School, 18-20 May, 2022, Iasi, Romania, (prezentare orală);
- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Bogdan Marian Tofănică, Irina Volf, „Measurement of key compositional parameters in three type of biomass wastes in order to define the appropriate feedstock for thermochemical conversion”, 6th International Conference on Chemical Engineering (ICCE), 05-07 October, 2022, Iasi, Romania (poster);
- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Bogdan Marian Tofănică, Sebastian Marius Secula, Mamaliga Ioan, Irina Volf, „Predictive carbonaceous materials yields resulted from thermochemical conversion in relation with the main components of the feedstock”, International Chemical Engineering and Materials Symposium (SICHEM), 17-18 November, 2022, Bucharest, Romania (poster);
- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Simone Bertoldi, Zeel Chauhan, Christian Eberlein, Marcell Nikolausz, Matthias Schmidt, Hermann Josef Heipieper, Irina Volf, “Biodegradation of phthalic acid esters using immobilized bacteria on a natural carbonaceous porous material”, Annual Conference of the Association for General and Applied Microbiology (VAAM), 10-13 September, 2023, Göttingen, Germany (prezentare orală);
- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Sebastian Marius Secula, Irina Volf, “Eco-efficient hydrochar for immobilization of *Pseudomonas* species”, 12th International Conference on Environmental Engineering and Management (ICEEM), 13-16 September, 2023, Iasi, Romania (poster);
- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Simone Bertoldi, Christian Eberlein, Hermann Josef Heipieper, Sebastian Marius Secula, Irina Volf, “Immobilized bacterial cells on a natural carbonaceous material for diethyl phthalate biodegradation” 7th

International Conference of the Doctoral School, 15-17 May, 2024, Iasi, Romania (prezentare orală);

- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Sebastian Marius Secula, Christian Eberlein, Hermann Josef Heipieper, Irina Volf, “Pseudomonas canadensis immobilized on a carbonaceous material enhance plasticizer biodegradation” XXIVth International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying, Geology and Mining, Ecology and Management – SGEM 29 June-8 July, 2024, Albena, Bulgaria (prezentare orală);
- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Sebastian Marius Secula, Nicanor Cîmpoeșu, Hermann Josef Heipieper, Irina Volf, “A biobased nano/micro-structured material for microorganism’s immobilization” XXIVth International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying, Geology and Mining, Ecology and Management – SGEM 29 June-8 July, 2024, Albena, Bulgaria (poster);
- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Irina Volf, “From biomass to value-added materials: The relevance of biochar and hydrochar in bioremediation processes and circular economy framework” International Scientific Conference “Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering (NanoBioMat) 27-29 November, 2024, Bucharest, Romania (prezentare orală);
- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Olga C. Nunes, Simone Bertoldi, Christian Eberlein, Hermann J. Heipieper, Irina Volf, Olívia Salomé G. P. Soares, „Removal of pollutants from wastewater using natural adsorbents and immobilized bacterial cells”, International Conference Sustainable Resource Recovery Strategies Toward Zero Waste (FULLRECO4US), 05-07 May, 2025, Basel, Elveția (prezentare orală);
- **Emanuel Gheorghiță Armanu**, Simone Bertoldi, Christian Eberlein, Hermann J. Heipieper, Matthias Schmidt, Olívia Salomé G. P. Soares, Olga C. Nunes, Irina Volf, „A Synergistic Approach of Hydrochar-Based Materials and Immobilized Microorganisms for Organic Pollutants Removal”, International Conference on Environmental Engineering and Management (ICEEM), 17-20 September, 2025, Iași, Romania (prezentare orală).

PARTEA I: STUDII DE LITERATURĂ

CAPITOLUL 1. STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRIILOR ÎN DOMENIUL BIOREMEDIERII FACTORILOR DE MEDIU UTILIZÂND TULPINI BACTERIENE IMOBILIZATE PE SUPORTURI NATURALE

1.1. Tipuri de poluanți ce afectează calitatea factorilor de mediu

Până în prezent se cunosc aproximativ 160 de milioane de substanțe chimice ce au fost produse la nivel mondial, din care aproximativ 60 de mii sunt utilizate activ în diferite domenii de activitate [21]. Eliberarea constantă de noi compuși xenobiotici în mediu, duce la efecte pe termen scurt, mediu și lung asupra ecosistemelor naturale, sănătății umane și biodiversității globale [22].

Industrii precum cea chimică, farmaceutică, a materialelor plastice, auto, obținerii de energie, textilelor, alimentară, construcțiilor, minieră și metalurgică au un impact semnificativ asupra aerului, apei și solului, provocând daune ireversibile ecosistemelor și bunăstării umane [23], [24], [25], [26].

Poluanții organici și anorganici (Figura 1) sunt prezenți în toate mediile naturale și reprezintă riscuri accentuate de toxicitate și bioacumulare [1], [27]. Dintre aceștia, poluanții organici persistenți cunoscuți sub denumirea abreviată POPs (de exemplu: pesticide, compuși organici volatili, hidrocarburi aromatice policiclice, bifenili policlorurați, dioxine și furani, substanțe perfluoroalchilate și polifluoroalchilate, perturbatori endocrini, produse farmaceutice, produse pentru îngrijire personală, etc.), reprezintă un grad de pericolozitate ridicat datorat în principal diversității lor, persistenței în mediu și capacității de a se bioacumula de-a lungul lanțului trofic [28], [29], [30], [31]. Structura moleculară, activitatea biologică și proprietățile poluanților organici influențează direct reactivitatea, toxicitatea și comportarea lor în mediu [32].

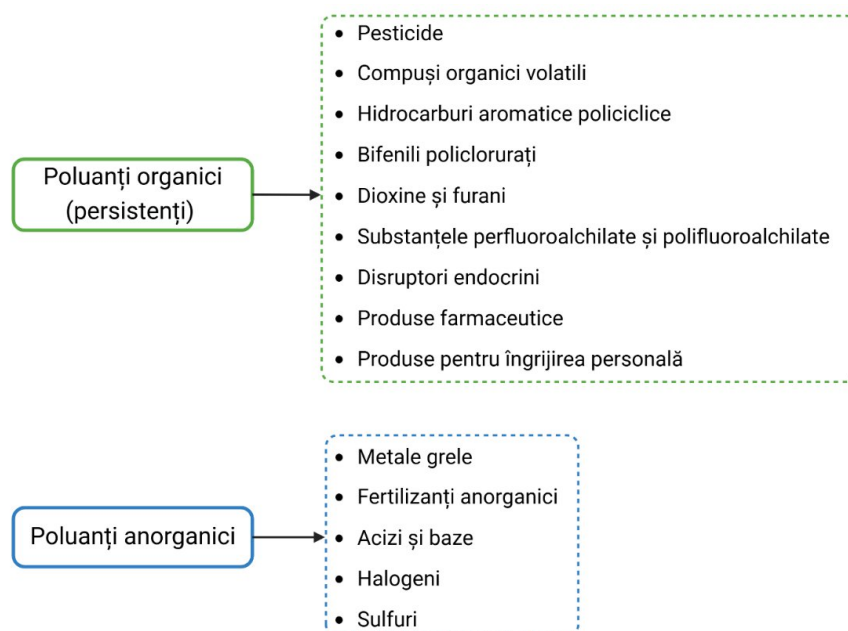


Figura 1. Principalele clase de poluanți organici (persistenți) și anorganici.

POPs sunt substanțe chimice cu o toxicitate ridicată și care rezistă degradării chimice, fizice și fotolitice [33]. Acești compuși se pot acumula rapid în toate mediile (apă, aer și sol), reprezentând riscuri serioase pentru natură și sănătatea umană [34], [35]. POPs se pot bioacumula în lanțul trofic din cauza stabilității chimice, volatilității și hidrofobicității ridicate. Aceste proprietăți cumulate pot fi ireversibile uneori, în special când este vorba de efecte ce perturbă sistemul endocrin, imunitar și cel reproducător al animalelor și omului (Tabelul 1) [33], [36], [37].

Tabelul 1. Poluanți organici persistenți: origine, producție globală, impact asupra mediului și sănătății.

Tip de poluant	Surse	Producția globală	Efecte asupra mediului și populației umane	Referințe

Pesticide	Insecticide, erbicide, fungicide, acaricide, nematocide, rodenticide, moluscide, etc.	>2,5 milioane de tone/an)	Poluarea apei și a solului; reducerea populațiilor de insecte benefice; contaminarea lanțului alimentar.	[36], [37], [38], [40], [41]
Compuși organici volatili (COV)	Emisii industriale, emisii auto, solvenți, etc.	>100 milioane de tone/an)	Poluarea aerului; formarea smogului și a ozonului troposferic.	[39], [42]
Bifenili policlorurați (PCB)	Compuși industriali, echipamente electrice, transformatoare și condensatoare, vopsele și produse de izolare.	1,5 milioane tone/ an	Contaminarea solului și apei; bioacumularea în organisme acvatice; perturbarea sistemului endocrin la animale și om.	[43], [44]
Dioxine și furani	Incinerarea deșeurilor, procese industriale.	5 tone pe an	Poluarea aerului, solului și apei; afectarea biodiversității; bioacumularea în lanțurile trofice.	[45], [46]
Hidrocarburi aromatice policiclice (PAH)	Arderea incompletă a materialelor organice, inclusiv combustibili fosili, lemn și produse din tutun.	300.000 de tone anual	Poluarea aerului și apei; formarea de sediment contaminat în mediul acvatic; afectarea vieții acvatice și a biodiversității.	[47], [48], [49]

Substanțe perfluoroalchilate și polifluoroalchilate (PFAS)	Compuși industriali, materiale rezistente la foc.	4,5 milioane de tone până în prezent	Contaminarea apei și solului; persistență pe termen lung în mediu; bioacumulare în organismele acvatice.	[50], [51], [52]
Disruptori endocrini	Pesticide, substanțe chimice, produse farmaceutice.	-	Perturbarea echilibrului hormonal la animale și om; afectarea dezvoltării și reproducerii speciilor; diminuarea biodiversității.	[53], [54], [55]
Produse farmaceutice	Produse medicale, deșeuri medicale.	100.000 de miliarde de doze (pastile, vaccinuri, etc.	Contaminarea apei și solului; perturbarea ecosistemelor acvatice, modificarea comportamentului și fiziologiei organismelor acvatice.	[56], [57], [58]
Produse pentru îngrijirea personală	Produse de uz casnic, șampon, creme, parfumuri (conțin parabenii și ftalați), etc.	100 milioane tone	Poluarea apelor și solului; perturbarea echilibrului hormonal la animale și om; contaminarea alimentelor.	[59], [60], [61], [62], [63]

1.2. Tehnici de bioremediere pentru soluri poluate și apele uzate

Bioremedierea solurilor poluate

- **In-situ:** Include biodegradarea atenuată, bioaugmentarea (introducerea microorganismelor specializate), biostimularea (adăugarea de nutrienți), bioventilarea (introducerea oxigenului) și fitoremedierea (utilizarea plantelor). Bioaugmentarea este

eficientă pentru poluanți recalcitranți, oferind rezultate rapide față de metodele mai lente precum biodegradarea atenuată sau fitoremedierea.

- **Ex-situ:** Implică excavarea solului și epurarea în sisteme controlate, precum compostarea, straturile biologice, bioreactoarele și landfarming-ul. Bioreactoarele sunt preferate pentru controlul precis al parametrilor (pH, temperatură) și eficiența ridicată în degradarea poluanților organici persistenți.

Bioremedierea apelor uzate

- **In-situ:** Utilizează bioaugmentarea, biostimularea, lagunele de stabilizare și fitoremedierea acvatică. Bioaugmentarea accelerează epurarea apelor contaminate cu hidrocarburi sau metale grele, fiind ideală pentru contaminări severe.
- **Ex-situ:** Include bioreactoare, filtre biologice, sisteme cu nămol activ și zone umede construite. Bioreactoarele oferă control ridicat și eficiență superioară, fiind potrivite pentru ape uzate industriale cu poluanți toxici.

1.3. Suporturi pentru imobilizarea microorganismelor

Materiale sintetice

Materialele precum polietilena, polipropilena, poliuretanul, poliacrilamida și silicagelul oferă stabilitate chimică și mecanică, fiind utilizate sub formă de granule, fibre sau spume. Acestea sunt durabile, dar ridică probleme ecologice datorită naturii greu biodegradabile.

Materiale naturale

Biomasa agricolă și forestieră (coji de nuci, paie, rumeguș), hidrocoloizii (alginat, agar), chitosanul și gelatina sunt biodegradabile, sustenabile și compatibile cu principiile economiei circulare. Acestea au o porozitate ridicată și capacitate de adsorbție ridicată, fiind ideale pentru procese de bioremediere.

Caracteristici fizico-chimice

Suporturile utilizate trebuie să fie chimic inerte, cu porozitate ridicată, rezistență mecanică și stabilitate termică pentru a susține eficiența și supraviețuirea microorganismelor în medii puternic poluate.

1.4. Tehnici de valorificare a deșeurilor de biomasă

Biomasa agricolă și forestieră este transformată prin procese termochimice (ardere, piroliză, gazificare, hidrotermoliză) în biocărbune, bio-uleiuri sau gaze. În urma procesului de hidrotermoliză (HTC), Figura 2, rezultă hidrocarbune, un material poros ce este utilizat ca amendament agricol, combustibil sau suport pentru microorganisme, acesta fiind eficient energetic și sustenabil pe termen lung.

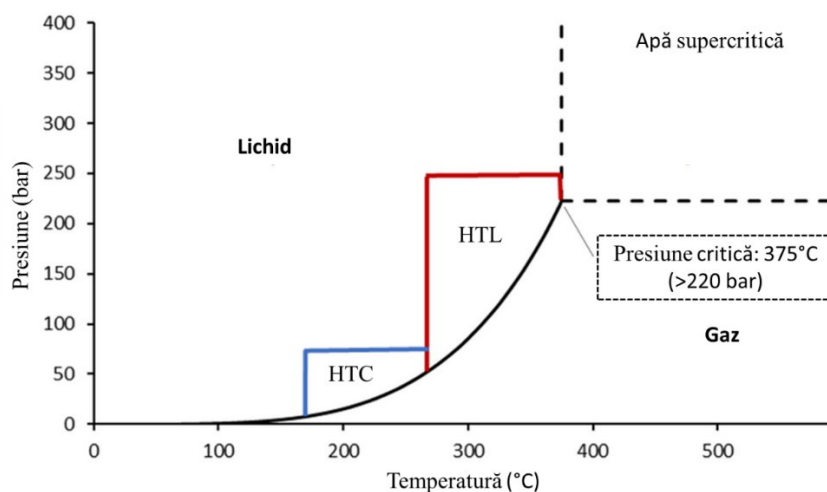


Figura 2. Variația presiunii în funcție de temperatură (HTC – hidrotermoliză; HTL – lichefiere).

1.5. Tulpini bacteriene utilizate în procese de bioremediere

Tulpini precum *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, *Microbacterium* și *Pseudomonas* degradează poluanți organici (hidrocarburi, pesticide) și anorganici (metale grele). Imobilizarea pe suporturi naturale, precum hidrocarbunele, îmbunătățește eficiența și stabilitatea acestora. *Pseudomonas* și *Microbacterium* fiind des utilizate pentru adaptabilitatea metabolică și formarea biofilmelor.

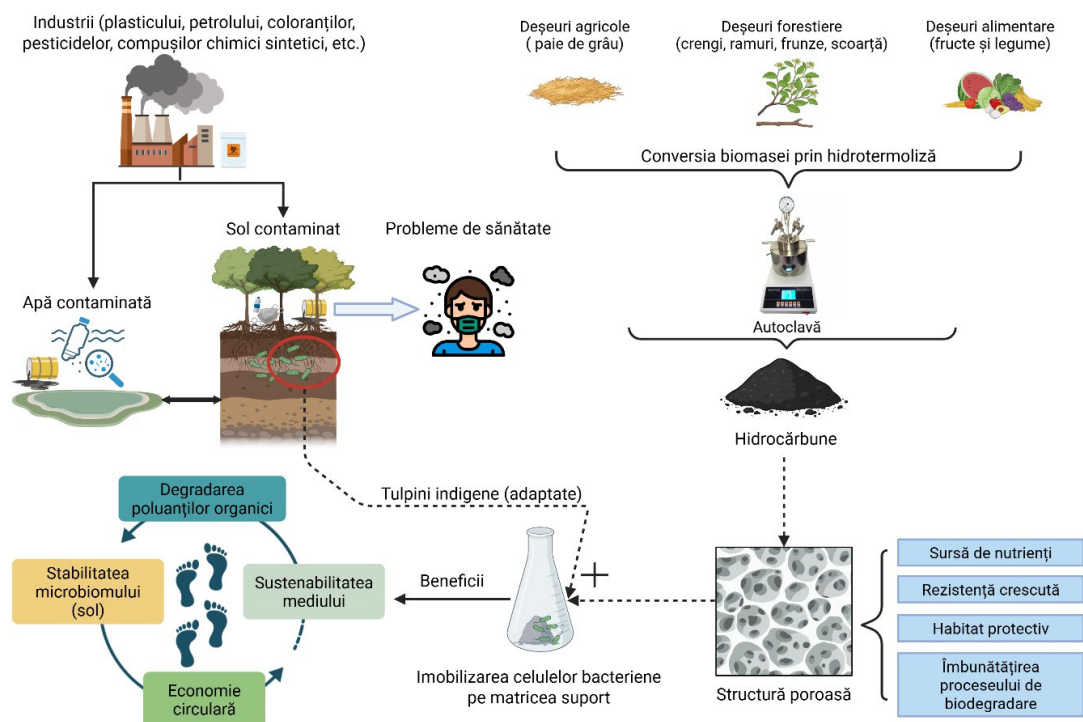


Figura 3. Utilizarea tulpinilor bacteriene în procese de bioremediere prin imobilizarea acestora pe suporturi naturale poroase.

1.6. Metode de imobilizare a microorganismelor

- **Metode fizice:** Captarea și încapsularea (de exemplu: alginat, chitosan) protejează bacteriile și permit difuzia poluanților (Figura 4).
- **Metode chimice:** Legarea covalentă și adsorbția (de exemplu: hidrocărbune) sunt eficiente, dar legarea covalentă poate afecta viabilitatea celulară. Adsorbția este economică și facilitează contactul direct cu poluanții.

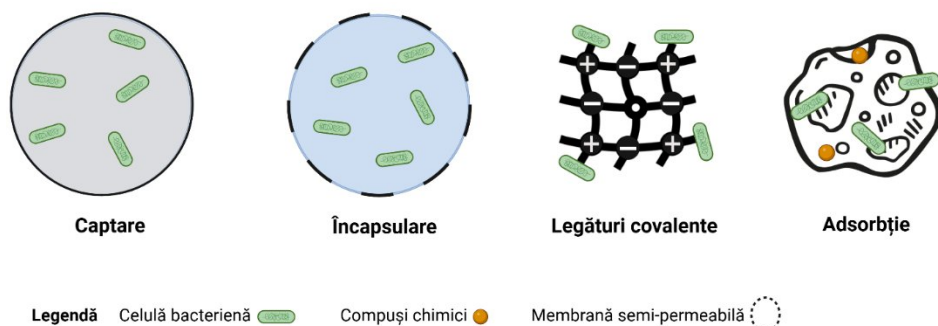


Figura 4. Principalele metode de imobilizare a celulelor bacteriene.

1.7. Factori care influențează eficiența proceselor de bioremediere

Parametri fizico-chimici: pH-ul (optim 6-8), temperatura (20-40°C), umiditatea (40-60%), oxigenul și salinitatea afectează metabolismul microbial. Condițiile extreme pot inhiba activitatea enzimatică.

Interacțiuni microorganisme-poluanți: adsorbția, bioacumularea și descompunerea enzimatică sunt mecanisme cheie. Suporturile poroase (hidrocărbune) amplifică eficiența prin concentrarea poluanților.

Stabilitatea microorganismelor imobilizate: depinde de natura poluanților, tipul suportului și condițiile de mediu (Tabelul 3). Suporturile naturale oferă protecție și stabilitate pe termen lung, optimizând bioremedierea.

Tabelul 3. Degradarea poluanților organici utilizând tulpini bacteriene imobilizate pe diverse materiale suport.

Suport	Gen bacterian	Condiții experimentale	Poluant țintă și concentrația inițială	Eficiența de degradare		Referințe
				Non-imobilizat	Imobilizat	
Biocărbune	<i>Bacillus</i>	Apă uzată	Clortetraciclină (73,75 mg/L)	66 %	83 %	[272]
Alginat de sodiu (PVA); caolin	<i>Bacillus</i>	Mediu sintetic	Trinitrotoluen (120 mg/L)	72 %	99 %	[170]
Pulbere de coajă de arahide modificată	<i>Mycobacterium</i>	Apă poluată	Piren (50 mg/L)	45 %	70 %	[273]
Biocărbune din paie de orez	<i>Mycobacterium</i>	Sol contaminat	Fenantren (50 mg/L)	43 %	69 %	[274]
Fibre de	<i>Arthrobacter</i>	Mediu	Diuron (10	86 %	99 %	[275]

nanoceluloză		îmbogățit	mg/L)			
Polistiren expandat	<i>Arthrobacter</i>	Mediu sintetic	Pentan (50 mL/500 mL)	70 %	90 %	[276]
Coji de semințe de floarea-soarelui	<i>Rhodococcus</i>	Sol	Țiței (25 g/kg)	28 %	66 %	[277]
Nanoparticule magnetice	<i>Rhodococcus</i>	Mediu îmbogățit	Clorofenol (0,50 mM)	50 %	80 %	[278]
Alginat de sodiu + alcool polivinilic	<i>Flavobacterium</i>	Sol	Azot amoniacal (50 mg/L)	25 %	>80 %	[279]
Poliuretan	<i>Flavobacterium</i>	Mediu îmbogățit	Pentaclorofenol (300 mg/L)	20 %	90 %	[280]
Alcool polivinilic (PVA)	<i>Acinetobacter</i>	Mediu îmbogățit	Fenol (1100 mg/L)	50 %	>99 %	[281]
Bioreactor cu membrană	<i>Pseudomonas</i>	Apă uzată	Fenantren (20 mg/L)	77 %	96 %	[282]
Alginat, agar și poliacrilamidă	<i>Pseudomonas</i>	Mediu îmbogățit	Etilbenzen (1 ml/L)	2 %	60 %	[283]
Biocărbune activat	<i>Pseudomonas</i>	Apă uzată	Triclocarban (10 mg/L)	32 %	80 %	[284]
Cărbune din bambus și cărbune din lemn	Consoțiu bacterian	Apă uzată	Nonilfenol (50 mg/L)	20 %	70 %	[285]
Turbă de cocos și pulbere de coji de orez	Consoțiu bacterian	Apă de mare	DDT (pesticid) (0,75 mL/150 mL)	25 %	86 %	[286]

PARTEA 2: CONTRIBUȚII ORIGINALE

CAPITOLUL 2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

Materiale utilizate în cercetare

Biomasa lignocelulozică

În acest studiu s-au utilizat trei tipuri de biomasă lignocelulozică colectată din nord-estul României (în sezonul de toamnă): coajă de molid (SB, deșeu forestier din *Picea abies*), lemn de viță de vie (VSs, din tăieri de *Vitis vinifera*) și paie de grâu (WSs, din recoltare *Triticum* spp.). Toate probele au urmat aceleași tehnici de pregătire.

Substanțe chimice

Substanțele utilizate au fost de grad analitic (Thermo Fisher, Sigma-Aldrich, Merck, VWR). Principalele includ: poluanți (DEP 99%, BPA 97%, MB 98%); solvenți (MeOH 99.9% pentru HPLC); ajustori pH (HCl 0.1 M, NaOH 0.1 M, NaCl 0.01 M); azot lichid (Praxair); extractibile (etanol-benzen 1:2, etanol 99.8%); lignină (H₂SO₄ 72%); celuloză (H₂SO₄ 3N, NaOH 17.5%, sulfat de amoniu feros 99%); holoceluloză (NaClO₂ 80%, CH₃COOH 99.7%); SEM (glutaraldehydă 2.5%, HMDS 99%, crom 99.9%); cultură bacteriană (extract de drojdie 200 mg/L).

Metode utilizate în cercetare

Pregătirea probelor de biomasă

Biomasa a fost uscată la 20-25°C (umiditate <50%) până la <10% umiditate, verificat prin cântărire (± 0.001 g). Mărunțită cu moară Retsch GM 200 (320 rpm, 20 min), apoi sitată (Retsch AS 200) în fracții: mare (1-2 cm), medie (0.5-1 cm), fină (<0.1 cm). Stocată etanș.

Metode analitice pentru analiza compoziției biomasei

Cenușă (TAPPI 211): Probă în creuzet calcinat la 585 $\pm$ 25°C (4 h, Nabertherm L3/11/B180). Carbonizare la <600°C, calcinare până la greutate constantă (± 0.1 mg).

$$\text{Cenușă (\%)} = \frac{(A \times 100)}{B} \#(1)$$

unde:

A = greutatea cenușii, g

B = greutatea materialului de testat (fără umiditate), g.

Umiditate (TAPPI 264): 2 g probă uscată la $105 \pm 3^\circ\text{C}$ (2 h inițial, apoi 1 h până constantă $\pm 0.002\text{g}$).

$$\text{Conținutul de umiditate (\%)} = \frac{(A - B)}{A} \times 100 \#(2)$$

unde:

A = greutatea inițială a probei, g

B = greutatea probei uscate adusă la pond constant, g.

Extractibile (TAPPI 204): Extracție Soxhlet cu 150 mL etanol-benzen (1:2, 4-5 h, 24 cicluri). Evaporare, uscare 105°C (1 h), corecție martor.

$$\text{Extractibile (\%)} = \left[\frac{(W_e - W_b)}{W_p} \right] \times 100 \#(3)$$

unde:

W_e = greutatea extractului uscat la cuptor, g,

W_p = greutatea materialului uscat la cuptor, g,

W_b = greutatea reziduului martor uscat la cuptor, g.

Lignină (TAPPI 222): 15/40 mL H_2SO_4 72% ($10-15^\circ\text{C}$), macerare 2 h (20°C), diluare la 3% H_2SO_4 , fierbere 4 h (100°C). Filtrare, spălare, uscare 105°C , corecție cenușă (TAPPI 211).

Celuloză (TAPPI 203): 50 mL filtrat pulpă + 50 mL H_2SO_4 3N, coagulare $70-90^\circ\text{C}$, sedimentare

8

h.

$$\text{Celuloză (\%)} = \frac{6.85 \times (V_4 - V_3) \times N \times 20}{25 \times W} \#(4)$$

unde:

V_3 = volumul consumat la titrarea soluției după precipitarea beta-celulozei, mL,

V_4 = volumul consumat la titrarea martor, mL,

N = normalitatea reală a soluției de sulfat de amoniu feros ($\text{FeSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), utilizată ca titrant, exprimată în echivalenți pe litru (e),

W = greutatea probei de pulpă uscată la cuptor, g.

Hemiceluloze: Prin diferență după extractibile (TAPPI T204), holoceluloză (Jayme-Wise: NaClO₂/acetic 70-80°C, 2 h), celuloză (TAPPI T203).

$$\text{Hemiceluloze (\%)} = \text{Holoceluloză (\%)} - \text{Celuloză (\%)} \#(5)$$

Compoziție elementală: Analizor Vario Micro (combustie 950-1200°C, TCD). O calculat indirect.

$$\text{O (\%)} = 100 - (\text{C (\%)} + \text{H (\%)} + \text{N (\%)} + \text{S (\%)} + \text{Cenușă (\%)} \#(6)$$

Analiza Spectroscopică FTIR

Spectre PerkinElmer Spectrum GX1 (ATR ZnSe, 64 scanări, 4 cm⁻¹, 4000-500 cm⁻¹). Convertite absorbantă, normalizate. HCA/PCA (Spectrum 10.6.1).

Analiza Termogravimetrică (TGA)

Mettler Toledo TGA/DSC 2 (~3 mg, 20°C/min, aer 60 mL/min, ±0.2 K). Analiză TGA-DTG (OriginPro 2019b).

Planificarea experimentală și modelarea HTC

CCD (Design Expert 7.1.5). Autoclave micro (20 bar, vase 15 mL). 1 g biomasă + apă sterilă (1:5-1:10), 230-290°C, 30-90 min (presiuni 4.4-5.5 bar). Filtrare (Whatman 11 μm), spălare, uscare 105°C (12 h). Randament: masă HC / masă inițială.

Conversia deșeurilor prin hidrotermoliză

Reactor KQSA (150 mL, 10 MPa). 10 g biomasă + 100 mL apă sterilă (1:10), 260°C/30 min (4.5 MPa), omogenizare 30 min. Răcire (gheață la 100°C). Filtrare, spălare, uscare 105°C (12 h). Triplicat.

Microscopia SEM și EDX

FE-SEM Zeiss Merlin (2 kV, 250-300 pA, secundari). Pregătire: fixare glutaraldehidă 2.5% (12 h, 4°C), deshidratare etanol, HMDS, uscare, acoperire Cr 30 nm (Leica SCD500). EDX (Bruker XFlash, 10 keV, Esprit 1.9).

Microscopia cu Ioni de Helium (HIM)

Zeiss ORION NanoFab (He⁺ 30 kV, 0.5-1 pA, 10.000-100.000×, DW 5 mm). Uscare hotă 12 h, montare bandă carbon, fără acoperire.

Spectroscopia Raman

WITec Alpha 300RA (Nd:YAG/KTP, 1064/532 nm). Benzi D/G (1370/1583 cm⁻¹) pentru carbonizare.

Suprafață specifică BET

Quantachrome Nova 4200e (N₂, cicluri degazare: 30 min 80°C, 100°C, 3 h 150°C). ~0.1 g/probă, triplicat.

Punct izoelectric (pH_I)

Metoda pH drift: 50 mL NaCl 0.01 M (pH 2-12), 0.1 g HC, agitare 150 rpm/25°C/48 h. ΔpH = pH_{final} - pH_{initial}; pHI unde ΔpH=0 (pH-metru Hanna HI 2211).

Analiza hidrocarbunilor cu WEKA

Pentru a investiga topografia suprafeței și a cuantifica structurile poroase în imaginile SEM ale SB-HC, VSs-HC, și WSs-HC a fost utilizat pluginul Trainable Weka Segmentation din ImageJ (versiunea Weka 3.8). Acest instrument bazat pe învățare automată a permis segmentarea la nivel de pixel, facilitând identificarea, clasificarea și cuantificarea porilor din probele de hidrocarbune. Parametrii din imaginile SEM au asigurat o vizualizare de înaltă rezoluție a topografiei suprafeței și a morfologiei porilor, utilizând o scală de 50 μm și o mărire constantă de 570x (interval testat: 191x până la 570x, conform metadatelor imaginilor), selectată pentru analiza porilor.

Izolarea, identificarea și cultivarea tulpinilor bacteriene

Consoțiu *Pseudomonas* spp. + *Microbacterium* sp. (biofilm poliuretan, UFZ Leipzig). Cultiv mediu mineral + extract drojdie 200 mg/L, 30°C/180 rpm, DEP ca C (2-32 mM).

$$\mu(h^{-1}) = [\ln(OD_{t1}) - \ln(OD_{t0})]/(t1 - t0) \#(7)$$

$$\text{Creșterea relativă (\%)} = [\mu_{x2mM} \times 100]/\mu_{2mM} \#(8)$$

unde,

OD = densitatea optică măsurată prin absorbție la 560 nm.

Analiza UPLC

0.5 mL cultură filtrată (0.45 μ m), +0.5 mL MeOH, vortex 5 min. 2 μ L injecție: Aquity UPLC BEH C18, 0.5 mL/min, 50:50 MeOH/apă, PAD 278 nm (Empower 3).

Metoda de adsorbție cu hidrocarburi

Batch: 20 mL S1/S2 + 5 mM poluanți (DEP/BPA/MB), 20 mg HC sterilizat (121°C/15 min). Agitare 150 rpm/30°C, probe 15 min-48 h, filtrare 0.2 μ m, 4°C. Analiză: HPLC DEP (50:50 MeOH/apă, 230 nm), BPA (75:25, 224 nm); UV-Vis MB 665 nm.

Metode de imobilizare bacteriană și biodegradare

Sisteme: libere vs. imobilizate pe 20 mg HC steril. 20 mL S1/S2 + 5 mM poluanți + 500 μ L inocul (10^8 UFC/mL). Incubare 30°C/150 rpm/48 h, probe 15 min-48 h, filtrare 0.45 μ m, 4°C. Analiză: HPLC DEP/BPA; UV-Vis MB. Triplicat, comparație eficiențe.

CAPITOLUL 3. CARACTERIZAREA FIZICĂ, CHIMICĂ ȘI MORFOLOGICĂ A DEȘEURILOR DE BIOMASĂ LIGNOCELULOZICĂ

Caracterizarea proprietăților fizice, chimice și morfologice ale biomasei lignocelulozice (coajă de molid - SB, lemn de viță de vie - VSs, paie de grâu - WsS) este esențială pentru evaluarea comportamentului acesteia în procesul de hidrotermoliză (HTC) și a randamentului hidrocarbunelui obținut. Analizele au inclus compoziția chimică (umiditate, cenușă, extractibile, celuloză, hemiceluloză, lignină) conform standardelor TAPPI, spectroscopia FTIR pentru grupe funcționale, analiza termogravimetrică (TGA) pentru degradarea termică și microscopia SEM pentru proprietăți texturale. Corelarea acestor date permite optimizarea procesului HTC și selecția biomasei pentru aplicații ca suport microbial, adsorbant sau material de stocare H/C.

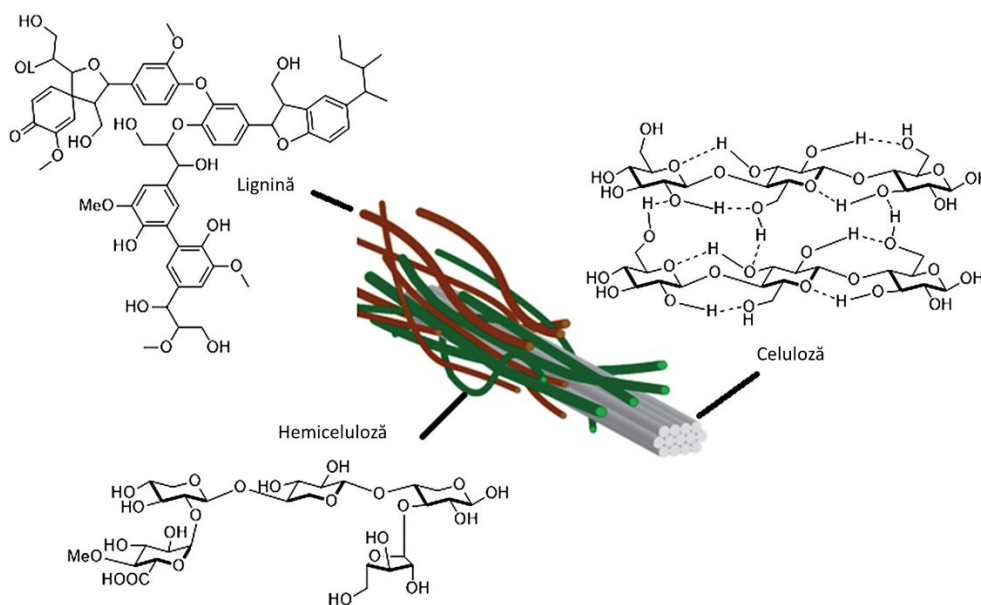


Figura 12. Structura chimică pentru celuloză, hemiceluloză și lignină [25].

Caracterizarea fizico-chimică

Analizele conform TAPPI (umiditate: T264, cenușă: T211, extractibile: T204, lignină: T222, celuloză: T203, hemiceluloză: T222/T203) au evidențiat diferențe compoziționale cu impact asupra HTC:

- **Umiditate:** SB ($9,55 \pm 0,33\%$), VSs ($7,80 \pm 0,30\%$), WSs ($7,40 \pm 0,28\%$). SB necesită mai multă energie pentru evaporare în HTC.
- **Cenușă (600°C):** WSs ($4,0 \pm 0,34\%$), SB ($2,75 \pm 0,29\%$), VSs ($2,1 \pm 0,27\%$). WSs prezintă risc de zgurificare, VSs este avantajos datorită cenușii reduse.
- **Extractibile:** SB ($9,05 \pm 0,74\%$), WSs ($5,1 \pm 0,58\%$), VSs ($2,7 \pm 0,45\%$).
- **Celuloză:** VSs ($49,30 \pm 1,03\%$), SB ($48,10 \pm 1,10\%$), WSs ($33,80 \pm 0,92\%$). VSs și SB favorizează formarea hidrocarbunelui poros.
- **Hemiceluloză:** WSs ($38,20 \pm 0,81\%$), VSs ($21,50 \pm 0,57\%$), SB ($19,75 \pm 0,53\%$). WSs este potrivit pentru HTC la temperaturi scăzute.
- **Lignină:** VSs ($24,40 \pm 0,55\%$), SB ($22,87 \pm 0,48\%$), WSs ($18,90 \pm 0,45\%$). VSs și SB favorizează bio-ulei la $>300^\circ\text{C}$.
- **Compoziție elementală:** Carbon - VSs (52,72%), SB (52,07%), WSs (51,56%); Hidrogen - SB (5,30%), VSs (5,26%), WSs (4,49%); Oxigen - WSs (43,93%), VSs (42,01%), SB (41,98%). VSs are avantaje energetice datorită carbonului ridicat. Oxigenul ridicat al WSs reduce valoarea energetică a hidrocarbunelui.
- **Oligoelemente:** Cupru (SB: 3,1 mM, VSs: 3,3 mM, WSs: 3,5 mM), Cadmiu (SB: 1,0 mM, VSs: 0,41 mM, WSs: 0,1 mM), Plumb (SB: 2,5 mM, VSs: 0,2 mM, WSs: 0,7 mM). Nivelurile scăzute reduc riscul de coroziune/toxicitate în HTC.

Spectroscopia FTIR

Spectrele FTIR (SB, VSs, WSs) au evidențiat grupe funcționale similare: -OH ($\sim 3700\text{ cm}^{-1}$, legături H), C-H/C-O ($2398\text{-}3023\text{ cm}^{-1}$, alifatic), C=O ($\sim 1860\text{ cm}^{-1}$, celuloză/lignină), C=C ($\sim 1695\text{ cm}^{-1}$, neconjugată), C-C ($1635\text{-}1060\text{ cm}^{-1}$), C-O-C ($1060\text{-}830\text{ cm}^{-1}$, legături aromatice), $\gamma(\text{C-H})$ ($\sim 858\text{ cm}^{-1}$, olefinice/aromatice). Diferențe minore indică variații în compoziția lignocelulozică.

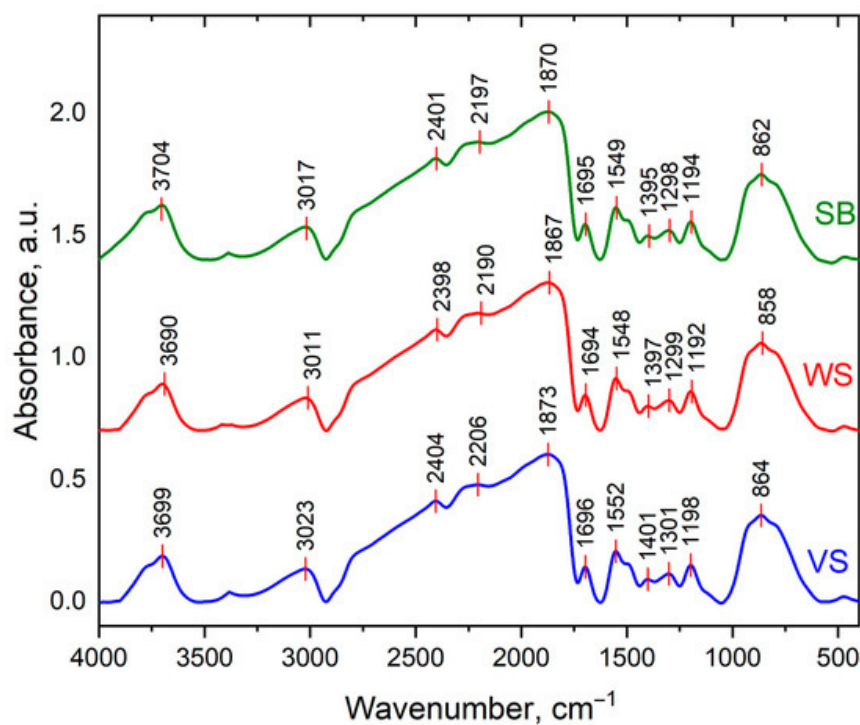
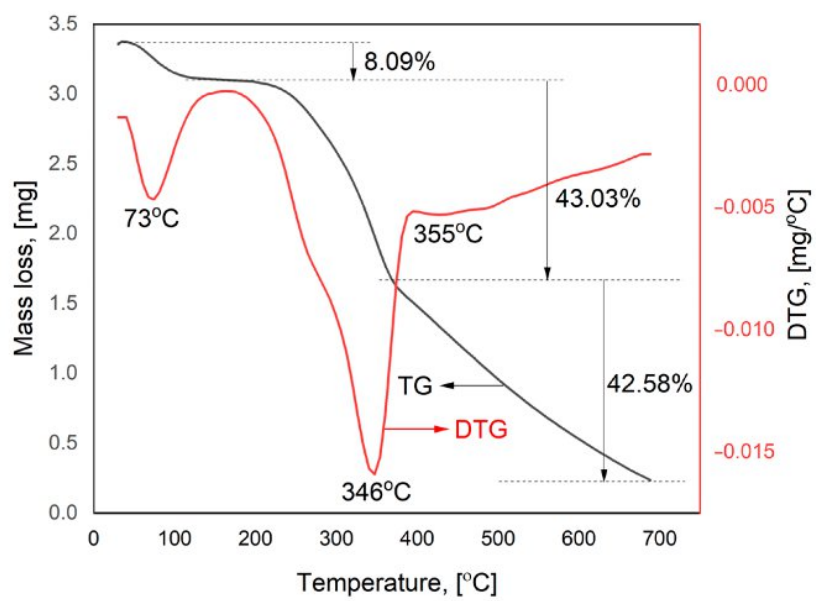


Figura 13. Spectrele FTIR pentru SB, VSs și WSs.

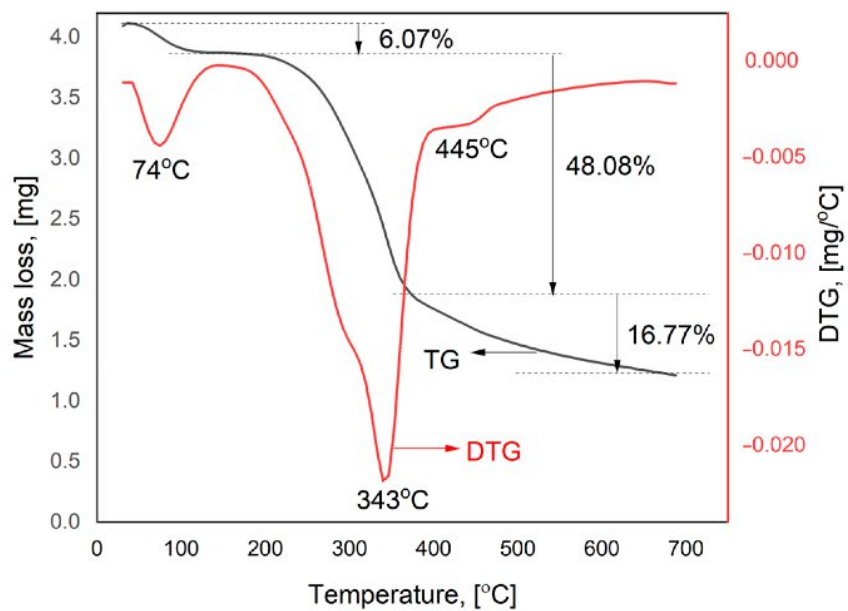
Analiza termogravimetrică (TGA)

TGA a identificat trei etape de degradare:

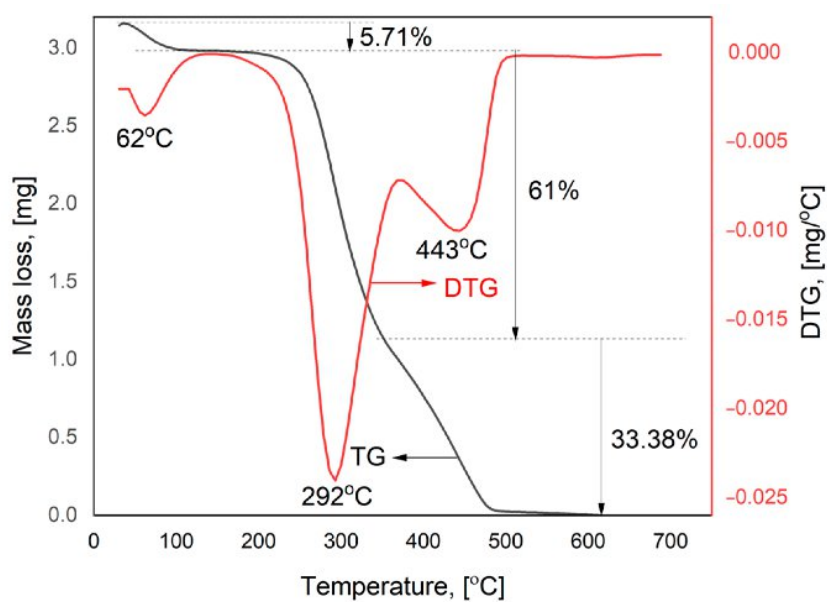
1. **Pierdere umiditate (<114°C):** SB (8,09%, vârf 72°C), WSs (5,71%, 62°C), VSs (6,07%, 74°C).
2. **Degradare hemiceluloză/celuloză (255-350°C):** WSs (61%, 291°C), VSs (48,08%, 343°C), SB (43,03%, 346°C). WSs are degradare maximă datorită hemicelulozei ridicate.
3. **Degradare lignină (>350°C):** SB (42,58%, 355°C), WSs (33,38%, 433°C), VSs (16,77%, 445°C). Lignina complexă degradează lent.



(a)



(b)

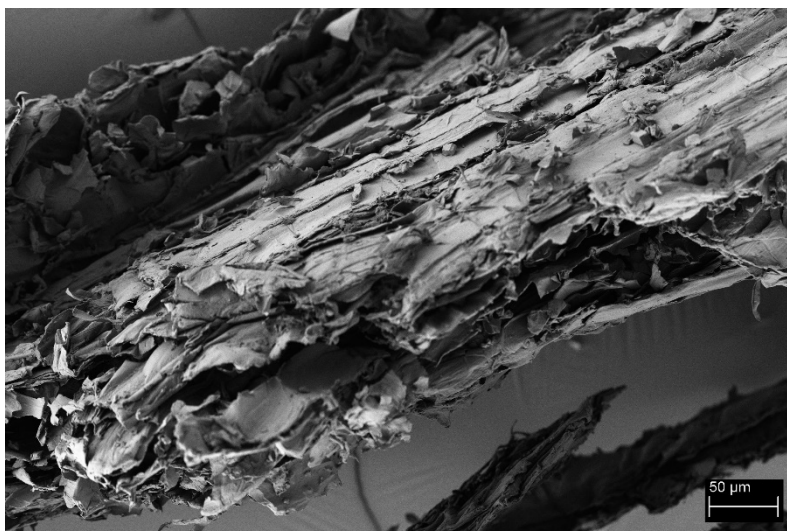


(c)

Figura 14. Analiza termogravimetrică pentru: (a) SB; (b) VSs; (c) WSs.

Microscopia SEM

Imaginile SEM au relevat structuri fibroase: SB - delaminare, matrice condensată (celuloză 48,10%, lignină guaiacil 22,87%); VSs - filamente fine, rețea flexibilă (celuloză 49,30%, lignină siringil 24,40%); WSs - suprafață aspră, straturi suprapuse (hemiceluloză 38,20%).



a)



b)



c)

Figura 15. Imaginile SEM ale biomasei inițiale: a) SB; b) VSs și c) WSs.

Suprafață specifică

Izotermele BET indică suprafață specifică $<1 \text{ m}^2/\text{g}$ pentru SB, VSs, WSs, reflectând porozitate minimă și capacitate redusă de adsorbție a gazelor, datorită structurii fibroase amorfe.

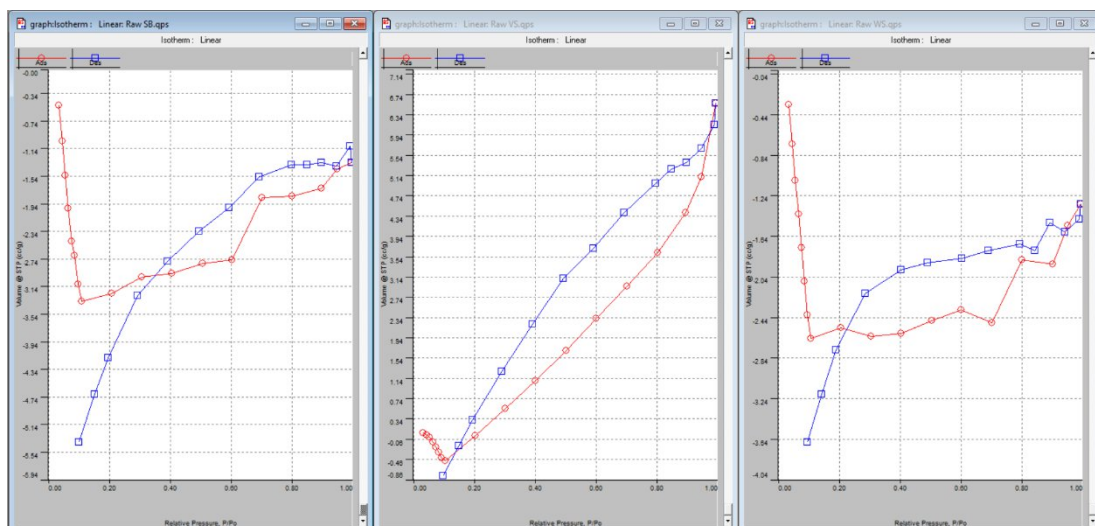


Figura 16. Izotermele materialelor lignocelulozice (SB, VSs și WSs).

Randamentul conversiei termochimice

Randamentul teoretic al hidrocarbunelui (Y, %) a fost calculat cu ecuația:

$$Y(\text{wt}\%) = C \times y_{c,C} + L \times y_{c,L} + H \times y_{c,H} \quad (9)$$

unde H, C, și L reprezintă procentele de hemiceluloze, celuloză respectiv lignină, iar $y_{c,j}$ reprezintă randamentul de carbonizare al componentelor principali.

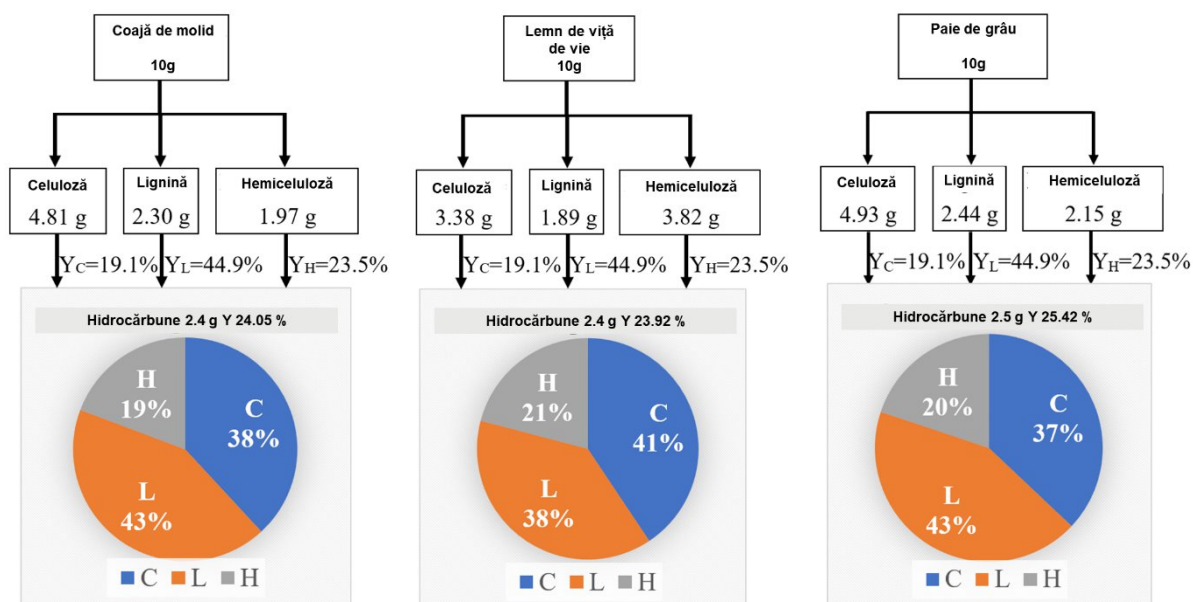


Figura 17. Randamentele estimate ale hidrocarbunelui obținut din SB, VSs și WSs.

Concluzii parțiale

- **Compoziție:** SB și VSs, cu celuloză (48,10-49,30%) și lignină (22,87-24,40%) ridicate, sunt ideale pentru hidrocarbune poros; WSs, cu hemiceluloză (38,20%), favorizează HTC la temperaturi scăzute.
- **Cenușă:** VSs (2,1%) reduce riscul de zgurificare, spre deosebire de WSs (4,0%).
- **Carbon:** VSs (52,72%) are cel mai mare potențial energetic.
- **FTIR:** Grupe funcționale similare, cu diferențe minore, confirmă structura lignocelulozică.
- **TGA:** Degradare în trei etape (umiditate, hemiceluloză/celuloză, lignină), WSs cu pierdere maximă datorită hemicelulozei.
- **SEM:** Structuri fibroase distincte, influențate de compoziție.
- **Suprafață:** Porozitate minimă ($<1 \text{ m}^2/\text{g}$), limitând adsorbția.
- **Randament HTC:** WSs (25,42%) ușor superior, dar SB și VSs sunt mai potrivite pentru hidrocarbune de calitate datorită ligninei și celulozei.

CAPITOLUL 4. OBȚINEREA UNOR MATERIALE SUPORT NATURALE PENTRU IMOBILIZAREA BACTERIANĂ

Deșeurile lignocelulozice (SB - coajă de molid, VSs - lemn de viță de vie, WSs - paie de grâu) sunt precursori valoroși pentru suporturi de imobilizare bacteriană datorită compoziției lor chimice, dar umiditatea și densitatea ridicată necesită conversie termochimică. Hidrotermoliza (HTC) a fost aleasă pentru a transforma biomasa în hidrocarbune (HC) la temperaturi moderate (230-290°C), maximizând faza solidă pentru aplicații microbiene.

Studiul procesului de hidrotermoliză

HTC s-a efectuat într-o autoclavă de laborator din oțel inoxidabil cu vas de sticlă (0,5 mm), monitorizând presiunea. Parametrii principali:

- **Temperatura (230-290°C):** Influențează cinetica reacțiilor; temperaturi mai ridicate (290°C) reduc timpul de rezidență, dar pot genera subproduse.
- **Timpul de rezidență (30-90 min):** Determină gradul de conversie; timpi scurți (<30 min) reduc randamentul, timpi lungi (>90 min) cauzează degradare excesivă.
- **Raport solid/lichid (s/l, 1:5, 1:6.67, 1:10 g/mL):** Afectează transferul de masă/căldură; raporturi mari (1:10) facilitează conversia.

Modelare și optimizare

Un plan experimental cu 17 teste (3 factori, 3 teste centrale) a evaluat influența parametrilor asupra randamentului de masă (Y , %) și gradului de conversie (CD , %) conform ecuației 10 și 11:

$$Y_i = \frac{m_{HC}}{m_f} \times 100, \#(10)$$

$$CD_i = \frac{m_f - m_{HC}}{m_f} \times 100, \#(11)$$

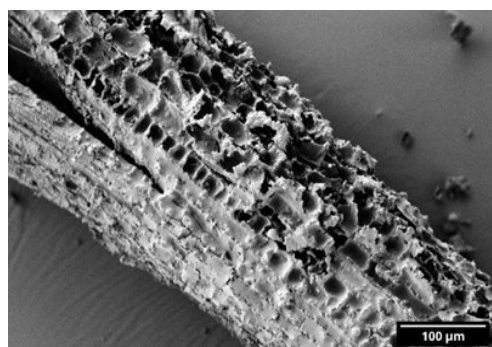
unde: i = tipul de materie primă, m_f = masa materiei prime (g), m_{HC} = masa hidrocarbunelui (g).

- **Rezultate** (Tabelul 7):
 - Y: SB-HC (42,1-64,3%), VSs-HC (39,5-57,1%), WSs-HC (31,66-48,61%).
 - CD: WSs-HC (66,44% max), SB-HC (57,9% max), VSs-HC (60,5% max).
 - Temperaturile ridicate și timpii lungi reduc Y, cresc CD; raportul s/l mare crește Y, scade CD.

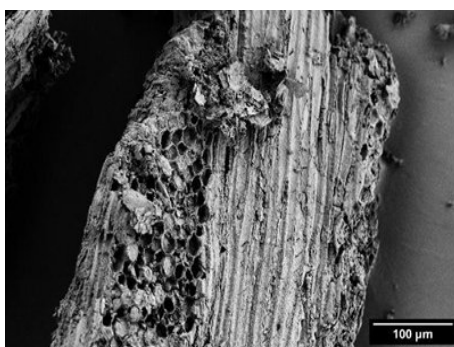
Caracterizarea morfologică a hidrocarbunilor

SEM (Figura 21):

- **230°C, 60 min, 1:10:** SB-HC - pori mici, dens (lignină guaiacil); VSs-HC - pori mari (lignină siringil); WSs-HC - pori moderați (lignină mixtă).
- **260°C, 60 min, 1:10:** SB-HC - pori ușor mai mari; VSs-HC - macropori proeminenți; WSs-HC - porozitate echilibrată.
- **290°C, 60 min, 1:10:** SB-HC - pori uniformi; VSs-HC - porozitate neomogenă; WSs-HC - fibroasă-poroasă.



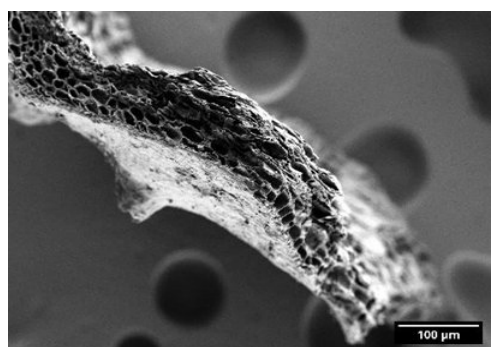
a)



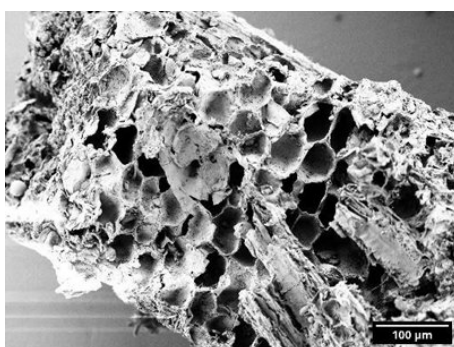
b)



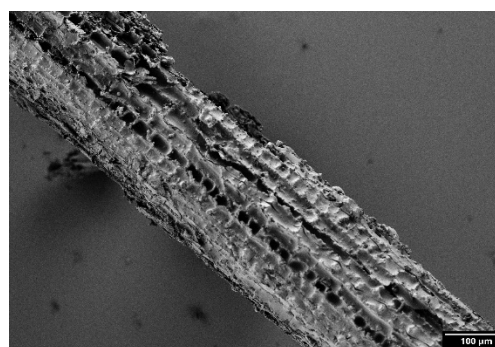
c)



d)



e)



f)

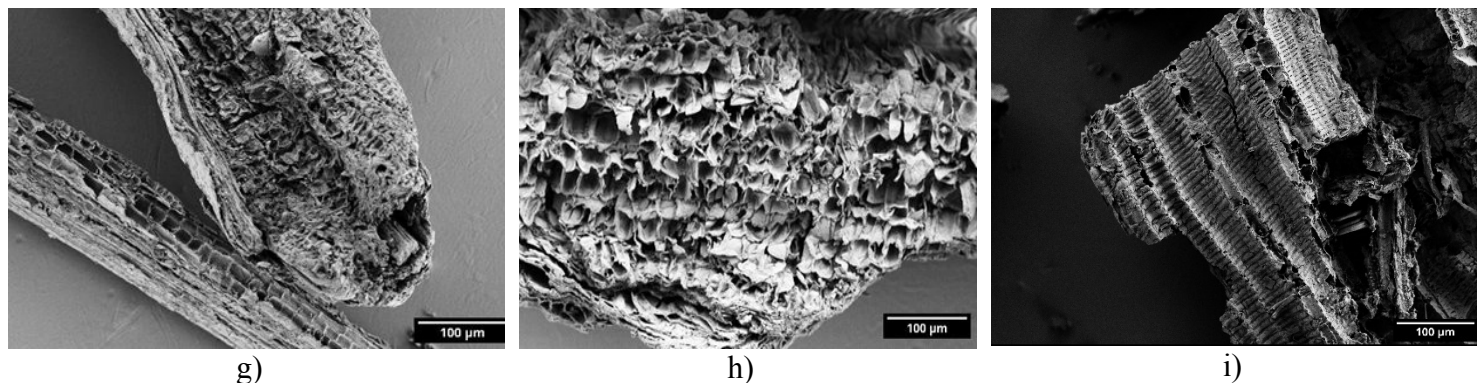


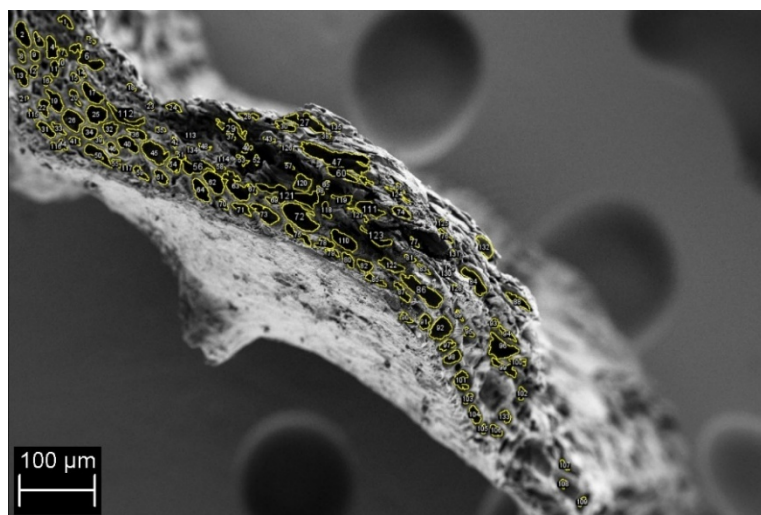
Figura 21. Imaginile SEM ale hidrocarbunilor: a) SB-HC, b) VSs-HC, c) WSs-HC la 230 °C, 60 de minute și 1:10 g/mL; d) SB-HC, e) VSs-HC, f) WSs-HC la 260 °C, 60 de minute și 1:10 g/mL și g) SB-HC, h) VSs-HC, i) WSs-HC la 290 °C, 60 de minute și 1:10 g/mL.

SEM-EDX:

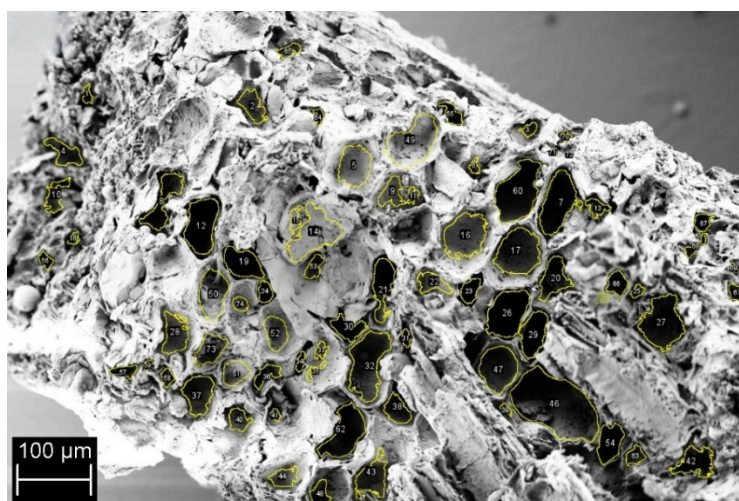
- SB-HC: C dominant, O (0,25 g), Ca (0,15 g), Si (0,20 g), Al (0,10 g), P (0,05 g), S (0,05 g) - stabilitate termică ridicată.
- VSs-HC: O (0,30 g), Ca (0,12 g), Si (0,18 g), P (0,07 g) - catalizatori minerali, porozitate ridicată.
- WSs-HC: O (0,20 g), Ca (0,18 g), Si (0,25 g) - compoziție echilibrată, versatilitate.

WEKA Segmentation (Figura 22):

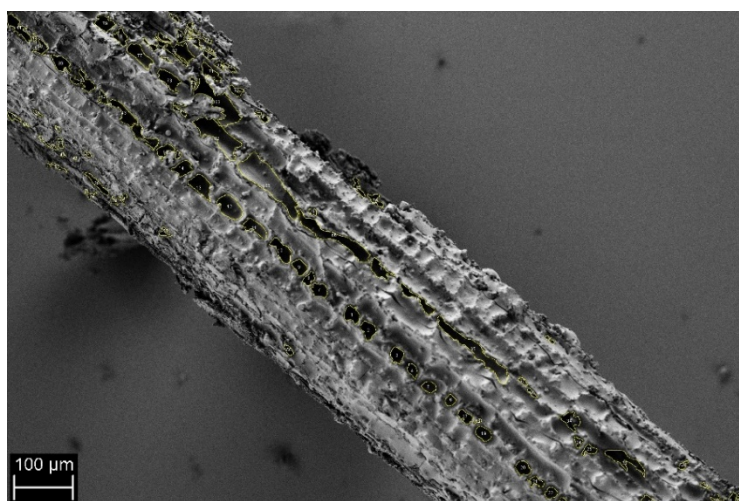
- VSs-HC: 73 pori/2500 μm^2 , porozitate 2,63% (total 45%).
- SB-HC: 133 pori/2500 μm^2 , porozitate 3,19% (total 35%).
- WSs-HC: 95 pori/2500 μm^2 , porozitate 2,85% (total 40%).



(a)



(b)



(c)

- **Figura 22.** Analiza segmentării porilor utilizând WEKA plugin: (a) SB-HC, (b) VSs-HC și c) WSs-HC. Culoarea galbenă = formă definită a particulelor (structură poroasă).

Caracterizarea chimică și structurală

SEM (condiții optime, 260°C, 30 min, 1:10) (Figura 23):

- SB-HC: Structură densă, pori mici, ideală pentru stabilitate mecanică și adeziune bacteriană.
- VSs-HC: Macropori, suprafață mare, optimă pentru colonizare bacteriană.
- WSs-HC: Pori moderați, echilibru între stabilitate și porozitate, multifuncțională.

Izoterme BET (Figura 24, Tabelul 12):

- SB-HC: Tip II, 50 cm³/g STP, 20 m²/g, porozitate ridicată.
- VSs-HC: Tip II, 30 cm³/g STP, 3 m²/g, porozitate moderată.
- WSs-HC: Tip II, 10 cm³/g STP, 1 m²/g, porozitate scăzută.

Tabel 12. Caracteristicile izotermelor hidrocarbunilor.

Materi al	Tip izoterm ă	Capacita te de adsorbție (cm ³ /g STP la P/P _o = 1)	Suprafa ă specifică (m ² /g)	Porozita te	Conținut de micropo ri (%)	Volu m al porilo r (cm ³ /g)	Dimensiu ne medie a porilor (nm)	Eficiența hidrotermoliz ei
SB-HC	Tip II	50	20	Ridică tă	10	0,05	50-100	Ridică tă
VSs- HC	Tip II	30	3	Moderat ă	8	0,03	40-80	Medie
WSs- HC	Tip II	10	1	Scăzută	5	0,01	30-60	Scăzută

pH_I (Figura 25):

- SB-HC: 4,9 (suprafață acidă, adsorbție cationi - MB, BPA).
- VSs-HC: 6,3 (aproape neutră, adsorbție neutri - DEP).
- WSs-HC: 5,0 (suprafață acidă, atracție electrostatică).

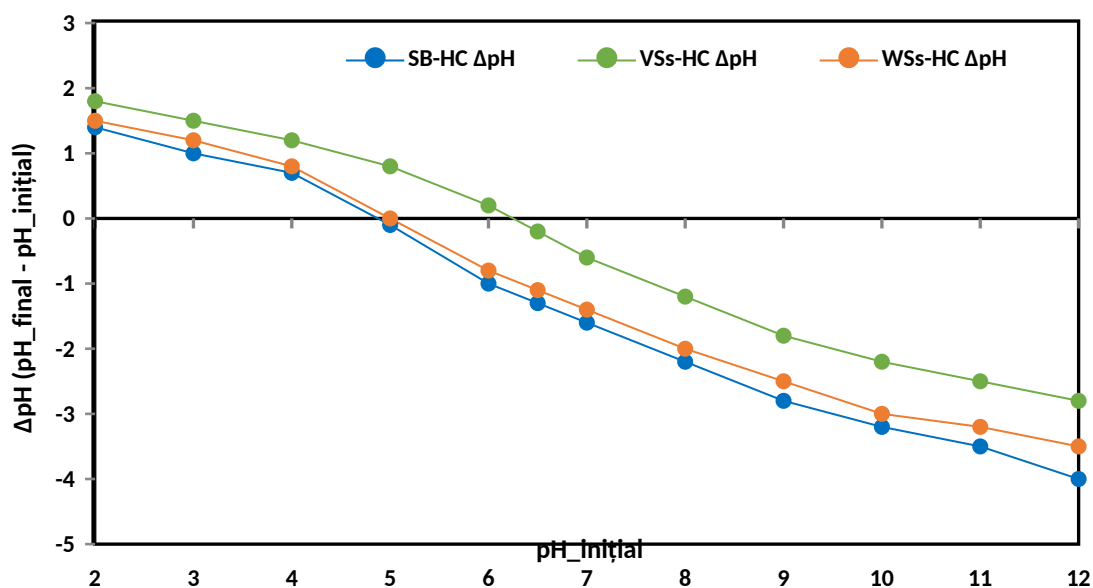


Figura 25. pH_I și pH_F al hidrocarbunilor investigați.

Raman :

- Benzi D (1370 cm^{-1}), G (1583 cm^{-1}) indică structuri grafitice.
- Picuri la 1812 cm^{-1} , 1912 cm^{-1} (grupări -OH, compuși aromatici) favorizează adeziunea bacteriană.
- Celuloza/hemiceluloza se descompun, formând HMF, furfural, fenoli.

Concluzii parțiale

- HTC a generat hidrocarbune (SB-HC, VSs-HC, WSs-HC) optim pentru imobilizare bacteriană.
- **Randamente:** SB-HC (42,1-64,3%), VSs-HC (39,5-57,1%), WSs-HC (31,66-48,61%). Temperatura este factorul principal ($p < 0,01$); SB-HC are cea mai bună corelație ($R^2 = 0,972$).
- **Optimizare:** 260°C , 30 min, 1:10 s/l asigură $Y \sim 50\%$ cu eficiență energetică; ajustări (45,7-60 min, 0,15-0,2 g/mL) cresc eficiența.
- **Morfologie:** SB-HC - dens, pori mici; VSs-HC - macropori; WSs-HC - pori moderați.
- **SEM-EDX:** VSs-HC bogat în Ca, Si, P (condiționare sol); SB-HC stabil (biocompozite); WSs-HC versatil.
- **WEKA:** Porozitate totală: VSs-HC (45%), SB-HC (35%), WSs-HC (40%).

- **BET:** SB-HC (20 m²/g), VSs-HC (3 m²/g), WSs-HC (1 m²/g).
- **pH_I:** SB-HC (4,9), WSs-HC (5,0) - adsorbție cationi; VSs-HC (6,3) - poluanți neutri.
- **Raman:** Structuri grafitice și grupări oxidate sporesc adeziunea bacteriană.
- **Aplicații:** SB-HC (stabilitate, adsorbție cationi), VSs-HC (colonizare bacteriană), WSs-HC (versatilitate pentru bioremediere, condiționare sol).

CAPITOLUL 5. IZOLAREA ȘI IMOBILIZAREA TULPINILOR BACTERIENE PENTRU DEGRADAREA DIETIL FTALATULUI

Dietil ftalatul (DEP), un poluant toxic și persistent utilizat în industria plasticelor, a fost studiat pentru bioremediere folosind un consorțiu bacterian format din *Pseudomonas spp.* și *Microbacterium sp.*, izolat din biofilm de pe tubulatură de poliuretan. Aceste tulpini degradează DEP prin mecanisme enzimatică (monooxigenaze, dioxigenaze). Imobilizarea pe hidrocarburi (VSs-HC) reduce efectele toxice ale DEP (≥ 8 mM) și îmbunătățește eficiența degradării. Capitolul descrie izolarea, optimizarea mediului de cultură, testele de toxicitate (1-32 mM DEP) și analizele MO/SEM pentru caracterizarea biofilmului.

Izolarea microorganismelor

Consorțiul bacterian (*Pseudomonas spp.*, *Microbacterium sp.*) a fost izolat din biofilm de pe tubulatură de poliuretan la UFZ, Leipzig, Germania. Tulpinile degradează eficient esterii ftalați prin hidroliză enzimatică și oxidare, folosind monooxigenaze și dioxigenaze, mecanisme complementare (Figura 27).

Optimizarea mediului de cultură

Ratele de creștere (μ , h^{-1}) au fost determinate pentru concentrații de DEP de 1, 2 și 4 mM, cu 2 mM ca referință (control):

- **1 și 2 mM DEP:** Creștere comparabilă, fără inhibiție semnificativă.
- **4 mM DEP:** Reducere semnificativă a μ , indicând efect inhibitor. Inocul standardizat (secțiunea 2.2.16) a fost incubat 24 h cu 0,5% VSs-HC și DEP, analizat prin UPLC și SEM pentru modificări morfologice și degradare.

Teste de toxicitate cu DEP

Curba de creștere (OD₅₆₀, 48 h, Figura 28):

- **Control pozitiv (succinat):** Creștere rapidă, OD $\approx 1,74$ (ziua 1), scădere în ziua 2 (faza staționară/declin).
- **1 mM DEP:** Creștere moderată, OD $\approx 0,57$ (ziua 1), fază staționară.

- **2 mM DEP:** Creștere limitată, OD $\approx 0,70$ (ziua 1), scădere ușoară.
- **4 mM DEP:** Inhibiție semnificativă, OD $\approx 0,80$, scădere rapidă.
- **Control fără carbon:** Creștere minimă.
- **Control steril:** Fără modificări OD, confirmând lipsa contaminării.

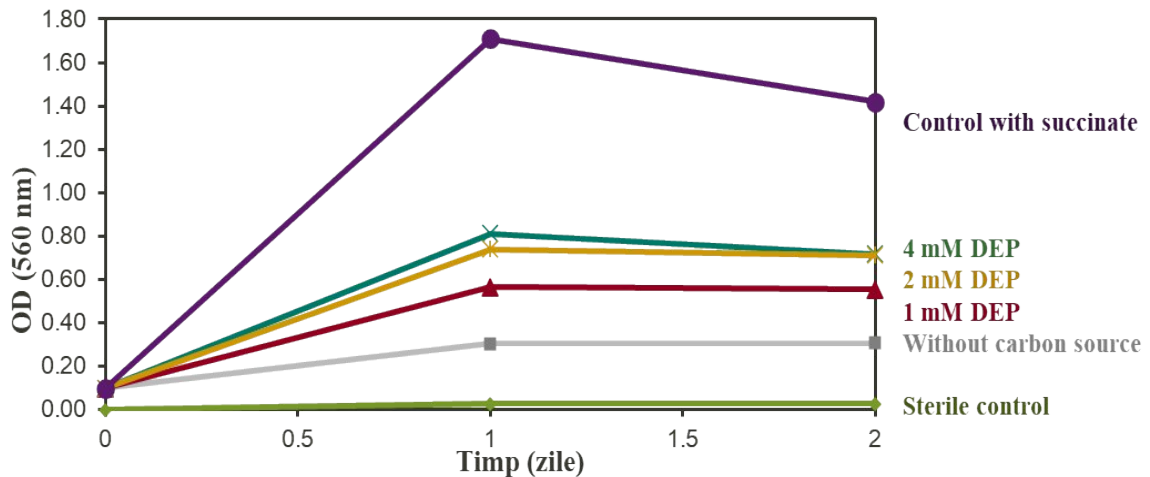
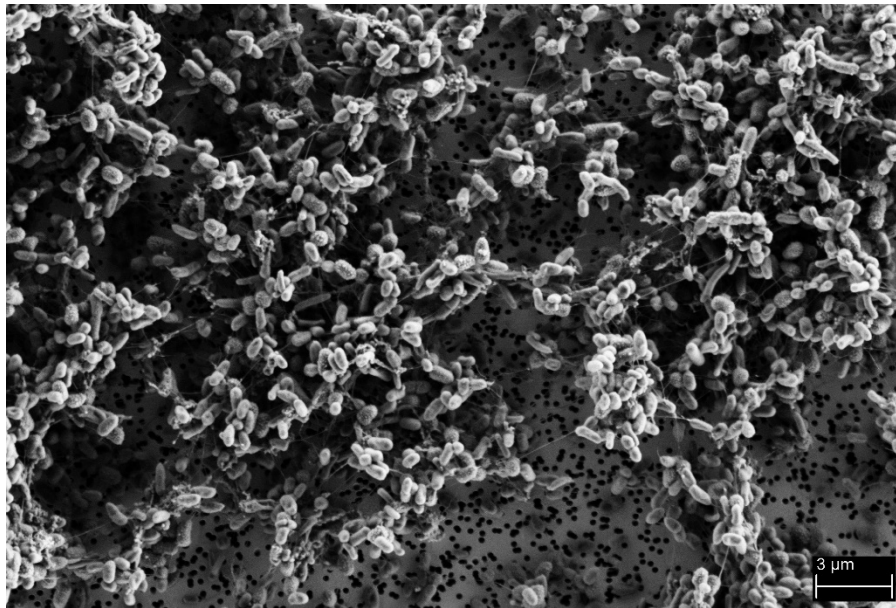


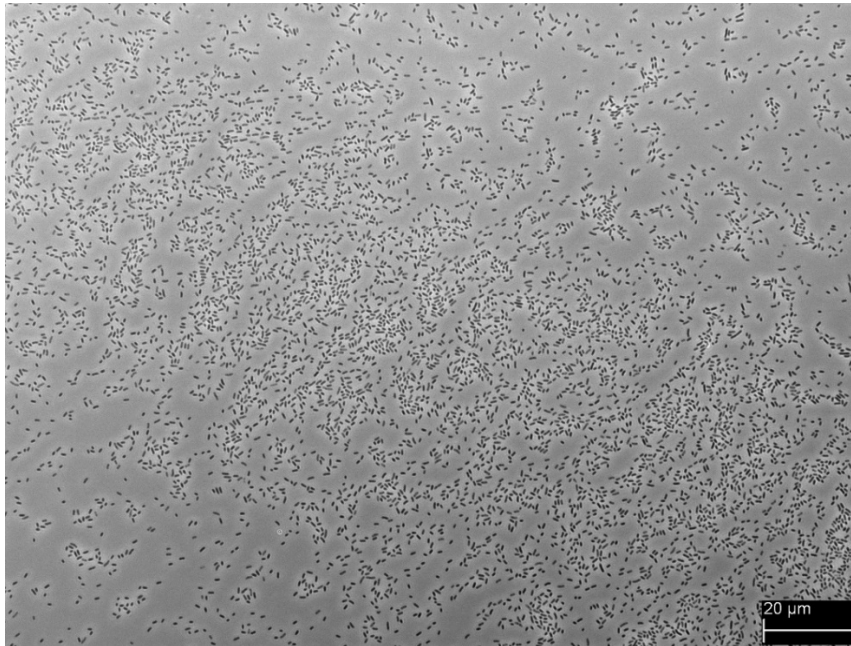
Figura 28. Curba de creșterea bacteriană la diferite concentrații inițiale ale DEP: 1 mM, 2 mM și 4 mM DEP.

Analiza biofilmului (MO și SEM)

- **SEM (Figura 29a):** Biofilm matur după 24 h, cu microcolonii dense, rețea tridimensională și EPS, indicând stabilitate structurală.
- **Microscopie optică (Figura 29b):** Stadiu incipient, celule dispersate, aderență slabă, fără matrice extracelulară. Diferențele reflectă progresia biofilmului de la atașare reversibilă la structură complexă.



a)



b)

- **Figura 29.** Consorțiul bacterian: imagine SEM (a) și la microscopul optic (b). Este observată structura de cilindru rotunjit (max. 3 microni) și prezența flagelului. O celulă poate conține mai mulți flageli polari a și b (1 micron) iar coloniile se formează circular.

Pregătirea și imobilizarea pe VSs-HC

- **Pregătire:** 50 mg VSs-HC sterilizat (121°C, 15 min) în eprubete de 50 mL. Adăugat 10 mL mediu mineral, 500 μL inocul, DEP (2-32 mM), incubat 24 h (30°C, 150 rpm). Probe prelevate la 1, 12, 24 h pentru UPLC; probe uscate pentru SEM.

- **Cultura:** Consorțiu crescut 12 h în 50 mL mediu mineral cu 200 mg/L extract de drojdie (30°C, 150 rpm).

Adsorbția DEP de VSs-HC

- **Rezultate** (Figura 30): La 0,5% VSs-HC și 4 mM DEP, adsorbție de 3,59 mM (90%) în 1 h, 3,81 mM (95%) în 24 h. Doze mai mari (1%, 2%) ating 98%, dar 0,5% este optimă economic.
- **Capacitate de adsorbție** (ecuația 18): $q = (C_0 - C_t)V/m$, $\approx 95\%$ la 24 h.
- **Cinetica** (Figura 32): **Faza rapidă (0-60 min):** Umplerea porilor mari, procese fizico-chimice; **Faza lentă (12-24 h):** Difuzie în pori (model Weber-Morris).
- **Mecanisme:** Legături de hidrogen, interacțiuni π - π , atracții electrostatice, datorită porozității (40-80 nm), suprafeței (3 m²/g) și grupărilor funcționale (-OH, -COOH, -C=O).

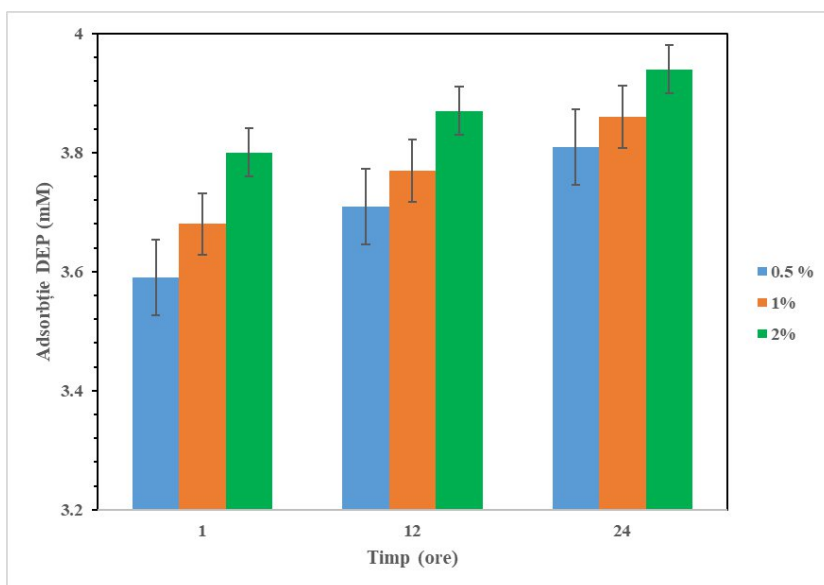


Figura 30. Analiza UPLC pentru evidențierea adsorbției DEP de către hidrocarbure după 1 h (T1), 12 h (T12) și 24 h (T24). Concentrația inițială a fost de 4 mM DEP.

Biodegradarea DEP

- **Fără VSs-HC** (Figura 31, 32a): Inhibiție la 8 mM (11% degradare), 16 mM (5%), 32 mM (0%, celule inhibate). Degradare reziduală (2%) datorată sorbției pe biomasă necrotică.

- **Cu VSs-HC** (Figura 32b): 65% degradare la 8 mM, 45% la 16 mM, 19% la 32 mM în 24 h. VSs-HC atenuează toxicitatea, susținând formarea biofilmului.
- **SEM** (Figura 33): La 8 și 16 mM DEP, biofilme cu celule bastonaș și flageli. La 32 mM, celule lizate, fragmente de membrană.
- **Mecanism sinergic**: Adsorbția pe VSs-HC reduce concentrația liberă de DEP, eliberarea treptată susține biodegradarea.

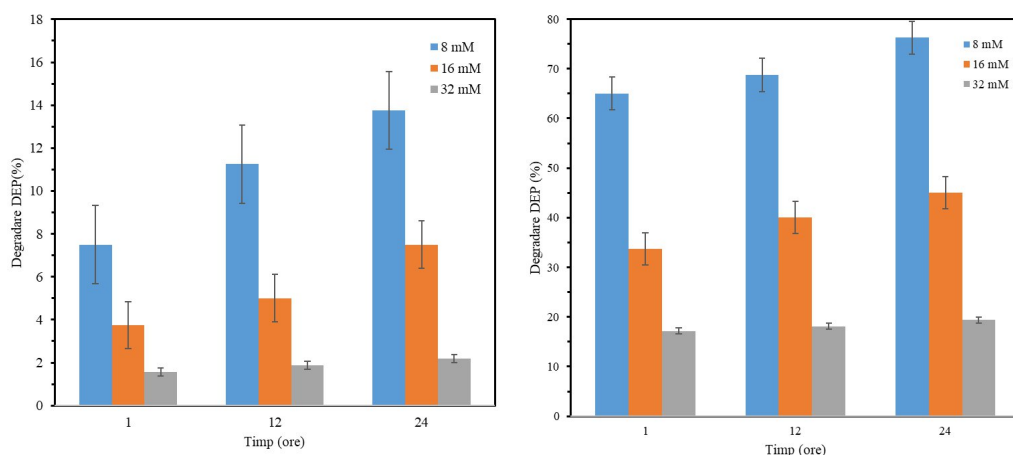


Figura 32. Degradarea DEP (a) de către consorțiul microbial în absența hidrocarbunelui și (b) de către consorțiul microbial imobilizat pe hidrocarbune 0,5 % (g/mL).

Concluzii parțiale

- Consorțiul (*Pseudomonas spp.*, *Microbacterium sp.*) degradează eficient DEP pe VSs-HC, datorită adsorbției rapide (95% la 4 mM în 24 h) și mecanismelor enzimatice (monooxigenaze, dioxigenaze).
- VSs-HC (0,5% g/mL) reduce toxicitatea DEP, susținând degradarea la 8 mM (65%) și 16 mM (45%). La 32 mM, inhibiția persistă.
- Mediu optimizat (200 mg/L extract de drojdie, 30°C, 150 rpm) susține creșterea consorțiului.
- Analizele MO/SEM confirmă formarea biofilmului, de la atașare incipientă la structuri mature cu EPS. La 32 mM DEP, celulele sunt lizate.
- Imobilizarea pe VSs-HC este o strategie eficientă pentru bioremedierea apelor contaminate cu ftalați, prin sinergia adsorbției și biodegradării.

CAPITOLUL 6. EPURAREA APELOR UZATE MENAJERE UTILIZÂND CULTURI BACTERIENE IMOBILIZATE PE HIDROCĂRBUNE

Acest capitol analizează eficiența hidrocarbunilor (SB-HC, VSs-HC, WSs-HC) derivați din biomasă lignocelulozică în epurarea apelor uzate contaminate cu poluanți organici persistenți (DEP, BPA, MB). Prin combinarea adsorbției și biodegradării cu consorțiul bacterian (*Pseudomonas spp.*, *Microbacterium sp.*), studiul promovează o abordare sustenabilă, valorificând deșeurile lignocelulozice în economia circulară. Analizele HIM dezvăluie porozitatea și grupările funcționale care facilitează interacțiunile cu poluanții, iar experimentele în apă uzată sintetică (S1) și reală (S2) evidențiază performanțele hidrocarbunilor imobilizați, cu eficiențe superioare pentru DEP (până la 5,0 mg/g) și MB (4,9 mg/g).

6.1. Analiza morfologică prin microscopia cu ioni de heliu (HIM)

HIM a caracterizat morfologia biomasei lignocelulozice (SB, VSs, WSs) și hidrocarbunilor (SB-HC, VSs-HC, WSs-HC):

- **SB (48,10% celuloză, 19,75% hemiceluloză, 22,87% lignină):** Structură fibroasă, pori mici neuniformi, rugozitate datorată taninurilor (Figura 34a). Grupările oxigenate (-COOH, -OH) favorizează interacțiuni electrostatice cu MB, dar porozitatea limitată reduce difuzia.
- **VSs (49,30% celuloză, 21,50% hemiceluloză, 24,40% lignină):** Structură densă, fibroasă, porozitate limitată (Figura 34b). Rigiditatea ligninei restricționează interacțiunile π - π cu DEP.
- **WSs (33,80% celuloză, 38,20% hemiceluloză, 18,90% lignină):** Suprafață fragmentată, porozitate moderată (Figura 34c). Lignina scăzută limitează legăturile de hidrogen cu BPA.
- **SB-HC:** Structură poroasă tip fagure, rugoasă (Figura 34d). Degradarea celulozei și retenția grupărilor oxigenate susțin interacțiuni electrostatice cu MB și imobilizarea bacteriană.
- **VSs-HC:** Porozitate interconectată, textură rugoasă (Figura 34e). Degradarea hemicelulozei și carbonizarea celulozei sporesc interacțiunile π - π cu DEP.

- **WSs-HC:** Morfologie spongioasă, pori mici interconectați (Figura 34f). Matricea carbonată facilitează legăturile de hidrogen și interacțiunile π - π cu BPA.

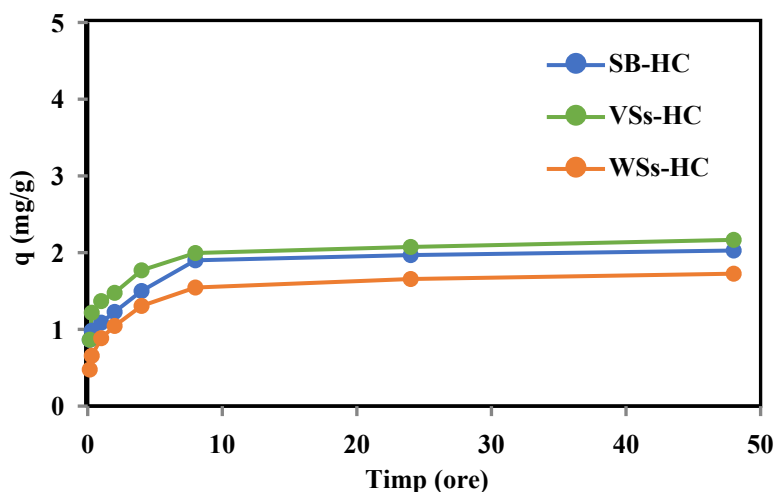
6.2. Pregătirea și imobilizarea culturii bacteriene

- **Pregătire:** 50 mg hidrocarbune (SB-HC, VSs-HC, WSs-HC) sterilizat (121°C, 15 min) în baloane Erlenmayer de 50 mL. Adăugat 10 mL mediu mineral, 500 μ L inocul (*Pseudomonas spp.*, *Microbacterium sp.*), DEP (8, 16, 32 mM), incubat 24 h (30°C, 150 rpm). Probe prelevate la 1, 12, 24 h (UPLC, filtre Whatman 0,45 μ m). Hidrocarbunele uscate (flux laminar, 12 h) au fost analizate prin HIM.
- **Cultura:** Consorțiu cultivat 12 h în 50 mL mediu mineral cu 200 mg/L extract de drojdie (30°C, 150 rpm).

6.3. Adsorbția în apă uzată sintetică

Capacitatea de adsorbție (q, mg/g) după 48 h:

- **SB-HC:** DEP (2,0 mg/g), BPA (2,6 mg/g), MB (4,8 mg/g) (Figura 35a). Suprafața mare (20 m²/g) și grupările -OH, -COOH favorizează interacțiuni electrostatice (MB) și legături de hidrogen (DEP, BPA).
- **VSs-HC:** DEP (2,1 mg/g), BPA (2,1 mg/g), MB (4,5 mg/g) (Figura 35b). Porozitatea interconectată și structura aromatică susțin interacțiunile π - π (DEP, MB).
- **WSs-HC:** DEP (1,7 mg/g), BPA (1,7 mg/g), MB (4,1 mg/g) (Figura 35c). Suprafața mică (1 m²/g) și porozitatea compactă limitează eficiența.



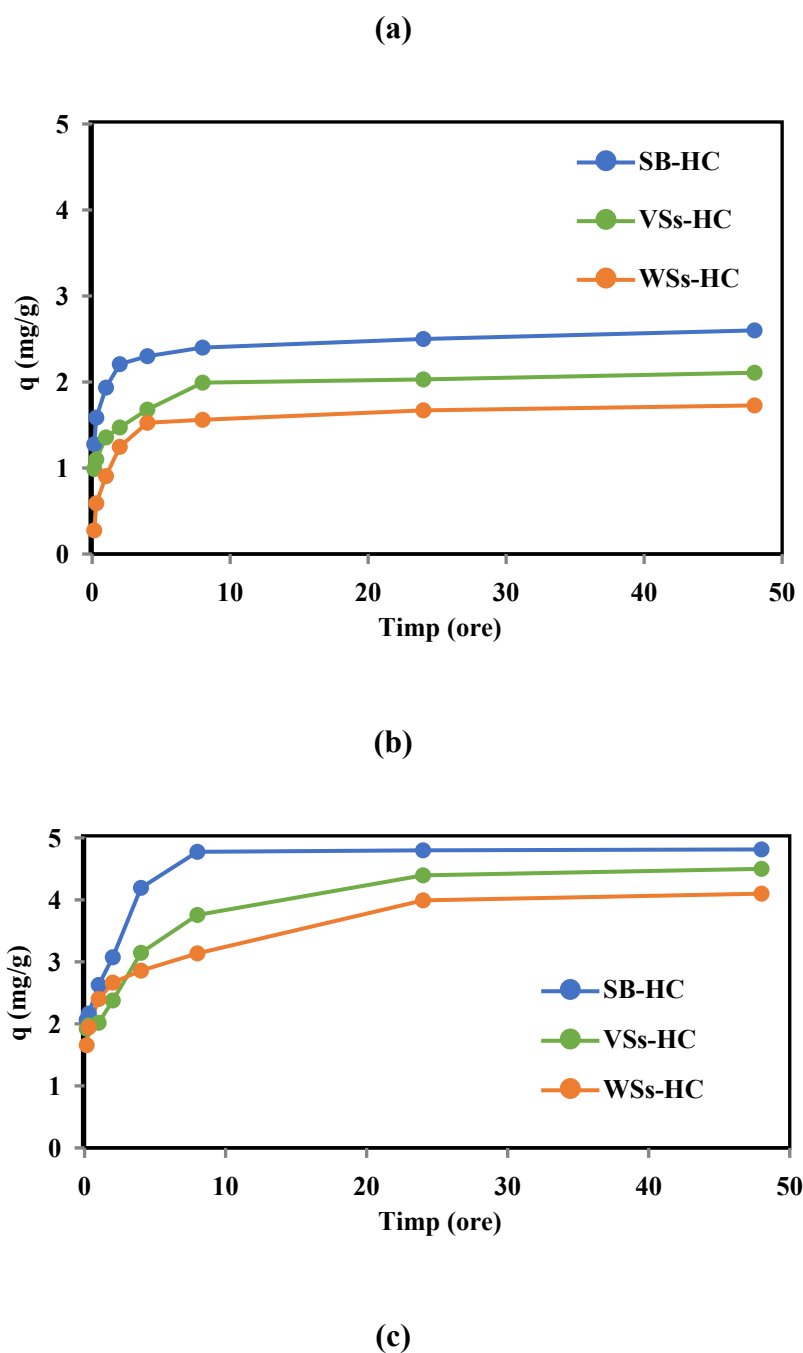


Figura 35. Capacitatea de adsorbție pentru DEP (a), BPA (b) și MB (c) de către hidrocarburi (SB-HC, VSs-HC și WSs-HC) în apă uzată sintetică.

6.4. Compoziția apelor uzate

Probele (colectate în septembrie 2024, nordul Portugaliei, Figura 36) au fost analizate (Tabelul 14):

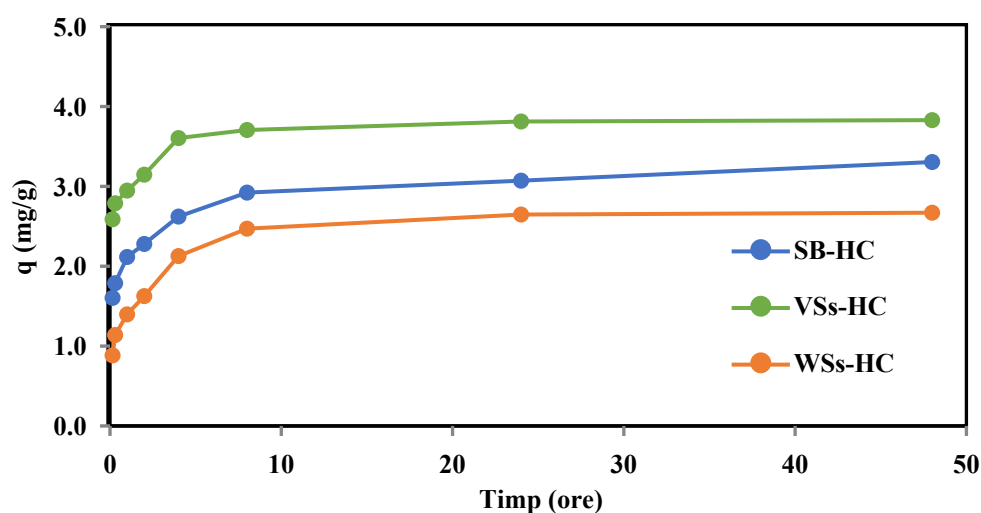
- **Fizico-chimice:** pH 6,44, COD 67 mg/L, CBO₅ 10,5 mg/L.

- **Ioni:** Nitrați (2 mg/L), nitriți (0,02 mg/L), azot amoniacal (42,01 mg/L).
- **Microbiologic:** Bacterii heterotrofe (5,03 log UFC/100 mL), enterobacterii (4,52 log UFC/100 mL), *E. coli* (3,61 log UFC/100 mL), enterococi (14 log UFC/100 mL), 16S rRNA ($4,30 \times 10^8$ copii/100 mL), uidA ($1,99 \times 10^5$ copii/100 mL).
- **ARG:** intl1 ($7,56 \times 10^7$ copii/100 mL), sul1 ($1,79 \times 10^7$), qnrS ($6,19 \times 10^4$), blaIMP ($1,65 \times 10^4$), blaKPC ($8,31 \times 10^5$).
- **Poluanți** (Tabelul 13): DEP (78 $\mu\text{g/L}$), BPA (0,33-910 $\mu\text{g/L}$), MB (1-10 $\mu\text{g/L}$).

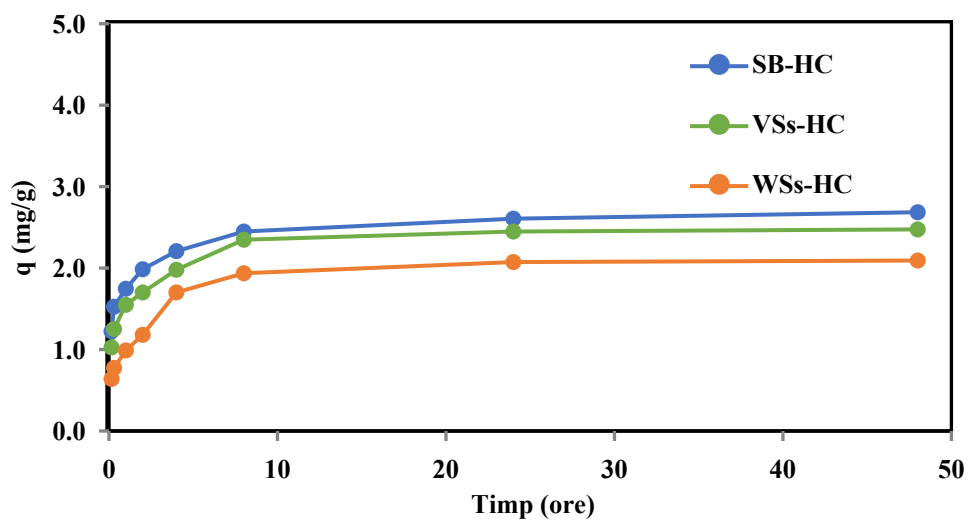
6.5. Adsorbția în apă uzată reală

Capacitatea de adsorbție (48 h):

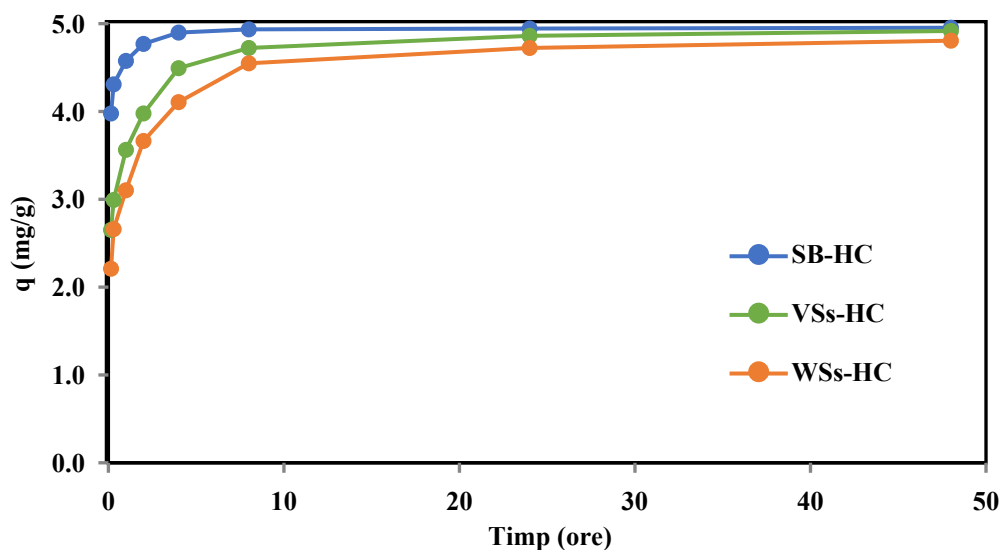
- **SB-HC:** DEP (3,3 mg/g), BPA (2,6 mg/g), MB (4,9 mg/g) (Figura 37a). DOM și ionii amplifică interacțiunile hidrofobe (DEP) și electrostatice (MB).
- **VSs-HC:** DEP (3,8 mg/g), BPA (2,4 mg/g), MB (4,9 mg/g) (Figura 37b). Interacțiunile π - π și efectele DOM sporesc eficiența DEP.
- **WSs-HC:** DEP (2,6 mg/g), BPA (2,0 mg/g), MB (4,8 mg/g) (Figura 37c). DOM compensează suprafața mică, dar ionii reduc accesibilitatea pentru BPA.



(a)



(b)



(c)

Figura 37. Capacitatea de adsorbție pentru DEP (a), BPA (b) și MB (c) de către hidrocarburi (SB-HC, VSs-HC și WSs-HC) în apa uzată menajeră.

6.6. Adsorbția MB

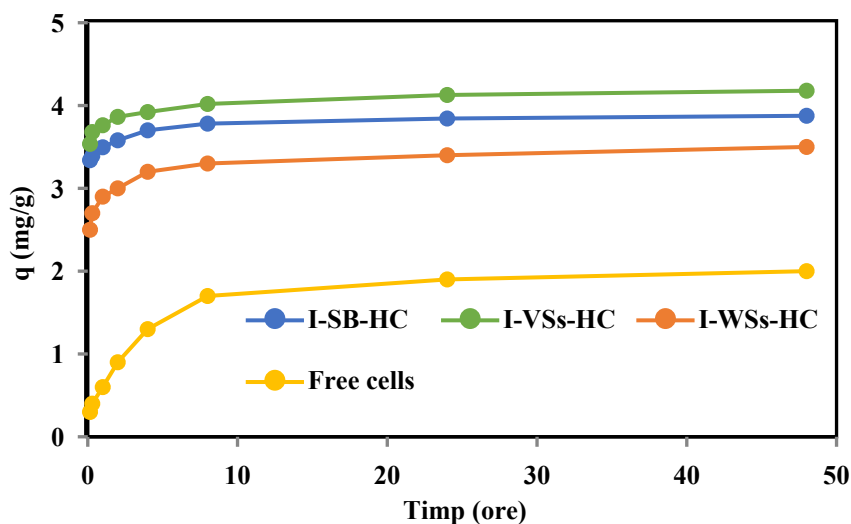
Decolorarea MB (5 mM) este mai pronunțată în apa uzată reală (Figura 38):

- **SB-HC:** Cea mai mare eficiență datorită suprafeței ($20 \text{ m}^2/\text{g}$) și grupărilor oxigenate.
 - **VSs-HC:** Interacțiuni π - π eficiente.
 - **WSs-HC:** Eficiență mai scăzută datorită suprafeței mici ($1 \text{ m}^2/\text{g}$), dar susținută de DOM.
- Ordinea eficienței: SB-HC > VSs-HC > WSs-HC.

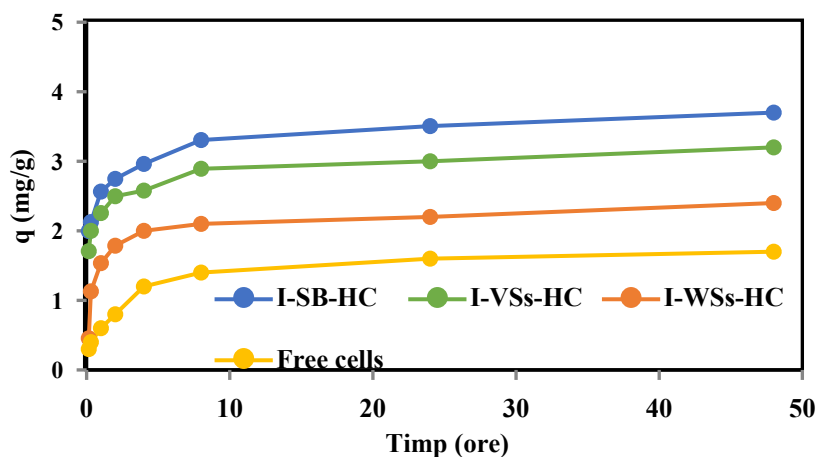
6.7. Adsorbția și biodegradarea în apă uzată sintetică

Capacitatea de adsorbție și biodegradare (48 h, 5 mM poluanți):

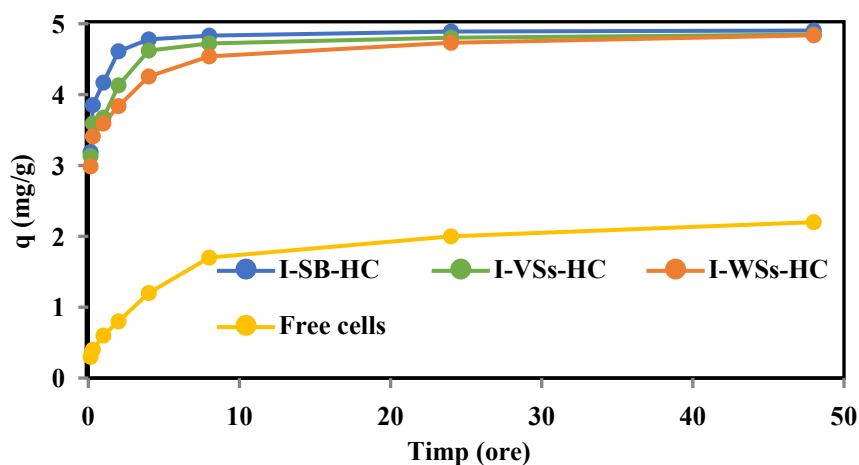
- **I-SB-HC:** DEP (3,8 mg/g), BPA (3,7 mg/g), MB (4,9 mg/g) (Figura 39a). Suprafața poroasă și oxidazele bacteriene sporesc eficiența.
- **I-VSs-HC:** DEP (4,1 mg/g), BPA (3,2 mg/g), MB (4,8 mg/g) (Figura 39b). Interacțiunile π - π și hidroliza bacteriană optimizează DEP.
- **I-WSs-HC:** DEP (3,5 mg/g), BPA (2,4 mg/g), MB (4,8 mg/g) (Figura 39c). Porozitatea compactă limitează eficiența.
- **Celule libere:** DEP (2,0 mg/g), BPA (1,7 mg/g), MB (2,2 mg/g). Lipsa suportului reduce performanța.



(a)



(b)



(c)

Figura 39. Adsorbția și biodegradarea de DEP, BPA și MB de către hidrocarbunii (SB-HC, VSs-HC și WSs-HC) imobilizați cu consorțiul bacterian (*Pseudomonas* spp. și *Microbacterium* sp.) în contact cu apa distilată. Timpi de prelevare ai probelor: 15 min., 30 min., 1 oră, 2 ore, 4 ore, 8 ore, 24 ore, și 48 ore.

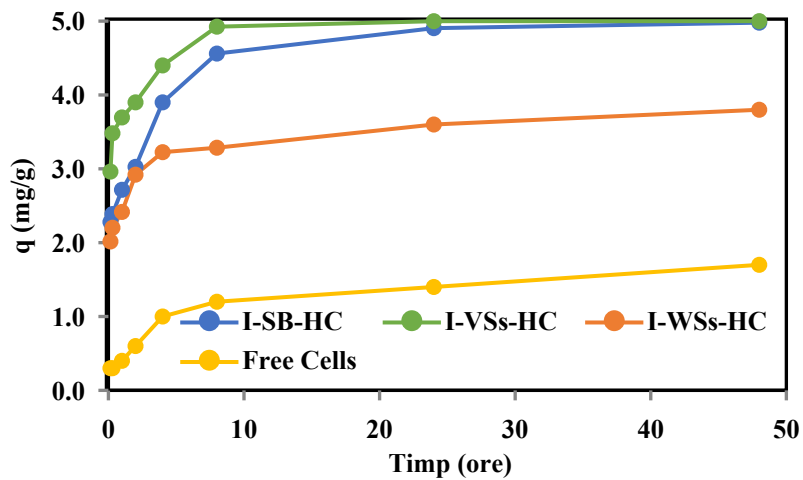
6.8. Adsorbția și biodegradarea în apă uzată reală

Capacitatea (48 h, 5 mM):

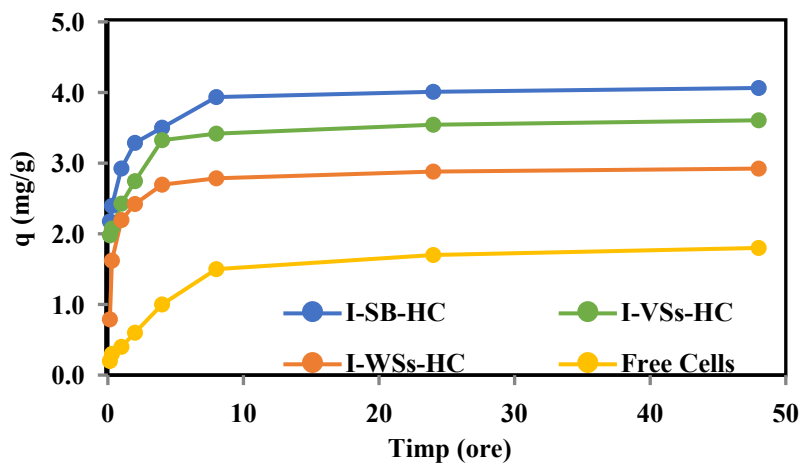
- **I-SB-HC:** DEP (4,98 mg/g), BPA (4,0 mg/g), MB (4,9 mg/g) (Figura 40a). Microbiota nativă și porozitatea sporesc eficiența.

- **I-VSs-HC:** DEP (5,0 mg/g), BPA (3,6 mg/g), MB (4,9 mg/g) (Figura 40b). Interacțiunile π - π și DOM optimizează DEP.
- **I-WSs-HC:** DEP (3,8 mg/g), BPA (2,9 mg/g), MB (4,9 mg/g) (Figura 40c). DOM compensează porozitatea scăzută.

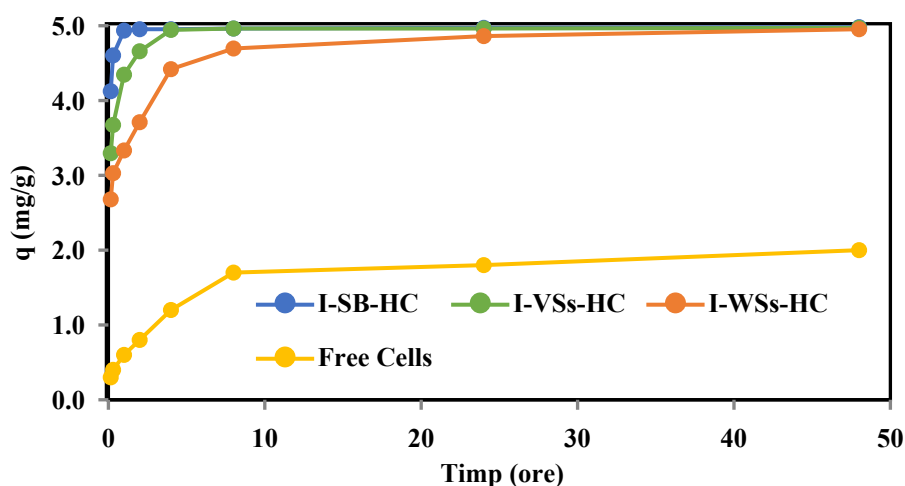
Celule libere: DEP (1,7 mg/g), BPA (1,8 mg/g), MB (2,0 mg/g). Performanțe reduse fără suport.



a)



(b)



(c)

Figura 40. Capacitatea de adsorbție pentru DEP, BPA și MB de către hidrocarbunii (SB-HC, VSs-HC și WSs-HC) imobilizați cu consorțiul bacterian (*Pseudomonas* spp. și *Microbacterium* sp.) în contact cu apa uzată menajeră. Timpi de prelevare ai probelor: 15 min., 30 min., 1 oră, 2 ore, 4 ore, 8 ore, 24 ore, și 48 ore.

6.9. Concluzii parțiale

- Hidrocarbunii (SB-HC, VSs-HC, WSs-HC) sunt eficienți în epurarea apelor uzate datorită adsorbției și biodegradării, susținând economia circulară.
- În S1, SB-HC excelează pentru MB (4,8 mg/g), VSs-HC pentru DEP (2,1 mg/g), SB-HC pentru BPA (2,6 mg/g). În S2, eficiența crește (DEP: 5,0 mg/g I-VSs-HC; MB: 4,9 mg/g; BPA: 4,1 mg/g I-SB-HC) datorită DOM și microbiotei native.
- Imobilizarea amplifică performanța (I-VSs-HC: 5,0 mg/g DEP; I-SB-HC: 4,0 mg/g BPA) prin sinergia adsorbției (interacțiuni π - π , legături de hidrogen) și biodegradării (oxidaze, monooxigenaze).
- SB-HC favorizează MB și BPA, VSs-HC excelează pentru DEP, WSs-HC este limitat de porozitate.
- Comparativ cu carbonul activat sau compozitele de oxid de grafenă, hidrocarbunii sunt sustenabili, cu performanțe competitive (Tabelul 15).
- Viitoarele cercetări ar trebui să optimizeze porozitatea și să exploreze aplicabilitatea industrială.

CONCLUZII GENERALE

- ❖ Studiile efectuate în cadrul acestei teze doctorat s-au concentrat pe valorificarea deșeurilor de biomasă lignocelulozică pentru obținerea de materiale poroase funcționale și utilizarea acestora ca suporturi pentru imobilizarea unor tulpini bacteriene (în sisteme hibride de adsorbție-biodegradare) destinate îndepărtării poluanților organici persistenti din apele uzate. Studiul a vizat poluanți reprezentativi precum: dietil ftalat (DEP), bisfenol A (BPA) și albastru de metilen (MB), poluanți aleși datorită persistenței, toxicității și frecvenței ridicate de apariție în apa uzată.
- ❖ Analiza fizico-chimică detaliată a deșeurilor de biomasă lignocelulozică (SB, VSs și WSs) a evidențiat diferențe compoziționale semnificative în ceea ce privește conținutul de celuloză, hemiceluloză, lignină, cenușă și carbon, diferențe care au influențat direct comportamentul materialelor în procesul de hidrotermoliză și proprietățile hidrocarbunilor rezultați. Conținutul ridicat de celuloză ($48,10 \pm 1,10$; $49,30 \pm 1,03$) și lignină ($22,87 \pm 0,48$; $24,40 \pm 0,55$) al SB și VSs, respectiv concentrația mai mare de hemiceluloză ($38,20 \pm 0,81$) în WSs, au determinat randamente diferite de conversie și structuri poroase distincte, confirmate prin analize SEM, BET, FTIR, Raman și TGA.
- ❖ Modelarea statistică prin metodologia suprafeței de răspuns a demonstrat că temperatura este factorul dominant care controlează randamentul de masă și gradul de conversie pentru toate tipurile de biomasă ($p < 0,01$), iar condițiile optime de proces (~ 260 °C, 30-60 min, raport solid/lichid 1:10) permit obținerea unor hidrocarbuni cu randamente de 49,95-54,3% și proprietăți structurale adecvate pentru aplicații de mediu. Analizele SEM corelate cu segmentarea WEKA a imaginilor au evidențiat o „arhitectură poroasă” diferențiată: VSs-HC cu porozitate ridicată și macropori ($\approx 45\%$), SB-HC cu o structură densă și număr mare de micropori, iar WSs-HC cu porozitate moderată și distribuție echilibrată a porilor.
- ❖ Caracterizarea suprafeței specifice și a punctului izoelectric au demonstrat că în urma procesul HTC rezultă materiale poroase cu suprafețe specifice de până la $20 \text{ m}^2/\text{g}$ pentru SB-HC, $3 \text{ m}^2/\text{g}$ pentru VSs-HC și $1 \text{ m}^2/\text{g}$ pentru WSs-HC. Valorile pH_I (4,9-6,3) indică o preferință ridicată pentru adsorbția poluanților cationici, în special MB, pe suprafețe acide (SB-HC și WSs-HC), precum și interacțiuni eficiente cu poluanți neutri (DEP) în cazul VSs-HC.
- ❖ Studiile de adsorbție efectuate în apă uzată sintetică au demonstrat că performanța materialelor este strict dependentă de structura poroasă și proprietățile suprafeței: SB-HC

a prezentat capacitatea maximă pentru MB (4,8 mg/g) și BPA (2,6 mg/g), iar VSs-HC pentru DEP (2,1 mg/g). WSs-HC a înregistrat valori mai reduse (1,7-4,1 mg/g), ca urmare a suprafeței specifice limitate și porozității reduse.

- ❖ În apele uzate reale, capacitățile de adsorbție au crescut semnificativ, confirmând rolul favorabil al matricei complexe (materie organică dizolvată, săruri, microorganisme native). VSs-HC a atins 3,8 mg/g pentru DEP, SB-HC și VSs-HC 4,9 mg/g pentru MB, iar SB-HC 2,6 mg/g pentru BPA, indicând amplificarea interacțiunilor hidrofobe și π - π în prezența DOM, în pofida competiției ionice.
- ❖ Un rezultat esențial al tezei îl constituie eficiența imobilizării consorțiului bacterian format din *Pseudomonas* spp. și *Microbacterium* sp. pe un suport de tip hidrocarbune. În urma experimentelor, VSs-HC facilitează adsorbția rapidă de DEP (până la 95% la 4 mM în 24 h), reducând toxicitatea asupra celulelor și permițând mineralizarea prin enzime de tip monooxigenaze și dioxigenaze. Imobilizarea a crescut semnificativ reziliența bacteriană, permițând degradarea a 65% din DEP la 8 mM și 45% la 16 mM, în condiții în care celulele libere erau sever inhibitate.
- ❖ Celulele bacteriene imobilizate pe hidrocarbune au demonstrat eficiențe superioare față de celulele libere în ambele matrici. În S1, valorile au fost de 18,8% pentru DEP, 16,2% pentru BPA și 15,3% pentru MB, în timp ce celulele libere au avut <9% pentru toți poluanții. În S2, eficiențele au crescut la 22,5% pentru DEP, 17,5% pentru BPA și 15,6% pentru MB, față de <8% pentru celulele libere, creșterea fiind determinată de sinergia dintre adsorbție, biodegradarea bacteriană, aportul microbiotei native și influența materiei organice dizolvate (DOM).
- ❖ Rezultatele obținute demonstrează că hidrocarbunii obținuți din deșeuri de biomasă lignocelulozică constituie materiale multifuncționale, eficiente și sustenabile pentru epurarea apelor uzate contaminate cu poluanți organici persistenți. Comparativ cu adsorbanții convenționali, aceste materiale oferă avantaje semnificative prin cost redus, impact ecologic minim, posibilitatea valorificării deșeurilor vegetale și integrarea facilă în tehnologii biologice existente.
- ❖ Prin abordarea interdisciplinară dintre ingineria materialelor, biotehnologie, microbiologie și ingineria mediului această teză demonstrează un sistem eficient de utilizare a unor tulpini bacteriene imobilizate pe hidrocarbune în procese de epurare a apei uzate cât și pentru dezvoltarea de soluții practice, scalabile la nivel pilot sau industrial.

Bibliografie selectivă

- [1] K. C. Jones și P. de Voogt, „Persistent organic pollutants (POPs): state of the science”, *Environ. Pollut.*, vol. 100, nr. 1, pp. 209-221, ian. 1999, doi: 10.1016/S0269-7491(99)00098-6.
- [2] E.-G. Armanu, M. S. Secula, B.-M. Tofanica, și I. Volf, „The Impact of Biomass Composition Variability on the Char Features and Yields Resulted through Thermochemical Processes”, *Polymers*, vol. 16, nr. 16, Art. nr. 16, ian. 2024, doi: 10.3390/polym16162334.
- [3] H. Ali, E. Khan, și I. Ilahi, „Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation”, *J. Chem.*, vol. 2019, nr. 1, p. 6730305, 2019, doi: 10.1155/2019/6730305.
- [4] P. Anerao, R. Kaware, A. kumar Khedikar, M. Kumar, și L. Singh, „18 - Phytoremediation of persistent organic pollutants: Concept challenges and perspectives”, în *Phytoremediation Technology for the Removal of Heavy Metals and Other Contaminants from Soil and Water*, V. Kumar, M. P. Shah, și S. K. Shahi, Ed., Elsevier, 2022, pp. 375-404. doi: 10.1016/B978-0-323-85763-5.00018-0.
- [5] H. Hung, A. A. Katsoyiannis, și R. Guardans, „Ten years of global monitoring under the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs): Trends, sources and transport modelling”, *Environ. Pollut.*, vol. 217, pp. 1-3, oct. 2016, doi: 10.1016/j.envpol.2016.05.035.
- [6] P. Singh și K. Chauhan, „Persistent Organic Pollutants (POPs) in Environment and its Health Impact”, în *Management of Contaminants of Emerging Concern (CEC) in Environment*, Elsevier, 2021, pp. 71-91. doi: 10.1016/B978-0-12-822263-8.00002-6.
- [7] B. Starek-Świechowicz, B. Budziszewska, și A. Starek, „Hexachlorobenzene as a persistent organic pollutant: Toxicity and molecular mechanism of action”, *Pharmacol. Rep.*, vol. 69, nr. 6, pp. 1232-1239, dec. 2017, doi: 10.1016/j.pharep.2017.06.013.
- [8] N. Gaur *et al.*, „Role and Effect of Persistent Organic Pollutants to Our Environment and Wildlife”, în *Persistent Organic Pollutants (POPs) - Monitoring, Impact and Treatment*, IntechOpen, 2022. doi: 10.5772/intechopen.101617.
- [9] S. Bala *et al.*, „Recent Strategies for Bioremediation of Emerging Pollutants: A Review for a Green and Sustainable Environment”, *Toxics*, vol. 10, nr. 8, Art. nr. 8, aug. 2022, doi: 10.3390/toxics10080484.

- [10] N. Kuppan, M. Padman, M. Mahadeva, S. Srinivasan, și R. Devarajan, „A comprehensive review of sustainable bioremediation techniques: Eco friendly solutions for waste and pollution management”, *Waste Manag. Bull.*, vol. 2, nr. 3, pp. 154-171, sep. 2024, doi: 10.1016/j.wmb.2024.07.005.
- [11] K. E. Enerijiofi, „Bioremediation of environmental contaminants: a sustainable alternative to environmental management”, în *Bioremediation for Environmental Sustainability*, Elsevier, 2021, pp. 461-480. doi: 10.1016/B978-0-12-820524-2.00019-5.
- [12] E. G. Armanu, S. Bertoldi, Ł. Chrzanowski, I. Volf, H. J. Heipieper, și C. Eberlein, „Benefits of Immobilized Bacteria in Bioremediation of Sites Contaminated with Toxic Organic Compounds”, *Microorganisms*, vol. 13, nr. 1, Art. nr. 1, ian. 2025, doi: 10.3390/microorganisms13010155.
- [13] D. Berillo, A. Al-Jwaid, și J. Caplin, „Polymeric Materials Used for Immobilisation of Bacteria for the Bioremediation of Contaminants in Water”, *Polymers*, vol. 13, nr. 7, Art. nr. 7, ian. 2021, doi: 10.3390/polym13071073.
- [14] European Commission. Joint Research Centre., *Biomass production, supply, uses and flows in the European Union: first results from an integrated assessment*. LU: Publications Office, 2018. Data accesării: 6 iulie 2025. [Online]. Disponibil la: <https://data.europa.eu/doi/10.2760/539520>
- [15] „Agricultural biomass | Knowledge for policy”. Data accesării: 30 aprilie 2025. [Online]. Disponibil la: https://knowledge4policy.ec.europa.eu/bioeconomy/topic/agricultural-biomass_en
- [16] T. Bhatia și S. S. Sindhu, „Sustainable management of organic agricultural wastes: contributions in nutrients availability, pollution mitigation and crop production”, *Discov. Agric.*, vol. 2, nr. 1, p. 130, dec. 2024, doi: 10.1007/s44279-024-00147-7.
- [17] Y. Wang și J. J. Wu, „Thermochemical conversion of biomass: Potential future prospects”, *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 187, p. 113754, nov. 2023, doi: 10.1016/j.rser.2023.113754.
- [18] J. Petrović *et al.*, „Hydrothermal Carbonization of Waste Biomass: A Review of Hydrochar Preparation and Environmental Application”, *Processes*, vol. 12, nr. 1, Art. nr. 1, ian. 2024, doi: 10.3390/pr12010207.

- [19] M. Cavali *et al.*, „A review on hydrothermal carbonization of potential biomass wastes, characterization and environmental applications of hydrochar, and biorefinery perspectives of the process”, *Sci. Total Environ.*, vol. 857, p. 159627, ian. 2023, doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.159627.
- [20] T. Wang, Y. Zhai, Y. Zhu, C. Li, și G. Zeng, „A review of the hydrothermal carbonization of biomass waste for hydrochar formation: Process conditions, fundamentals, and physicochemical properties”, *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 90, pp. 223-247, iul. 2018, doi: 10.1016/j.rser.2018.03.071.
- [21] B. M. Sharma *et al.*, „Complementing global chemicals management through shaping consumer behavior”, *iScience*, vol. 28, nr. 6, p. 112700, iun. 2025, doi: 10.1016/j.isci.2025.112700.
- [22] R. P. Schwarzenbach *et al.*, „The Challenge of Micropollutants in Aquatic Systems”, *Science*, vol. 313, nr. 5790, pp. 1072-1077, aug. 2006, doi: 10.1126/science.1127291.
- [23] P. J. Landrigan *et al.*, „The Lancet Commission on pollution and health”, *The Lancet*, vol. 391, nr. 10119, pp. 462-512, feb. 2018, doi: 10.1016/S0140-6736(17)32345-0.
- [24] P. O. Ukaogo, U. Ewuzie, și C. V. Onwuka, „Environmental pollution: causes, effects, and the remedies”, în *Microorganisms for Sustainable Environment and Health*, Elsevier, 2020, pp. 419-429. doi: 10.1016/B978-0-12-819001-2.00021-8.
- [25] N. Gaur, S. Sharma, și N. Yadav, „Environmental pollution”, în *Green Chemistry Approaches to Environmental Sustainability*, Elsevier, 2024, pp. 23-41. doi: 10.1016/B978-0-443-18959-3.00010-0.
- [26] H. Yang și M. Umair, „Polluting industries: Does green industrial policy encourage green innovation? Chinese perspective evidence”, *Heliyon*, vol. 10, nr. 17, p. e36634, sep. 2024, doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e36634.
- [27] E. Popek, „Environmental Chemical Pollutants”, în *Sampling and Analysis of Environmental Chemical Pollutants*, Elsevier, 2018, pp. 13-69. doi: 10.1016/B978-0-12-803202-2.00002-1.
- [28] K. C. Jones și P. De Voogt, „Persistent organic pollutants (POPs): state of the science”, *Environ. Pollut.*, vol. 100, nr. 1-3, pp. 209-221, 1999, doi: 10.1016/S0269-7491(99)00098-6.

- [29] A. Pariatamby și Y. L. Kee, „Persistent Organic Pollutants Management and Remediation”, *Procedia Environ. Sci.*, vol. 31, pp. 842-848, 2016, doi: 10.1016/j.proenv.2016.02.093.
- [30] D. Geetha și E. R. Nagarajan, „Impact and Issues of Organic Pollutants”, în *Management of Contaminants of Emerging Concern (CEC) in Environment*, Elsevier, 2021, pp. 93-126. doi: 10.1016/B978-0-12-822263-8.00003-8.
- [31] P. Borah, M. Kumar, și P. Devi, „Recent trends in the detection and degradation of organic pollutants”, în *Abatement of Environmental Pollutants*, Elsevier, 2020, pp. 67-79. doi: 10.1016/B978-0-12-818095-2.00003-5.
- [32] Y. Sun, Q. Zhou, X. Xie, și R. Liu, „Spatial, sources and risk assessment of heavy metal contamination of urban soils in typical regions of Shenyang, China”, *J. Hazard. Mater.*, vol. 174, nr. 1-3, pp. 455-462, feb. 2010, doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.09.074.
- [33] R. Lohmann, K. Breivik, J. Dachs, și D. Muir, „Global fate of POPs: Current and future research directions”, *Environ. Pollut.*, vol. 150, nr. 1, pp. 150-165, nov. 2007, doi: 10.1016/j.envpol.2007.06.051.
- [34] N. Gaur, D. Dutta, A. Singh, R. Dubey, și D. V. Kamboj, „Recent advances in the elimination of persistent organic pollutants by photocatalysis”, *Front. Environ. Sci.*, vol. 10, p. 872514, nov. 2022, doi: 10.3389/fenvs.2022.872514.
- [35] W. Guo, X. Ji, Z. Yu, H. Jiang, și X. Guan, „Research Progress and Challenges on Persistent Organic Pollutants in Lakes”, *J. Earth Sci.*, vol. 35, nr. 2, pp. 729-736, apr. 2024, doi: 10.1007/s12583-024-1978-8.
- [36] K. C. Jones, „Persistent Organic Pollutants (POPs) and Related Chemicals in the Global Environment: Some Personal Reflections”, *Environ. Sci. Technol.*, vol. 55, nr. 14, pp. 9400-9412, iul. 2021, doi: 10.1021/acs.est.0c08093.
- [37] E. Diamanti-Kandarakis *et al.*, „Endocrine-Disrupting Chemicals: An Endocrine Society Scientific Statement”, *Endocr. Rev.*, vol. 30, nr. 4, pp. 293-342, iun. 2009, doi: 10.1210/er.2009-0002.
- [38] „Peer Reviewed: Tracking the Distribution of Persistent Organic Pollutants”, *Environ. Sci. Technol.*, vol. 30, nr. 9, pp. 390A-396A, aug. 1996, doi: 10.1021/es962399q.

- [39] L. Li, C. Chen, D. Li, K. Breivik, G. Abbasi, și Y.-F. Li, „What do we know about the production and release of persistent organic pollutants in the global environment?”, *Environ. Sci. Adv.*, vol. 2, nr. 1, pp. 55-68, ian. 2023, doi: 10.1039/D2VA00145D.
- [40] D. Pimentel *et al.*, „Environmental and Economic Costs of Pesticide Use”, *BioScience*, vol. 42, nr. 10, pp. 750-760, nov. 1992, doi: 10.2307/1311994.
- [41] W. Aktar, D. Sengupta, și A. Chowdhury, „Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards”, *Interdiscip. Toxicol.*, vol. 2, nr. 1, pp. 1-12, iun. 2009, doi: 10.2478/v10102-009-0001-7.
- [42] A. Mangotra și S. K. Singh, „Volatile organic compounds: A threat to the environment and health hazards to living organisms – A review”, *J. Biotechnol.*, vol. 382, pp. 51-69, feb. 2024, doi: 10.1016/j.jbiotec.2023.12.013.
- [43] S. H. Safe, „Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Environmental Impact, Biochemical and Toxic Responses, and Implications for Risk Assessment”, *Crit. Rev. Toxicol.*, vol. 24, nr. 2, pp. 87-149, ian. 1994, doi: 10.3109/10408449409049308.
- [44] D. Megson, I. G. Idowu, și C. D. Sandau, „Is current generation of polychlorinated biphenyls exceeding peak production of the 1970s?”, *Sci. Total Environ.*, vol. 924, p. 171436, mai 2024, doi: 10.1016/j.scitotenv.2024.171436.
- [45] R. Weber *et al.*, „Dioxin- and POP-contaminated sites—contemporary and future relevance and challenges”, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 15, nr. 5, pp. 363-393, iul. 2008, doi: 10.1007/s11356-008-0024-1.
- [46] A. Schechter, L. Birnbaum, J. J. Ryan, și J. D. Constable, „Dioxins: An overview”, *Environ. Res.*, vol. 101, nr. 3, pp. 419-428, iul. 2006, doi: 10.1016/j.envres.2005.12.003.
- [47] H. I. Abdel-Shafy și M. S. M. Mansour, „A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation”, *Egypt. J. Pet.*, vol. 25, nr. 1, pp. 107-123, mar. 2016, doi: 10.1016/j.ejpe.2015.03.011.
- [48] K.-H. Kim, S. A. Jahan, E. Kabir, și R. J. C. Brown, „A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects”, *Environ. Int.*, vol. 60, pp. 71-80, oct. 2013, doi: 10.1016/j.envint.2013.07.019.

- [49] H. I. Abdel-Shafy și M. S. M. Mansour, „A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation”, *Egypt. J. Pet.*, vol. 25, nr. 1, pp. 107-123, mar. 2016, doi: 10.1016/j.ejpe.2015.03.011.
- [50] R. C. Buck *et al.*, „Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: Terminology, classification, and origins”, *Integr. Environ. Assess. Manag.*, vol. 7, nr. 4, pp. 513-541, oct. 2011, doi: 10.1002/ieam.258.
- [51] D. C. Perera și J. N. Meegoda, „PFAS: The Journey from Wonder Chemicals to Environmental Nightmares and the Search for Solutions”, *Appl. Sci.*, vol. 14, nr. 19, p. 8611, sep. 2024, doi: 10.3390/app14198611.
- [52] P. Dewapriya *et al.*, „Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in consumer products: Current knowledge and research gaps”, *J. Hazard. Mater. Lett.*, vol. 4, p. 100086, nov. 2023, doi: 10.1016/j.hazl.2023.100086.
- [53] A. C. Gore *et al.*, „EDC-2: The Endocrine Society’s Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals”, *Endocr. Rev.*, vol. 36, nr. 6, pp. E1-E150, dec. 2015, doi: 10.1210/er.2015-1010.
- [54] E. R. Kabir, M. S. Rahman, și I. Rahman, „A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health”, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 40, nr. 1, pp. 241-258, iul. 2015, doi: 10.1016/j.etap.2015.06.009.
- [55] S. Hassan *et al.*, „Endocrine disruptors: Unravelling the link between chemical exposure and Women’s reproductive health”, *Environ. Res.*, vol. 241, p. 117385, ian. 2024, doi: 10.1016/j.envres.2023.117385.
- [56] K. Kümmerer, „Pharmaceuticals in the Environment”, *Annu. Rev. Environ. Resour.*, vol. 35, nr. Volume 35, 2010, pp. 57-75, nov. 2010, doi: 10.1146/annurev-environ-052809-161223.
- [57] A. B. A. Boxall *et al.*, „Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: What Are the Big Questions?”, *Environ. Health Perspect.*, vol. 120, nr. 9, pp. 1221-1229, sep. 2012, doi: 10.1289/ehp.1104477.
- [58] F. A. Caliman și M. Gavrilăscu, „Pharmaceuticals, Personal Care Products and Endocrine Disrupting Agents in the Environment – A Review”, *CLEAN – Soil Air Water*, vol. 37, nr. 4-5, pp. 277-303, 2009, doi: 10.1002/clen.200900038.

