



**UNIVERSITATEA TEHNICĂ
„GHEORGHE ASACHI” DIN IAȘI
Școala Doctorală a Facultății de
Inginerie Chimică și Protecția Mediului**



***SORPTION PROCESSES APPLIED FOR THE REMOVAL OF
HEAVY METALS FROM CONTAMINATED ENVIRONMENTS***

***PROCESE DE SORBȚIE APLICATE PENTRU ÎNDEPĂRTAREA
METALELOR GRELE DIN MEDII CONTAMINATE***

- REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT -

Conducători științifici:

Prof.univ.dr.ing. Maria Gavrilescu

Universitatea Tehnică Gheorghe Asachi din Iași, Romania

Prof.univ.dr.ing. Teresa Tavares

Universitatea Minho, Braga, Portugalia

***Doctorand
ing. Raluca – Maria Hlihor***

IAȘI – 2011



Proiectul „**Burse Doctorale - O Investiție în Inteligență (BRAIN)**”, POSDRU/6/1.5/S/9, ID 6681, este un proiect strategic care are ca obiectiv general „Îmbunătățirea formării viitorilor cercetători în cadrul ciclului 3 al învățământului superior - studiile universitare de doctorat - cu impact asupra creșterii atractivității și motivației pentru cariera în cercetare”.

Proiect finanțat în perioada 2008 - 2011

Finanțare proiect: 14.424.856,15 RON

Beneficiar: Universitatea Tehnică “Gheorghe Asachi” din Iași

Partener: Universitatea “Vasile Alecsandri” din Bacău

Director proiect: Prof. univ. dr. ing. Carmen TEODOSIU

Responsabil proiect partener: Prof. univ. dr. ing. Gabriel LAZĂR

UNIVERSITATEA TEHNICĂ „GHEORGHE ASACHI” DIN IAȘI
R E C T O R A T U L

Către
.....

Vă facem cunoscut că în ziua de **27.10.2011**, la ora **12.30**, în Sala de Consiliu a Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului, va avea loc susținerea publică a tezei de doctorat intitulată:

**“ SORPTION PROCESSES APPLIED FOR THE REMOVAL OF HEAVY METALS FROM
CONTAMINATED ENVIRONMENTS”**

**(„Procese de sorbție aplicate pentru îndepărtarea metalelor grele
din medii contaminate”)**

elaborată de inginer **Raluca - Maria HLIHOR**, în vederea conferirii titlului științific de doctor.

Comisia de doctorat este alcătuită din:

- | | |
|--|------------------------|
| 1. Prof. univ. dr. ing. Nicolae HURDUC
Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” din Iași | - președinte |
| 2. Prof. univ. dr. ing. Maria GAVRILESCU
Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” din Iași | -conducător științific |
| 3. Prof. univ. dr. ing. Teresa TAVARES
Universitatea Minho, Braga, Portugalia | -conducător științific |
| 4. Prof. univ. dr. ing. Anca DUȚĂ-CAPRĂ
Universitatea „Transilvania” din Brașov | - referent oficial |
| 5. Prof. univ. dr. ing. Alexandra-Raluca IORDAN
Universitatea „Alexandru Ioan Cuza” din Iași | - referent oficial |
| 6. Conf.dr.ing. Igor Crețescu
Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” din Iași | - referent oficial |

Vă trimitem rezumatul tezei de doctorat cu rugămintea de a ne comunica, în scris, aprecierile dumneavoastră.

Cu această ocazie vă invităm să participați la susținerea publică a tezei de doctorat.

RECTOR,
Prof.univ.dr.ing. **ION GIURMA**



SECRETAR,
Ing. Cristina **NAGIȚ**

Mulțumiri

În primul rând doresc să adresez cele mai calde mulțumiri conducătorilor de doctorat, doamnei Prof.dr.ing. Maria Gavrilăscu și doamnei Prof.dr.ing. Teresa Tavares, pentru îndrumare, suport și încurajare pe tot parcursul celor 3 ani de studii doctorale.

Sincere mulțumiri și deosebită recunoștință adresez doamnei Prof.dr.ing. Maria Gavrilăscu pentru contribuția la evoluția mea intelectuală și profesională, pentru profesionalismul și atitudinea riguroasă cu care s-a implicat în coordonarea activității de cercetare și elaborare a tezei de doctorat. Îi mulțumesc pentru exemplul exceptional pe care mi l-a oferit ca inginer, profesor și mentor, pentru criticile constructive și încurajările calde! A fost un privilegiu și deosebită onoare să elaborez teza de doctorat sub conducerea științifică a doamnei Profesor!

Deosebită recunoștință îi adresez doamnei Prof.dr.ing. Teresa Tavares care mi-a oferit oportunitatea de a lucra ca doctorand sub coordonarea domniei sale, în cadrul Universității Minho, Braga, Portugalia. Apreciez comentariile detaliate și constructive și suportul acordat pe parcursul elaborării acestei lucrări.

Doresc să adresez cele mai sincere mulțumiri doamnei Șef lucrări dr.biol. Mariana Diaconu care m-a sprijinit și încurajat necondiționat oferindu-mi sfaturi prețioase și o îndrumare competentă.

Sincere mulțumiri adresez profesorilor de la Departamentul de Ingineria și Managementul Mediului pentru aleasa pregătire oferită pe parcursul studiilor universitare, contribuind la formarea mea profesională.

Mulțumiri speciale adresez referenților oficiali pentru timpul acordat, pentru observațiile și sugestiile care au condus la forma finală a acestei teze de doctorat.

Mulțumesc echipei manageriale și, în mod special doamnei Prof.dr.ing Carmen Teodosiu, care a realizat Proiectul „Burse Doctorale - O Investiție în Inteligență (BRAIN)”, ID 6681, al cărui beneficiar am fost în perioada elaborării prezentei teze de doctorat.

Cele mai profunde mulțumiri sunt adresate tuturor colegilor și prietenilor, doctoranzi și post-doctoranzi din cadrul Departamentului de Ingineria și Managementul Mediului, pentru prietenia sinceră, sfaturile și buna colaborare. Mulțumesc și colegilor din cadrul Departamentului de Inginerie Biologică, Universitatea Minho. Deprinderile tehnice pe care le-am învățat în timpul stagiului de cercetare au făcut posibilă implementarea acestei teze. Voi prețui amintirile acestei experiențe pentru o perioadă îndelungată de timp.

Îi mulțumesc din tot sufletul celei mai importante și speciale persoane din viața mea, pentru dragostea și sprijinul necondiționat pe care el mi l-a oferit în tot acest timp.

Gândurile cele mai alese și profunda mea recunoștință se îndreaptă către părinții mei pentru dragostea și încurajările pe care mi le-au oferit, în special în acești ani ai formării mele profesionale. Sincera admirație și stimă pentru libertatea și șansa pe care mi-au oferit-o în a-mi urmări propriile țeluri în viață.

Dedic această teză de doctorat cu toată dragostea și recunoștința
mamei și tatălui meu.

Iași, Octombrie
2011

CUPRINS

INTRODUCERE.....	1
 Partea I - STATE-OF-THE-ART, STUDIU ȘI ANALIZĂ CRITICĂ	
Capitolul 1. BIOSORBȚIA METALELOR GRELE: STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRIILOR, CARACTERISTICI GENERALE ȘI APLICAȚII ÎN BIOREMEDIEREA MEDIULUI.....	7
1.1. Metalele grele în mediu.....	7
1.1.1. Cadmiu.....	9
1.1.2. Plumb.....	10
1.1.3. Crom.....	11
1.2. Scurtă sinteză privind metodele convenționale de îndepărtare a metalelor grele din soluții apoase.....	13
1.3. Biosorbția și bioacumularea – alternative prietenoase cu mediul pentru îndepărtarea metalelor grele din medii contaminate.....	15
1.4. Interacțiunea metalelor grele cu sistemele biologice.....	18
1.4.1. Potențialul biomasei fungice în biosorbția și bioacumularea metalelor grele.....	19
1.4.2. Potențialul biomasei bacteriene în biosorbția și bioacumularea metalelor grele.....	22
1.4.3. Alte categorii de biomasă cu rol în biosorbția metalelor grele.....	24
1.5. Mecanismele prin care microorganismele rețin metale grele.....	25
1.6. Modelarea procesului de biosorbție.....	31
1.6.1. Modelarea echilibrului procesului de biosorbție.....	32
1.6.2. Modelarea cineticii procesului de biosorbție.....	35
1.6.3. Studii termodinamice.....	38
1.7. Desorbția și regenerarea biosorbenților.....	39
1.8. Costuri ale biosorbenților.....	40
1.9. Concluzii.....	41
 Partea a II-a. CONTRIBUȚII PERSONALE ȘI REZULTATE ORIGINALE	
Capitolul 2. BIOSORBȚIA METALELOR GRELE DIN SOLUȚII APOASE FOLOSIND BACTERIA <i>Arthrobacter viscosus</i>.....	43
2.1. Scopul și importanța cercetării.....	43
2.2. Materiale și metode.....	45
2.2.1. Microorganism, însămânțare și condiții de creștere.....	45
2.2.2. Procedura experimentală în regim discontinuu.....	46
2.2.3. Procedura experimentală în regim continuu.....	47
2.2.4. Reactivi și aparatură.....	49
2.2.5. Analiza FT-IR.....	49
2.2.6. Cuantificarea eficienței procesului.....	49
2.3. Biosorbția Cr(VI) din soluții apoase de către biomasa viabilă și neviabilă a bacteriei <i>Arthrobacter viscosus</i>.....	50
2.3.1. Îndepărtarea ionilor de Cr(VI): reducerea la Cr(III) și biosorbția de către biomasa neviabilă a bacteriei <i>Arthrobacter viscosus</i>	50
2.3.1.1. Influența pH-ului inițial al soluției asupra reducerii Cr(VI) și a biosorbției Cr total.....	50

2.3.1.2. Influența concentrației de biosorbent asupra reducerii Cr(VI) și a biosorbției Cr total.....	55
2.3.1.3. Influența timpului de contact asupra reducerii Cr(VI) și a biosorbției Cr total.....	57
2.3.1.4. Cinetica procesului de biosorbție.....	58
2.3.1.5. Influența concentrației inițiale a Cr(VI), izoterme de sorbție și parametri termodinamici.....	60
2.3.2. Îndepărtarea ionilor de Cr(VI): reducerea la Cr(III) și biosorbția de către biomasa viabilă a bacteriei <i>Arthrobacter viscosus</i>	63
2.3.2.1. Influența pH-lui inițial al soluției asupra reducerii Cr(VI) și a biosorbției Cr total.....	63
2.3.2.2. Influența concentrației de biosorbent asupra reducerii Cr(VI) și a biosorbției Cr total.....	65
2.3.2.3. Influența timpului de contact asupra reducerii Cr(VI) și a biosorbției Cr total.....	67
2.3.2.4. Cinetica procesului de biosorbție	68
2.3.2.5. Influența concentrației inițiale a Cr(VI) și izoterme de sorbție.....	70
2.3.2.6. Studiul în regim dinamic a biosorbției Cr(VI).....	71
2.4. Biosorbția Cd(II) din soluții apoase de către biomasa viabilă și neviabilă a bacteriei <i>Arthrobacter viscosus</i>.....	73
2.4.1. Biosorbția Cd(II) de către biomasa neviabilă a bacteriei <i>Arthrobacter viscosus</i>	73
2.4.1.1. Influența pH-lui inițial al soluției asupra biosorbției Cd(II).....	74
2.4.1.2. Influența concentrației de biosorbent asupra biosorbției Cd(II).....	76
2.4.1.3. Influența timpului de contact asupra biosorbției Cd(II).....	77
2.4.1.4. Cinetica procesului de biosorbție.....	78
2.4.1.5. Influența concentrației inițiale a Cd(II), izoterme de sorbție și parametri termodinamici.....	80
2.4.2. Biosorbția Cd(II) de către biomasa viabilă a bacteriei <i>Arthrobacter viscosus</i>	83
2.4.2.1. Influența pH-lui inițial al soluției asupra biosorbției Cd(II).....	83
2.4.2.2. Influența concentrației de biosorbent asupra biosorbției Cd(II).....	84
2.4.2.3. Influența concentrației inițiale a Cd(II) și izoterme de sorbție.....	85
2.4.2.4. Studiul în regim dinamic al biosorbției Cd(II).....	88
2.5. Biosorbția Pb(II) din soluții apoase de către biomasa viabilă și neviabilă a bacteriei <i>Arthrobacter viscosus</i>.....	89
2.5.1. Biosorbția Pb(II) de către biomasa neviabilă a bacteriei <i>Arthrobacter viscosus</i>	89
2.5.1.1. Influența pH-lui inițial al soluției asupra biosorbției Pb(II).....	89
2.5.1.2. Influența concentrației de biosorbent asupra biosorbției Pb(II).....	91
2.5.1.3. Influența timpului de contact asupra biosorbției Pb(II).....	92
2.5.1.4. Cinetica procesului de biosorbție.....	93
2.5.1.5. Influența concentrației inițiale a Pb(II), izoterme de sorbție și parametri termodinamici.....	95
2.5.2. Biosorbția Pb(II) de către biomasa viabilă a bacteriei <i>Arthrobacter viscosus</i>	98
2.5.2.1. Influența pH-lui inițial al soluției asupra biosorbției Pb(II).....	99
2.5.2.2. Influența concentrației de biosorbent asupra biosorbției Pb(II).....	100
2.5.2.3. Influența concentrației inițiale a Pb(II) și izoterme de sorbție.....	101
2.5.2.4. Studiul în regim dinamic al biosorbției Pb(II) din soluții apoase.....	102
2.6. Mecanismul biosorbției Cr(VI), Cd(II) și Pb(II) din soluții apoase de către biomasa viabilă și neviabilă a bacteriei <i>Arthrobacter viscosus</i>.....	103

2.7. Concluzii.....	106
Capitolul 3. BIOSORBȚIA METALELOR GRELE DIN SOLUȚII APOASE FOLOSIND MUCEGAIUL <i>Trichoderma viride</i>.....	109
3.1. Scopul și importanța cercetării.....	109
3.2. Materiale și metode.....	110
3.2.1. Microorganism, însămânțare și condiții de creștere.....	111
3.2.2. Procedura experimentală privind biosorbția metalelor grele în regim discontinuu.....	112
3.2.3. Procedura experimentală privind bioacumularea metalelor grele în regim discontinuu.....	113
3.2.4. Reactivi și aparatură.....	113
3.2.5. Analiza FT-IR și SEM-EDX.....	114
3.2.6. Cuantificarea eficienței procesului.....	114
3.3. Biosorbția Cr(VI) din soluții apoase de către biomasa viabilă și neviabilă a mucegaiului <i>Trichoderma viride</i>.....	114
3.3.1. Îndepărtarea ionilor de Cr(VI): reducerea la Cr(III) și biosorbția de către biomasa neviabilă a mucegaiului <i>Trichoderma viride</i>	115
3.3.1.1. Influența pH-lui inițial al soluției asupra reducerii Cr(VI).....	115
3.3.1.2. Influența concentrației de biosorbent asupra reducerii Cr(VI) și a biosorbției Cr total.....	116
3.3.1.3. Influența timpului de contact, a concentrației inițiale de ion metalic și a temperaturii asupra reducerii Cr(VI).....	118
3.3.1.4. Cinetica procesului de biosorbție.....	119
3.3.1.5. Izoterme de sorbție și parametri termodinamici.....	121
3.3.2. Îndepărtarea ionilor de Cr(VI): reducerea la Cr(III) și biosorbția de către biomasa viabilă a mucegaiului <i>Trichoderma viride</i>	123
3.3.2.1. Influența pH-lui inițial al soluției asupra reducerii Cr(VI) și a biosorbției Cr total.....	124
3.3.2.2. Creșterea mucegaiului <i>T. viride</i> în prezența Cr(VI).....	126
3.4. Biosorbția Cd(II) din soluții apoase de către biomasa viabilă și neviabilă a mucegaiului <i>Trichoderma viride</i>.....	128
3.4.1. Biosorbția Cd(II) de către biomasa neviabilă a mucegaiului <i>Trichoderma viride</i>	129
3.4.1.1. Influența pH-lui inițial al soluției asupra biosorbției Cd(II).....	129
3.4.1.2. Influența concentrației de biosorbent asupra biosorbției Cd(II).....	131
3.4.1.3. Influența timpului de contact și a temperaturii asupra biosorbției Cd(II).....	131
3.4.1.4. Cinetica procesului de biosorbție.....	133
3.4.1.5. Influența concentrației inițiale a Cd(II), izoterme de sorbție și parametri termodinamici.....	135
3.4.1.6. Studiul desorbției Cd(II) în regim discontinuu.....	138
3.4.2. Biosorbția Cd(II) de către biomasa viabilă a mucegaiului <i>Trichoderma viride</i> ..	139
3.4.2.1. Influența pH-lui inițial al soluției asupra biosorbției Cd(II).....	139
3.4.2.2. Creșterea mucegaiului <i>T. viride</i> în prezența Cd(II).....	140
3.5. Mecanismul biosorbției Cr(VI) și Cd(II) din soluții apoase de către biomasa viabilă și neviabilă a mucegaiului <i>Trichoderma viride</i>.....	143
3.6. Concluzii.....	149
Capitolul 4. BIOSORBȚIA METALELOR GRELE DIN SOLUȚII APOASE FOLOSIND DROJDIA <i>Saccharomyces cerevisiae</i>.....	153

4.1. Scopul și importanța cercetării.....	153
4.2. Materiale și metode.....	154
4.2.1. Microorganism.....	154
4.2.2. Procedura experimentală în regim discontinuu.....	155
4.2.3. Reactivi și aparatură.....	156
4.2.4. Analiza FT-IR și SEM-EDX.....	156
4.2.5. Cuantificarea eficienței procesului.....	156
4.3. Biosorbția Cr(VI) și Cd(II) din soluții apoase de către biomasa neviabilă a drojdiei <i>Saccharomyces cerevisiae</i>.....	156
4.3.1. Îndepărtarea ionilor de Cr(VI): reducerea la Cr(III) și biosorbția de către biomasa neviabilă a drojdiei <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	156
4.3.1.1. Influența pH-lui inițial al soluției asupra reducerii Cr(VI) și a biosorbției Cr total.....	156
4.3.1.2. Influența concentrației de biosorbent asupra reducerii Cr(VI) și a biosorbției Cr total.....	158
4.3.1.3. Influența timpului de contact, a concentrației inițiale de ion metalic și a temperaturii asupra reducerii Cr(VI).....	159
4.3.1.4. Cinetica procesului de biosorbție.....	160
4.3.1.5. Izoterme de sorbție și parametri termodinamici.....	162
4.3.1.6. Studiul desorbției Cr(VI) în regim discontinuu.....	165
4.3.2. Biosorbția Cd(II) din soluții apoase de către biomasa neviabilă a drojdiei <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	166
4.3.2.1. Influența pH-lui inițial al soluției asupra biosorbției Cd(II).....	167
4.3.2.2. Influența concentrației de biosorbent și a temperaturii asupra biosorbției Cd(II).....	168
4.3.2.3. Influența timpului de contact și a temperaturii asupra biosorbției Cd(II).....	169
4.3.2.4. Cinetica procesului de biosorbție.....	170
4.3.2.5. Influența concentrației inițiale a Cd(II), izoterme de sorbție și parametri termodinamici.....	172
4.3.2.6. Studiul desorbției Cd(II) în regim discontinuu.....	175
4.4. Mecanismul biosorbției Cr(VI) și Cd(II) din soluții apoase de către biomasa neviabilă a <i>Sacharomyces cerevisiae</i>.....	176
4.5. Concluzii.....	179
 Capitolul 5. EVALUAREA ȘI COMPARAREA PERFORMANȚEI MICROORGANISMELOR <i>Arthrobacter viscosus</i>, <i>Trichoderma viride</i> ȘI <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ÎN PROCESUL DE BIOSORBȚIE A METALELOR GRELE DIN SOLUȚII APOASE.....	 181
 CONCLUZII GENERALE.....	 193
 BIBLIOGRAFIE.....	 201
Anexa 1. ACTIVITATEA ȘTIINȚIFICĂ.....	219
Anexa 2. LISTA FIGURILOR.....	223
Anexa 3. LISTA TABLELOR.....	229

În rezumatul tezei de doctorat se prezintă o parte din rezultatele cercetărilor experimentale proprii, concluziile generale și bibliografie selectivă. La redactarea rezumatului s-au păstrat aceleași notații pentru capitole, paragrafe, figuri, tabele și ecuații utilizate în textul tezei de doctorat

INTRODUCERE

Metalele grele sunt printre poluanți persistenți care nu fac obiectul proceselor de (bio)degradare naturale sau intenționate. Drept consecință, concentrația lor poate depăși adesea nivelul normal admis în sol, apă și sedimente. Poluarea mediului înconjurător cu metale grele este rezultatul industrializării masive și altor activități umane conexe, care nu au fost concepute, proiectate și exploatate pe principiile tehnologiilor curate. În particular, poluarea cu metale grele reprezintă în general rezultatul activității unor categorii de industrii cum ar fi, industria chimică, industria metalurgică, industria textilă, industria minieră, procesele de rafinare, industria de lacuri și vopsele, tăbăcăriile, efluenții din surse menajere, ploile acide. În acest context, hazardelor generate de prezența metalelor grele în mediu și riscurile asociate datorită acumulării acestora în țesuturi prin lanțul trofic, pot conduce la probleme serioase atât de ordin ecologic cât și de ordin uman (Hlihor și Gavrilescu, 2009a; Loukidou și colab., 2004).

Deși la ora actuală se aplică procese fizico-chimice pentru îndepărtarea metalelor grele din mediul înconjurător, unele sunt costisitoare, neprietenoase pentru mediu, eficiența lor poate depinde de concentrația poluanților în mediul tratat, pot genera produse secundare toxice. Prin urmare, amplificarea și dezvoltarea studiilor și cercetărilor pentru elaborarea unor metode eficiente de tratare a poluării cu metale grele, prietenoase pentru mediu și cu costuri scăzute reprezintă un deziderat major pentru cercetătorii în domeniu.

În acest context, **biotehnologia aplicată în prevenirea și controlul poluării poate oferi soluții fezabile și durabile**, mai ales acolo unde procesele fizico-chimice pun diverse probleme. Studiile și cercetările elaborate la scară de laborator și, unele la scară mare au demonstrat că **biosorbția și bioacumularea** au un potențial ridicat de aplicare pentru îndepărtare metalelor grele, comparativ cu metodele convenționale și reprezintă o alternativă durabilă pentru reținerea și chiar recuperarea metalelor grele din soluții apoase. Aceste metode se bazează pe proprietatea biomasei, inactivă din punct de vedere metabolic (moartă) ori viabilă de a imobiliza diverse metale grele.

Sorbția este o operație larg aplicată în procesele de separare, iar asocierea prefixului 'bio' indică implicarea unei entități biologice (organism viu, componentă sau produs derivat de la un organism viu) (Gadd, 2009).

Biosorbția se bazează pe interacțiunea fizico-chimică indirectă care poate avea loc între metal și biomasă neviabilă, similară procesului de adsorbție. Procesul de biosorbție implică o *fază solidă* (biosorbentul – un material de natură biologică) și o *fază lichidă* (solvent - în general apă) ce

conține o specie dizolvată ce urmează a fi sorbită (sorbat - ion de metal) (Volesky, 2007).

Acumularea metalelor grele de către celulele vii, denumită în mod obișnuit *bioacumulare* este dependentă de activitatea metabolică a celulelor, care, în schimb poate fi afectată în mod semnificativ de prezența ionilor metalici. Toleranța metalului poate reflecta abilitatea unui organism de a supraviețui într-un mediu cu concentrații ridicate de metale sau de a acumula concentrații crescute de metal fără a muri (Chojnacka, 2010; Volesky, 1990).

Biosorbția și bioacumularea sunt considerate alternative durabile în raport cu procedeele convenționale de decontaminare, ca urmare a faptului că folosesc microorganisme neviabile/viabile care, ulterior sorbției pot fi incinerate, iar cenușa ce conține metale grele poate fi depozitată în condiții sigure sau folosită în obținerea unor materiale de construcție. Înțelegerea procesului de sorbție a ionilor de metal din soluții apoase este importantă în controlul poluării apei și solului și reprezintă una dintre cele mai eficiente căi de îndepărtare a metalelor grele din medii contaminate, după trecerea metalelor în soluție.

În ciuda a numeroase studii și cercetări efectuate la scară laborator și pilot, există încă numeroase aspecte neelucidate în privința mecanismului, aspectelor cinetice și de echilibru ce privesc procesele de biosorbție și bioacumulare, motiv pentru care procesele nu sunt aplicate extensiv pe scară largă. În acest context s-a considerat oportună elaborarea unor studii și cercetări privind comportamentul unor metale grele în mediul înconjurător, găsirea unor tipuri de biosorbenți eficienți, investigarea mecanismelor prin care microorganismele rețin sau/și bioacumulează metalele grele.

Cd(II), Pb(II) și Cr(VI) se află printre metalele grele cu utilizarea cea mai largă în industrie, potențial impact asupra mediului înconjurător dar și efecte nedorite asupra sănătății umane. În general, metalele reprezintă minerale esențiale pentru majoritatea organismelor aerobe și anaerobe. Totuși, s-a stabilit că există pericole și riscuri induse asupra sănătății asociate cu metalele grele, mai ales ca urmare a faptului că ele se acumulează în diferite organe interne, cantități mari depuse, putând cauza reacții adverse și probleme serioase asupra sănătății. Prin urmare, o înțelegere completă asupra efectelor toxice cauzate de eliberarea în mediu a metalelor grele a determinat intensificarea studiilor pentru găsirea unor noi metode de îndepărtare/recuperare a metalelor din soluții apoase și reducere a ionilor de metale grele, pe un domeniu larg de concentrații.

În acest context, teza de doctorat are ca obiectiv fundamental aplicarea principiilor uneia dintre cele mai relevante ramuri ale biotehnologiei, bioremedierea, urmărind două direcții, biosorbția și bioacumularea, aplicate pentru îndepărtarea din soluții apoase a unor metale

grele selectate prin utilizarea unor microorganisme neviabile și viabile ca biosorbenți.

Teza de doctorat cu titlul “*Sorption processes applied for the removal of heavy metals from contaminated environments*” (Procese de sorbție aplicate pentru îndepărtarea metalelor grele din medii contaminate) abordează o problemă complexă ce vizează următoarele aspecte:

- analiza din punct de vedere calitativ și cantitativ a structurii, comportării și funcțiilor microorganismelor cu scopul de a elucida mecanismul de reținere a metalelor;

- screening-ul celor mai eficienți biosorbenți, cu scopul de a evalua potențialul procesului de biosorbție/bioacumulare pentru eliminarea de metale grele din soluții apoase;

- realizarea unor studii și cercetări în domeniul biosorbției/bioacumulării care pot oferi soluții noi, viabile, eficiente și durabile din punctul de vedere al costurilor și al posibilităților de aplicare;

- îndepărtarea metalelor grele din soluție până la cel mai scăzut nivel, sub concentrația maxim admisibilă cerută prin lege;

- cercetare aprofundată, necesară în înțelegerea informațiilor privind mecanismul complex al proceselor dar și interacțiunile dintre metalele grele și microorganisme;

- evaluarea și compararea proceselor în termeni de eficiență și capacitate maximă de sorbție în vederea proiectării;

- continua generare de cunoaștere și facilitarea aplicării proceselor de biosorbție și bioacumulare;

Teza de doctorat cuprinde cinci capitole extinse pe 230 pagini, conține un număr de 107 figuri, 31 tabele, 3 anexe și un număr de 285 referințe bibliografice și este structurată în două părți:

- **STATE-OF-THE-ART, STUDIU ȘI ANALIZĂ CRITICĂ**, reprezintă o parte integrantă a tezei ce vizează stadiul actual al cercetărilor în domeniul biosorbției și bioacumulării metalelor grele, ca părți integrante în domeniul biotehnologiei, punctând principiile de bază și obiectivele, perspectivele, dar și posibile aplicații ale acestora.
- **CONTRIBUȚII PERSONALE ȘI REZULTATE ORIGINALE**, parte structurată în patru capitole, în care s-au evidențiat și analizat clar rezultatele experimentale privind biosorbția și bioacumularea, în diverse combinații metal-microorganism în scopul eliminării metalelor grele din soluții apoase.

Teza de doctorat realizează o analiză sistematică a biosorbției și bioacumulării unor metale grele relevante: Cr (VI), Cd(II) și Pb(II) de către biomasa neviabilă și viabilă a unor microorganisme aparținând clasei bacteriilor și fungilor (mușgaiuri și drojdii): *Arthrobacter viscosus*, *Trichoderma viride* și *Saccharomyces cerevisiae*. Din aceasta derivă **obiectivele specifice** ale programului experimental elaborat în cadrul tezei de doctorat:

- alegerea biosorbenților în funcție de caracteristicile acestora, eficiența și proprietățile lor pentru îndepărtarea metalelor grele (Cr(VI), Cd(II) și Pb(II)) din soluții apoase ;

- evaluarea și cuantificarea influenței unor parametri de care depinde eficiența procesului: pH-ul inițial al soluției, concentrația de biosorbent, concentrația inițială de ion metalic, timp de contact și temperatură, în scopul stabilirii eficienței procesului în sistem discontinuu;

- investigarea mecanismului care stă la baza reținerii Cr(VI), Cd(II) și Pb(II) de către biomasa neviabilă și viabilă a bacteriei *A. viscosus*;

- investigarea mecanismului care stă la baza reținerii Cr(VI) și Cd(II) de către biomasa neviabilă și viabilă a mușgaiului *T. viride*;

- investigarea mecanismului care stă la baza reținerii Cr(VI) și Cd(II) de către biomasa neviabilă a drojdiei *S. cerevisiae*;

- investigarea potențialului bacteriei *A. viscosus* de îndepărtare a Cr(VI), Cd(II) și Pb(II) în sistem continuu, prin realizarea unui biofilm bacterian imobilizat pe un nou tip de suport inert din polietilenă;

- modelarea datelor experimentale în scopul evaluării și înțelegerii mecanismului biosorbției, a factorilor de influență și a unor criterii de transpunere la scară a procesului.

Primul capitol, are în vedere un studiu amplu de literatură, care se axează pe *stadiul actual al cunoașterii în domeniul biosorbției și bioacumulării metalelor grele*, ca părți integrante în domeniul biotehnologiei, punctând principiile de bază și obiectivele, perspectivele, dar și aplicații practice ale acestora. Teza de doctorat are în vedere posibilitatea utilizării microorganismelor, în mod special a biomasei bacteriene și fungice ca potențiali bioremediatori ai efluenților lichizi cu conținut de metale grele. Comparativ cu metodele tradiționale de îndepărtare a metalelor grele din soluții apoase (precipitarea, schimbul ionic etc.), se discută critic și se evidențiază atât avantajele, dar și dezavantajele proceselor de biosorbție (pasiv) și bioacumulare (activ). Selectarea celor trei tipuri de biomasă investigate în prezenta teză de doctorat este justificată prin diversitatea lumii microbiene, dar și prin lipsa unor studii extinse și comparative în domeniu, capabile să elucideze mecanismele de interacțiune poluant – biomasă, pentru a permite apoi

proiectarea și controlul proceselor. Se evidențiază aspecte relevante legate de impactul metalelor grele în mediu și toxicitatea acestora. Se analizează în detaliu posibilele mecanisme ce guvernează cele două procese, biosorbția și biacumularea, dar și parametrii care influențează atât echilibrul, cât și cinetica imobilizării unor specii metalice, având în vedere o descriere detaliată a modelelor de echilibru și cinetice. Partea finală a acestui capitol analizează problematica costurilor pentru soluțiile investigate, dar și posibilitatea regenerării și reutilizării diverselor clase de biosorbenți.

Capitolul 2, intitulat **Biosorbția metalelor grele din soluții apoase folosind bacteria *Arthrobacter viscosus* (Bioremoval of heavy metals from aqueous solutions by *Arthrobacter viscosus*)** studiază aplicabilitatea bacteriilor, în particular din specia *Arthrobacter* în reținerea ionilor metalici.

Programul experimental atent elaborat a permis evaluarea mai multor factori care influențează biosorbția Cr(VI), Cd(II) and Pb(II) de către bacteria menționată, atât în stare neviabilă, cât și activă din punct de vedere metabolic. Au fost studiați diverși parametri ce afectează procesul, influența pH-ul soluției, a concentrației de biosorbent, concentrației de ion metalic, a timpului de contact și a temperaturii, asupra eficienței procesului și a capacității de sorbție în sistem discontinuu. Imobilizarea ionilor metalici în condiții dinamice a fost evaluată prin operarea în sistem continuu, deschis, în biofilm bacterian imobilizat pe un nou tip de suport inert din polietilenă.

Capitolul 3, intitulat **Biosorbția metalelor grele din soluții apoase folosind mucegaiul *Trichoderma viride* (Bioremoval of heavy metals from aqueous solutions by *Trichoderma viride*)**, propune introducerea unui nou tip de biosorbent, mucegaiul *Trichoderma viride* izolat dintr-un sol de pădure din zona Iași și testarea performanțelor acestuia în procesul de reținere a Cr(VI) și Cd(II) din soluții apoase.

Cercetarea realizată în această parte a programului experimental aduce informații originale, în premieră mondială, asupra imobilizării Cr(VI) și Cd(II) din soluții apoase de către biomasa neviabilă și, respectiv, metabolic activă, în regim discontinuu. În literatura de specialitate există o singură lucrare care discută despre reținerea Cr(VI) pe biomasa de *Trichoderma viride* imobilizată pe alginat de calciu. În cadrul programului experimental au fost analizați cei mai importanți parametri care influențează procesul, și în plus a fost realizat un studiu privind desorbția Cd(II), precum și modelarea reținerii metalelor grele de către microorganisme prin aplicarea unor modele cinetice și de echilibru. Creșterea biomasei vii de *T. viride* a fost analizată în prezența Cr(VI) și Cd(II) urmărindu-se, eficiența procesului și capacitatea de bioacumulare a microorganismului în stare viabilă. Datele experimentale, împreună cu

analizele FTIR și SEM-EDX au evidențiat mecanismul ce stă la baza reținerii ionilor de metale de către biomasa fungică.

Capitolul 4, intitulat *Biosorbția metalelor grele din soluții apoase folosind drojdia *Saccharomyces cerevisiae* (Bioremoval of heavy metals from aqueous solutions by *Saccharomyces cerevisiae*)* descrie și evaluează rezultatele originale referitoare la aplicarea unuia dintre cei mai utilizați biosorbenți, drojdia *Saccharomyces cerevisiae*, la imobilizarea Cr(VI) și Cd(II) din soluții apoase, cu scopul de a face o comparație cu celelalte tipuri de microorganisme folosite ca biosorbenți și, respectiv pentru completarea informațiilor din literatură, acolo unde există încă unele aspecte neelucidate sau insuficient argumentate.

Cercetarea a permis evaluarea unor informații relevante privind compararea potențialului aplicării drojdiilor cu cel al utilizării bacteriilor și a unor tipuri de fungi pentru îndepărtarea Cr(VI) și Cd(II) din fluxuri lichide. Studiile și cercetările din acest capitol demonstrează, de asemenea, capacitatea drojdiei *S. cerevisiae* de a reține cu o bună eficiență ionii metalici din efluenți apoși.

Capitolul 5, intitulat *Evaluarea și compararea performanței microorganismelor *Arthrobacter viscosus*, *Trichoderma viride* și *Saccharomyces cerevisiae* în procesul de biosorbție a metalelor grele din soluții apoase (Evaluation and comparison of *Arthrobacter viscosus*, *Trichoderma viride* and *Saccharomyces cerevisiae* performance in the bioremoval of heavy metals from aqueous solutions)* a avut în vedere analiza individuală și comparativă a potențialului aplicării biosorbției și bioacumulării pentru depoluarea unor componente de mediu ce conțin metale grele, folosind microorganisme din clasa bacteriilor, mucegaiurilor și drojdiilor.

Acest capitol este concentrat pe analiza parametrilor de proiectare și, eventual operare, rezultați în urma analizelor experimentale, ce se referă la capacitatea de sorbție, timpul de contact, diverși parametri cinetici. Rezultatele obținute constituie baza științifică pentru evaluarea proceselor de biosorbție și bioacumulare în protecția mediului, putând fi transpuse la scara pilot și/sau industrială.

Teza de doctorat a fost realizată în regim de cotutelă, împreună cu Universitatea Minho, Braga, Portugalia, în cadrul Institutului de Biotehnologie și Bioinginerie, Centrul de Inginerie Biologică a universității menționate, sub coordonarea doamnei Profesor Teresa Tavares.

Capitolul 2.

BIOSORBȚIA METALELOR GRELE DIN SOLUȚII APOASE FOLOSIND BACTERIA *Arthrobacter viscosus*

În cadrul acestui capitol se prezintă rezultatele obținute în urma realizării unui amplu program experimental ce se referă la studiul biosorbției unor metale grele, precum Cr(VI), Cd(II) și Pb(II), folosind ca biosorbent și bioacumulator bacteria gram-pozitivă *Arthrobacter viscosus*, din familia *Micrococcaceae*, ordinul *Actinomycetales*, un bun producător de exopolizaharide. Alegerea acestui microorganism ca biosorbent pentru Cr(VI), Cd(II) și Pb(II) este justificată de unele date din literatură și teste preliminare care au arătat că această tulpină microbiană are un potențial mare și recunoscut în bioremediere (Figueiredo și colab., 2010; Lameiras și colab., 2008; Silva și colab., 2009; Quintelas și colab., 2009).

Alegerea bacteriilor pentru biosorbția metalelor grele din soluții apoase este determinată de caracterul lor unicelular precum și de capacitatea acestora de a crește în medii controlate și rezistența la condiții de mediu variate (Quintelas și colab., 2009). Toate aceste caracteristici au fost considerate ca avantaje ale folosirii bacteriilor în diverse aplicații.

2.2. Materiale și metode

Studiile originale efectuate și incluse în prezenta teză de doctorat aduc informații fundamentale privind biosorbția unor metale grele relevante (Cr(VI), Cd(II) și Pb(II)) din soluții apoase de către bacteria *A. viscosus* în regim discontinuu și continuu. Descoperirea acestei biomase cu potențial ridicat în bioremediere subliniază aplicabilitatea proceselor de biosorbție și bioacumulare pentru îndepărtarea metalelor grele din soluții apoase. În acest context, experimentele realizate în cadrul acestei teze au avut în considerare:

- influența pH-ului inițial al soluției în biosorbția metalelor grele;
- influența concentrației de biosorbent în biosorbția metalelor grele;
- influența timpului de contact în biosorbția metalelor grele;
- influența concentrației inițiale de ioni metalici asupra eficienței biosorbției;
- influența temperaturii asupra eficienței biosorbției;
- modelarea biosorbției metalelor grele selectate de către bacteria *A. viscosus*;

- investigarea eficienței procesului în regim continuu într-un sistem deschis în biofilm bacterian imobilizat pe un nou tip de suport inert din polietilenă;
- investigarea mecanismului care stă la baza reținerii metalelor grele de către *A. viscosus* prin aplicarea modelelor cinetice și de echilibru, dar și a analizei FTIR.

2.2.1. Microorganism, condiții de cultivare și de creștere

Tulpina bacteriană *Arthrobacter viscosus* (CECT 908) a fost obținută din micoteca Universității din Valência. Pentru creșterea microorganismului a fost folosit un mediu de cultură format din 5 g/L peptonă, 3 g/L extract de malt, 3 g/L extract de drojdie și 10 g/L glucoză; pH-ul mediului de cultură a fost ajustat la 7 cu NaOH conc., mediul de cultură a fost sterilizat la 120 °C timp de 20 min., însămânțat cu bacteria *Arthrobacter viscosus* și agitat la 150 rpm timp de 72 h, la temperatura de 28 °C.

2.2.2. Procedura experimentală în regim discontinuu

Studiile experimentale în regim discontinuu privind biosorbția Cd(II), Pb(II) și Cr(VI) de către biomasa neviabilă și respectiv viabilă a bacteriei *A. viscosus* s-au realizat prin măsurarea concentrației de ion metalic la valori selectate de pH, concentrație de biosorbent, variind timpul de contact și temperatura. Studiile experimentale au fost realizate în flacoane Erlenmeyer de 250 mL cu un volum de lucru de 40 mL soluție sintetică de ion metalic monocomponent (Cd(II), Pb(II) și Cr(VI)) de concentrație cunoscută. Flacoanele au fost agitate într-un incubator orbital la 150 rpm până la atingerea echilibrului.

2.2.3. Procedura experimentală în regim continuu

Acest set de experimente realizat pentru biosorbția metalelor grele din soluții apoase, demonstrează capacitatea sistemului de a opera în condiții dinamice, prin folosirea biosorbentului sub forma unui biofilm imobilizat pe un suport inert. Datorită faptului că biosorbenții bacterieni sunt în esență particule mici, cu densitate scăzută, rezistență mecanică slabă și rigiditate scăzută, în timpul unei operațiuni la scară mare ar putea fi subiectul unor probleme precum: separare,, posibila umflare a biomasei sau dificultăți în timpul procesului de regenerare/refolosire (Veglio și Beolchini, 1997; Vijayaraghavan și Yun, 2008; Yun și colab., 2011).

Prin urmare, obiectivul acestui studiu este evaluarea aplicabilității unui biofilm bacterian în scopul biosorbției Cr(VI), Pb(II) și Cd(II) din soluție în condiții dinamice.

Influența concentrației inițiale de ion metalic (25 mg/L) a fost evaluată folosind un biofilm bacterian de *Arthrobacter viscosus* imobilizat pe un nou tip de suport din polietilenă dezvoltat de Universitatea Minho. Suportii sunt de formă tubulară, stea, cu un diametru extern de 17 mm și o înălțime de 10 mm (Nogueira și colab., 2009). Suportii (38.56, 38.54 și 38.36 g pentru Cd(II), Pb(II) și respectiv, Cr(VI)) au fost fixați în 3 coloane din acril (25 cm×3.2 cm). Coloanele cu suporti au fost spălate timp de 24 de ore cu soluție de hipoclorit pentru a fi sterilizate, această operațiune fiind precedată de spălare cu apă distilată sterilă. Cultura de microorganisme, crescută în prealabil timp de 72 h într-un incubator orbital așa cum a fost menționat în subcapitolul 2.2.1, a fost introdusă în coloană în sens descendent cu ajutorul unei pompe peristaltice, cu un debit de 19 mL/min. Acest debit crescut a permis formarea unui biofilm compact, rezistent la eroziunea rezultată datorită forțelor hidrodinamice (Quintelas și colab., 2008a).

2.3. Biosorbția Cr(VI) din soluții apoase de către biomasa viabilă și neviabilă a bacteriei *Arthrobacter viscosus*

2.3.1. Îndepărtarea ionilor de Cr(VI): reducerea la Cr(III) și biosorbția de către biomasa neviabilă a bacteriei *Arthrobacter viscosus*

Experimentele privind îndepărtarea Cr(VI) din soluție de către biomasa neviabilă a bacteriei *A. viscosus*, respectiv influența concentrației de biosorbent și a pH-ului inițial al soluției s-au realizat fără ca pH-ul să fie ajustat pe parcursul experimentelor. În timpul experimentelor, concentrația Cr(VI) a scăzut brusc, ionul metalic fiind complet eliminat din soluția apoasă. Deasemenea, Cr(III) care inițial nu era prezent în soluția apoasă, a apărut simultan cu diminuarea Cr(VI), așa cum a mai fost raportat în literatura de specialitate de către Park și colab. (2005). Aceasta situație a indicat faptul că reducerea Cr(VI) la Cr(III) în timpul contactului cu biomasa și atât adsorbția Cr(VI) cât și reducerea acestuia au ajutat la îndepărtarea ionului metalic din soluția apoasă de către biomasa bacteriană.

2.3.1.1. Influența pH-ului inițial al soluției asupra reducerii Cr(VI) și biosorbției Cr total

pH-ul inițial al soluției este considerat ca fiind unul dintre cei mai importanți parametri în procesele de sorbție, deoarece afectează atât speciația

ionilor metalici cât și disponibilitatea centrilor activi ai grupelor funcționale ce ar putea fi implicate în procesul de sorbție (Farooq și colab., 2010).

Experimentele realizate în scopul studiului influenței pH-ului inițial al soluției de Cr(VI) au fost desfășurate variind pH-ul soluției de la 1 la 4. Experimentele s-au realizat cu o soluție inițială de Cr(VI) de concentrație 100 mg/L, la temperatura de 26 °C și 150 rpm (Fig. 2.3).

Rezultatele au arătat că eficiența procesului a fost de 100% lucrând la pH 1-2, cu 5 g/L biomasă bacteriană neviabilă.

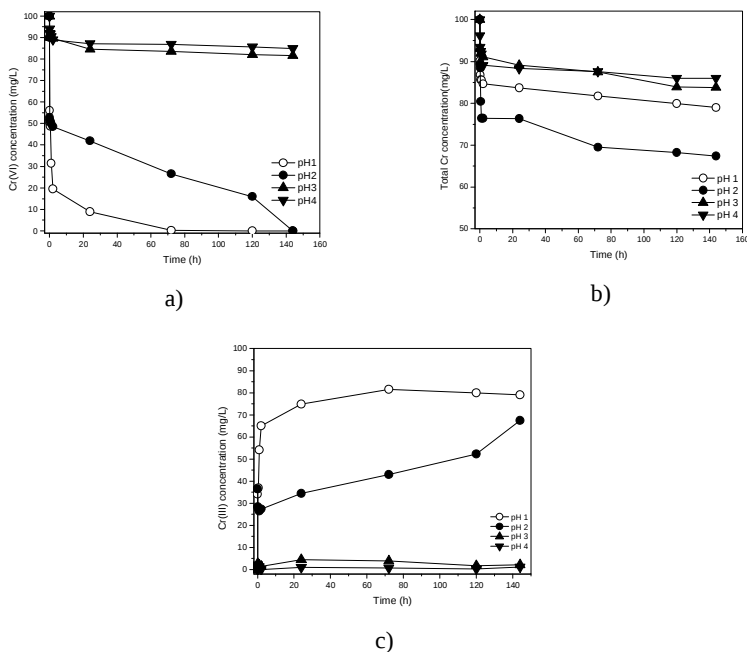


Fig. 2.3. Influența pH-ului inițial al soluției asupra reducerii și biosorbției cromului din soluție apoasă de către biomasă neviabilă a bacteriei *A. viscosus*: a) Cr(VI) (mg/L) vs. timp, b) Cr total (mg/L) vs. timp, c) Cr(III) (mg/L) vs. timp (concentrația biomasei: 5 g/L; concentrația Cr(VI): 100 mg/L; temperatura: 26 °C; timp de contact: 144 h)

Timpul necesar pentru îndepărtarea completă a Cr(VI) din soluție la pH 1 a fost de 72 h, în timp ce la pH 2 acesta s-a dublat, fiind de 144 h (Fig. 2.3a). La valori de pH ale soluției inițiale de Cr(VI) de 3 și 4, s-a atins o eficiență de 15.76 și respectiv 13.18 % după 144 h. Studiile de literatură au arătat că dinamica eficienței procesului a crescut o dată cu descreșterea valorii

pH-ului inițial al soluției, pentru diverse tipuri de biomasă microbiană (bacterii, fungi), putându-se observa o îndepărtare completă a Cr(VI) doar în condiții puternic acide (Bai și Abraham, 2001; Nourbakhsh și colab., 1994; Park și colab., 2005).

Rezultatele au arătat că eficiența procesului a fost de 100% lucrând la pH 1-2, cu 5 g/L biomasă bacteriană neviabilă. Timpul necesar pentru îndepărtarea completă a Cr(VI) din soluție la pH 1 a fost de 72 h, în timp ce la pH 2 acesta s-a dublat, fiind de 144 h (Fig. 2.3a). La valori de pH ale soluției inițiale de Cr(VI) de 3 și 4, s-a atins o eficiență de 15.76 și respectiv 13.18 % după 144 h. Sudiile de literatură au arătat că dinamica eficienței procesului a crescut o dată cu descreșterea valorii pH-ului inițial al soluției, pentru diverse tipuri de biomasă microbiană (bacterii, fungi), putându-se observa o îndepărtare completă a Cr(VI) doar în condiții puternic acide (Bai și Abraham, 2001; Nourbakhsh și colab., 1994; Park și colab., 2005).

Reacțiile care duc la reducerea Cr(VI) la Cr(III) sunt următoarele (Silva și colab., 2009):



Valorile semnificative ale eficienței procesului menționate în continuare, precum și capacitatea de sorbție mare a speciilor de crom au fost obținute la pH 2, folosind o concentrație de *A. viscosus* de 5 g/L, și anume:

- 100 % Cr(VI), 31% Cr total;
- 19.62 mg/g Cr(VI), 6.14 mg/g total Cr.

Având în vedere atât reducerea Cr(VI) cât și biosorbția Cr total, în următoarele experimente pH-ul soluției de Cr(VI) a fost selectat ca fiind 2, fiind ales favorabil în urma considerentelor discutate anterior.

2.3.1.2. Influența concentrației de biosorbent asupra reducerii Cr(VI) și biosorbției Cr total

O serie de experimente care au urmărit influența concentrației de biomasă asupra eficienței de îndepărtare a Cr(VI) au fost realizate la diferite concentrații inițiale de biosorbent, de la 1 la 8 g/L și pH 2. Rezultatele au arătat că procentul de îndepărtare a ionului metalic este intensificat o dată cu creșterea concentrației de biosorbent (Fig. 2.8). Eficiența procesului variază între 32.8-70.5 % (pentru 1-3 g/L biosorbent) pe parcursul întregului experiment de 144 h. Prin urmare, eficiența procesului este marită o dată cu creșterea concentrației de biosorbent. Gradul de reducere/biosorbție crește rapid în primele 40-50 h, însă devine mult mai lent în ultima faza a procesului. Concentrații scăzute ale

Cr(VI) și concentrații ridicate de biosorbent, duc la scurtarea timpului de contact necesar reducerii Cr(VI) la Cr(III), intensificând eficiența procesului.

Cea mai bună corelație între eficiența procesului și capacitatea de reținere a speciilor de crom de către microorganism a fost realizată folosind o concentrație a biomasei de 5 g/L și pH al soluției de 2 și a atins (Fig. 2.8):

- 100 % Cr(VI), 31% Cr total;
- 19.62 mg/g Cr(VI), 6.14 mg/g Cr total.

În studiile ce urmează se vor utiliza 5 g/L concentrație a biomasei bacteriene neviabile *A. viscosus* deoarece a arătat o bună reducere Cr(VI) și biosorbție a Cr total.

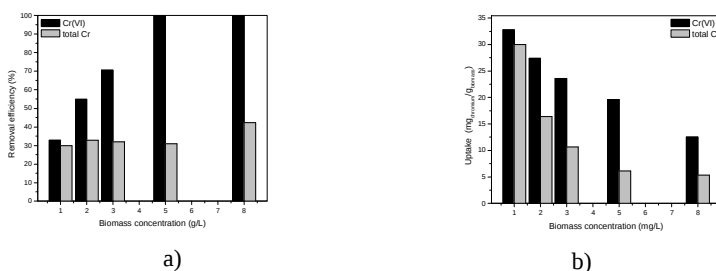


Fig. 2.8. Eficiența procesului (%) (a) și capacitatea de sorbție a Cr(VI) și Cr total (mg/g) (b) de către *A. viscosus* la finalul timpului de contact pentru diferite concentrații de biosorbent (pH 2; concentrația inițială de Cr(VI): 100 mg/L; temperatura: 26 °C; timp de contact: 144 h)

2.3.1.4. Cinetica procesului de biosorbție

Caracterizarea cinetică este un pas necesar în biosorbția metalelor grele, întrucât atât timpul de contact cât și dimensiunile reactoarelor sunt controlate de cinetica sistemului. Datele cinetice rezultate din programul experimental au fost modelate de modele empirice, neglijând efectele transferului de masă (s-au utilizat modelele cinetice de ordin pseudo-unu și pseudo-doi). Scopul unei astfel de modelări îl reprezintă stabilirea unei expresii matematice care poate corela foarte bine datele experimentale. Pentru a putea stabili parametrii cinetici rezultați din modelarea biosorbției Cr(VI) de către bacteria *A. viscosus*, au fost aplicate modele cinetice de adsorbție și reducere (Eqs. 1.15, 1.18, 1.22 and 1.23 – Capitolul 1, subcapitolul 1.6.2). Pentru a găsi modelul cinetic care corelează cel mai bine datele experimentale, s-au modelat rezultatele experimentale obținute în cazul influenței concentrației inițiale de Cr(VI), pH și concentrația de biosorbent. Modelele cinetice bazate pe reacția de reducere, fie de ordin pseudo-unu, fie de ordin pseudo-doi au descris datele

experimentale cu cea mai mare acuratețe, având coeficienții de corelație, $R^2 > 0.91$ (Tabelul 2.1).

Tabelul 2.1. Parametri cinetici obținuți pentru îndepărtarea Cr(VI) de către biomasa neviabilă a bacteriei *A. viscosus*

Kinetic models	Item	Value	Pseudo-first order		Pseudo-second order	
			k	R ²	k	R ²
Reduction kinetics	Cr(VI) concentration, mg/L	25	0.0308	0.9607	0.0101	0.9876
		50	0.0156	0.9746	0.0012	0.9821
		100	0.0071	0.9267	0.0001	0.9165
	pH	1	0.0728	0.9684	0.0631	0.88763
		2	0.0071	0.9267	0.0001	0.9165
		3	7.34E-4	0.8284	8.58E-6	0.8360
		4	5.23E-4	0.6872	5.91E-6	0.6995
	biomass concentration, g/L	1	0.0015	0.7593	2.04E-5	0.7811
		2	0.0033	0.8943	5.69E-5	0.9196
		3	0.0052	0.8891	1.15E-4	0.8927
		5	0.0071	0.9267	0.0001	0.9165
		8	0.0285	0.9305	0.0051	0.9589
Adsorption kinetics	Cr(VI) concentration, mg/L	25	0.0308	0.9677	0.0507	0.9876
		50	0.0156	0.9746	0.0063	0.9821
		100	0.0127	0.9180	0.0027	0.8780
	pH	1	0.0728	0.9684	9.56E-6	0.5851
		2	0.0127	0.9180	0.0027	0.8780
		3	0.0230	0.9540	1.40E-6	0.8235
		4	0.0170	0.8387	9.91E-7	0.6793
	biomass concentration, g/L	1	0.0232	0.9455	0.0069	0.9733
		2	0.0152	0.9093	2.26E-6	0.8715
		3	0.0111	0.8539	0.0017	0.9616
		5	0.0127	0.9180	0.0027	0.8780
		8	0.0287	0.9317	0.0424	0.9575

2.3.2. Îndepărtarea ionilor de Cr(VI): reducerea la Cr(III) și biosorbția de către biomasa viabilă a bacteriei *Arthrobacter viscosus*

În cadrul acestui program experimental s-a evaluat capacitatea celulelor bacteriene vii în biosorbția metalelor grele selectate. Pe lângă biosorbție, aplicarea microorganismelor vii pentru reținerea metalelor are în vedere și capacitatea acestora de bioacumulare pe rute ce țin de metabolismul fiecărui microorganism (Kotrba, 2011).

2.3.2.1. Influența pH-ului inițial al soluției asupra reducerii Cr(VI) și biosorbției Cr total

Rezultatele din cadrul acestui set de experimente au arătat că pH-ul 1 este cel mai bun în cazul biomasei viabile, pentru o concentrație de Cr(VI) de 100 mg/L înregistrându-se o eficiență de 100%, prin utilizarea a 5 g/L microorganism viu, fiind necesar un timp de contact de 48 h. În cazul valorilor de pH de 2, 3 și 4, s-a realizat o eficiență a procesului de 74.8%, 55.1% și respectiv 33.1% într-un timp de contact de 96 h (Fig. 2.14a). Comparativ cu valorile eficienței procesului la pH 1, o reducere relativ scăzută a putut fi observată pentru pH 2-4, biomasa bacteriană necesitând un timp de contact mai mare pentru reținerea Cr(VI) din soluția apoasă.

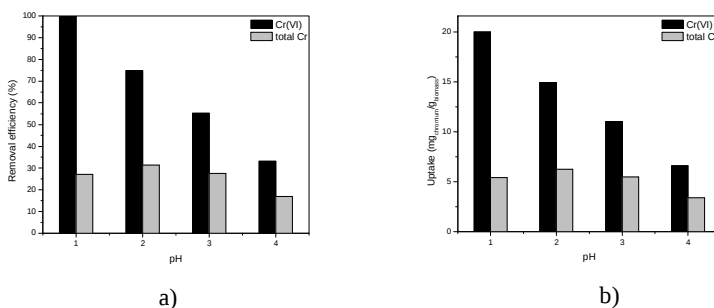


Fig. 2.14. Eficiența procesului (%) (a) și capacitatea de sorbție a Cr(VI) și Cr total (mg/g) (b) de către *A. viscosus* la finalul timpului de contact pentru diferite valori de pH (concentrația de biosorbent: 5 g/L; concentrația inițială de Cr(VI): 100 mg/L; temperatura: 26 °C; timp de contact: 96 h)

Unii autori din literatura de specialitate au sugerat ca reținerea Cr(VI) de către microorganisme are loc în următoarele faze (Dönmez și Kocberber, 2005; Srinath și colab., 2002):

1. interacțiunea Cr(VI) cu grupele funcționale ale microorganismului, la suprafața acestuia;
2. transportul Cr(VI) în celulă;
3. reducerea intracelulară a Cr(VI) la Cr(III) (detoxificare).

În această situație, este deasemenea evident că în soluția apoasă Cr(VI) poate fi redus la Cr(III) direct sau spontan prin contactul cu grupările donor de electroni ale biomasei. Repulsia electrostatică dintre grupele funcționale ale biomasei încărcate pozitiv și ionii de Cr(III), eliberează Cr(III) în soluția apoasă. Cr(III) eliberat în soluție se leagă apoi predominant de către grupele funcționale ale biomasei prin diverse mecanisme (Park și colab., 2007).

2.3.1.4. Cinetica procesului de biosorbție

Modelul cinetic de ordin pseudo-unu bazat pe reacția de reducere a descris mai bine datele experimentale decât modelele cinetice bazate pe adsorbție, cu coeficienți de corelație ridicați pentru pH 1, 2, și 4 $R^2 > 0.93$ (Fig. 2.18) și $R^2 > 0.97$, în cazul modelării cinetice bazate pe influența concentrației de biosorbent.

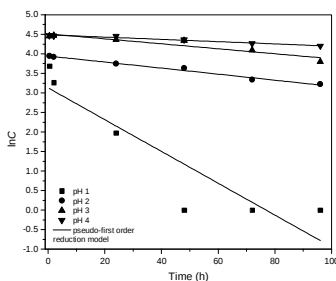


Fig. 2.18. Modelul cinetic de ordin pseudo-unu bazat pe reacția de reducere aplicat în cazul variației pH-ului inițial al soluției pentru îndepărtarea Cr(VI) de către biomasa vie a bacteriei *A. viscosus*

2.3.2.6. Studiul în regim dinamic al biosorbției Cr(VI)

Acest studiu a fost realizat în scopul evaluării abilității bacteriei *A. viscosus* în biosorbția Cr(VI) din efluenții apoși, atunci când este aplicată sub forma unui biofilm în coloană. În cazul acestui experiment nu s-a dorit studiul influenței unor condiții de operare (de ex. pH, concentrație inițială de ion metalic, debit sau concentrație de biosorbent) ci demonstrarea capacității sistemului de a opera în condiții dinamice, prin folosirea biosorbentului sub forma unui biofilm imobilizat pe un suport inert. Pentru a examina potențialul biofilmului bacterian de a reține Cr(VI) din soluția apoasă, profilele efluenților Cr(VI) și Cr total au fost investigate în absența analizei creșterii biomasei. S-a evaluat doar concentrația speciilor de Cr din efluent. Procesul de biosorbție realizat în coloană necesită predicția profilului concentrație-timp sau curba de străpungere a efluentului (Fig. 2.20).

Datorită rezultatelor obținute în regim discontinuu în cazul folosirii bacteriei *A. viscosus*, pentru experimentele realizate în regim continuu, pH-ul influentului a fost menținut la pH 2. Experimentele s-au desfășurat cu o concentrație inițială de 25 mg/L Cr(VI), cu un debit de 10 mL/min, la temperatura camerei (26 °C). Cantitatea de biofilm produsă la finalul experimentului a putut fi cuantificată la 5.75 g/L prin diferența dintre masa suporturilor înainte și după formarea biofilmului. Capacitatea de sorbție a

biofilmului bacterian a putut fi estimată în urma acestui studiu la 20.37 mg Cr total /g biofilm.

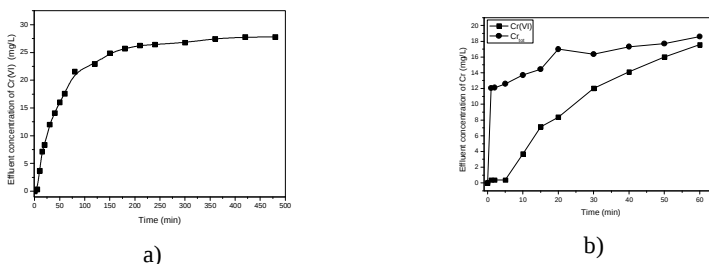


Fig. 2.20. Curbele de străpungere pentru a) biosorbția Cr(VI) de către biofilmul de *A. viscosus* pe o perioadă de 480 min, și b) biosorbția Cr total și a Cr(VI) pentru primele 60 min (25 mg/L concentrație inițială de Cr(VI); pH 2; debit de lucru: 10 mL/min; temperatura: 26°C)

2.4. Biosorbția Cd(II) din soluții apoase de către biomasa viabilă și neviabilă a bacteriei *Arthrobacter viscosus*

2.4.1. Biosorbția Cd(II) de către biomasa neviabilă a bacteriei *Arthrobacter viscosus*

2.4.1.1. Influența pH-ului inițial al soluției asupra biosorbției Cd(II)

Fig. 2.23 arată influența pH-ului inițial al soluției privind eficiența procesului de biosorbție și capacitatea de sorbție a biomasei bacteriene neviabile pentru Cd(II).

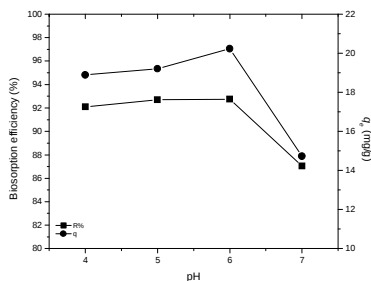


Fig. 2.23. Influența pH-ului inițial al soluției asupra biosorbției Cd(II) de către biomasa neviabilă a bacteriei *A. viscosus* (concentrația biomasei: 5 g/L; concentrația Cd(II): 100 mg/L; temperatura: 26 °C; timp de contact: 48 h)

În cazul utilizării bacteriei neviabile ca biosorbent pentru Cd(II), eficiența maximă a procesului și capacitatea de sorbție au fost de 93% și respectiv 20.23 mg_{Cd(II)}/g_{biomasă}, la pH al soluției de 6. La valori ale pH-ului mai ridicate (pH 7) randamentul procesului precum și capacitatea de sorbție au scăzut la 87% și respectiv 14.73 mg_{Cd(II)}/g_{biomasă}, datorită formării unor complecși solubili hidroxilați ai ionului metalic și a competiției pentru centri activi ai biomasei (Sari și colab., 2007; Sari și Tuzen, 2008). La pH 4-5 eficiența procesului a fost cuprinsă între 92.1-92.7% iar capacitatea de sorbție a fost cuprinsă între 18.89-19.21 mg_{Cd(II)}/g_{biomasă}.

2.4.1.3. Influența timpului de contact asupra biosorbției Cd(II)

Pentru ca procesul de biosorbție să poată fi aplicat cu succes, un alt parametru important îl reprezintă timpul de contact. Fig. 2.25 arată variația capacității de sorbție în timp a bacteriei neviabile *A. viscosus* pentru ionii de Cd(II). Se poate observa cum capacitatea de sorbție crește în timp pana la 240 min (26 °C), însă variația acestuia este dependentă de concentrația inițială a Cd(II) în soluție.

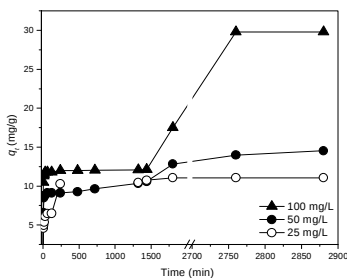


Fig. 2.25. Influența timpului de contact asupra biosorbției Cd(II) de către biomasa neviabilă a bacteriei *A. viscosus* pentru diferite concentrații de ion metalic (pH 6; concentrația biosorbentului: 3 g/L; temperatura: 26 °C; timp de contact: 48 h)

Deși pentru 25 și 50 mg/L Cd(II) capacitatea de sorbție rămâne aproape constantă după primele 30 min, în cazul concentrației inițiale de 100 mg/L capacitatea de sorbție rămâne constantă pana la 1440 min, pentru ca apoi sa crească brusc pana la 2760 min, menținându-se constantă pana la 2880 min. Acest comportament sugerează că cinetica procesului se desfășoară în 3 trepte pentru o concentrație a ionului metalic de 100 mg/L. Prima treaptă a biosorbției este rapidă și are loc în primele 30 min pentru toate cele trei concentrații de Cd(II) folosite în experiment. A doua treaptă a cineticii biosorbției este finalizată în 1440 min (24 h) când biosorbentul a ajuns la saturație pentru 25 și

50 mg/L Cd(II). A treia treaptă este finalizată în 2880 min (48 h) pentru 100 mg/L Cd(II).

Capacitatea maximă de sorbție a fost obținută pentru 25 mg/L Cd(II) la 11.05 mg/g, pentru 50 mg/L Cd(II) la 14.53 mg/g și pentru 100 mg/L Cd(II) la 29.8 mg/g. Eficiența biosorbției a fost de aprox. 93 % pentru 25-100 mg/L Cd(II). Treapta a treia nu a fost evidentă în cazul concentrațiilor de Cd(II) de 25 și 50 mg/L datorită disponibilității insuficiente a ionilor metalici (Vasudevan și colab, 2003).

2.4.1.5. Influența concentrației inițiale a Cd(II), izoterme de sorbție și parametri termodinamici

În cadrul prezentului studiu din teza de doctorat, datele experimentale de echilibru au fost modelate cu ajutorul modelelor Langmuir, Freundlich, Temkin și Dubinin-Radushkevich. Modelul linearizat Langmuir aplicat pentru biosorbția Cd(II) de către biomasa neviabilă a bacteriei *A. viscosus* a corelat cel mai bine datele experimentale comparativ cu aplicabilitatea celorlalte modele utilizate (Fig. 2.28).

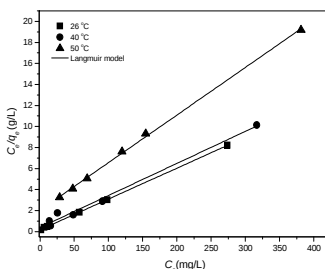


Fig. 2.28. Modelul Langmuir model aplicat în cazul biosorbției Cd(II) de către biomasa neviabilă a bacteriei *A. viscosus* la diverse temperaturi

2.4.2. Biosorbția Cd(II) de către biomasa viabilă a bacteriei *Arthrobacter viscosus*

Caracteristicile procesului de biosorbție folosind celulele vii ale bacteriei *A. viscosus* ca biosorbent au fost investigate în cadrul acestui studiu pentru a determina cele mai bune condiții pentru biosorbție: pH, concentrație de biosorbent și concentrație inițială a ionului metalic în regim discontinuu. Pentru a putea corela datele experimentale rezultate în urma procesului de biosorbție de către biomasa viabilă a bacteriei *Arthrobacter viscosus* au fost aplicate diferite modele de echilibru și cinetice.

Programul experimental a permis compararea rezultatelor prin folosirea microorganismului în condiție viabilă și neviabilă pentru biosorbția Cd(II). Și în cadrul acestui program experimental s-a examinat potențialul unui biofilm bacterian de *A. viscosus* imobilizat pe polietilenă în regim continuu.

2.4.2.3. Influența concentrației inițiale a Cd(II) și izoterme de sorbție

Influența concentrației inițiale de ion metalic a fost investigată folosind concentrații inițiale de ion metalic în intervalul 25-250 mg/L (Fig. 2.32) și menținând pH-ul (5), concentrația biomasei (5 g/L), temperatura (26 °C), timpul de contact (48 h) și viteza de agitare (150 rpm), constante.

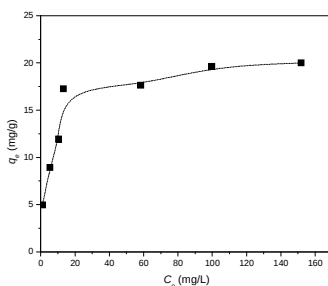


Fig. 2.32. Izoterma de sorbție a Cd(II) de către biomasa viabilă a bacteriei *A. viscosus* (pH 5; concentrația biomasei: 5 g/L; temperatura: 26 °C; timp de contact: 48 h)

Timpul necesar pentru stabilirea echilibrului de sorbție a fost stabilit prin o serie de studii preliminare. Capacitatea de sorbție a celulelor vii a crescut rapid o dată cu creșterea concentrației inițiale a Cd(II). O dată cu creșterea concentrației inițiale a Cd(II) de la 25 la 250 mg/L capacitatea de sorbție a microorganismului viu a crescut de la 4.96 la 20.04 mg/g. Capacitatea maximă de sorbție obținută în cazul aplicării modelului Langmuir, 20.61 mg/g este foarte apropiată de valoarea obținută experimental.

2.5.1. Biosorbția Pb(II) de către biomasa neviabilă a bacteriei *Arthrobacter viscosus*

2.5.1.1. Influența pH-ului inițial al soluției asupra biosorbției Pb(II)

Influența pH-ului inițial al soluției de Pb(II) asupra eficienței procesului (%) și a capacității de sorbție Pb(II) de către biomasa neviabilă a bacteriei *A. viscosus* (mg/g) a fost investigată în regim discontinuu, cu valori ale pH-ului cuprinse între 3-7, concentrația inițială de ion metalic de 100 mg/L,

concentrația biosorbentului de 2 g/L, temperatura de 26 °C, timp de contact de 24 h și la o viteză de agitare de 150 rpm (Fig. 2.36).

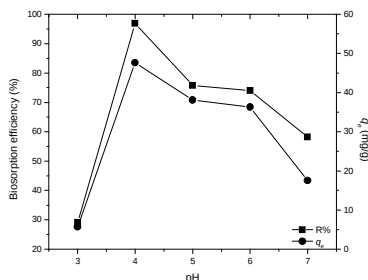


Fig. 2.36. Influența pH-ului inițial al soluției asupra biosorbției Pb(II) de către biomasa neviabilă a bacteriei *A. viscosus* (concentrația biomasei: 2 g/L; concentrația Pb(II): 100 mg/L; temperatura: 26 °C; timp de contact: 24 h)

2.5.1.3. Influența timpului de contact asupra biosorbției Pb(II)

În Fig. 2.38 este prezentată influența timpului de contact asupra biosorbției Pb(II) de către biomasa moartă a bacteriei *A. viscosus*.

Prima treaptă a biosorbției se desfășoară foarte rapid, capacitatea de sorbție crescând până la un timp de contact de 10 - 20 min. Echilibrul de sorbție este atins după această treaptă și se menține constant până la 120 min. Probe de Pb(II) au fost prelevate și în intervalul 120 min - 1440 min, însă se menține același comportament privind echilibrul procesului și datele nu sunt reprezentate grafic.

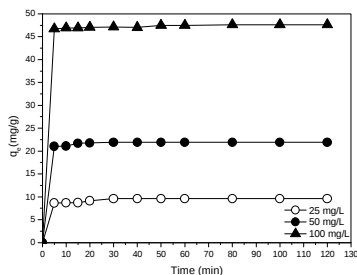


Fig. 2.38. Influența timpului de contact asupra biosorbției Pb(II) de către biomasa neviabilă a bacteriei *A. viscosus* la diferite concentrații de ion metalic (pH 4; concentrația biomasei: 2 g/L; temperatura: 26 °C; timp de contact: 2 h)

Capacitate maximă de sorbție a fost obținută astfel:

- 9.62 mg/g pentru 25 mg/L Pb(II),
- 21.9 mg/g pentru 50 mg/L Pb(II), și
- 47.6 mg/g pentru 100 mg/L Pb(II).

S-a obținut o eficiență a procesului de biosorbție de 100 % în cazul soluțiilor de concentrație 25 mg/L și 50 mg/L Pb(II).

Capacitatea de reținere a ionilor metalici de către biosorbenți are loc predominant în două trepte, așa cum este menționat și în literatura de specialitate astfel: (i) prima treaptă se desfășoară rapid și predominant cantitativ iar (ii) a doua treaptă are loc lent și nesemnificativ din punct de vedere cantitativ. Primul stadiu al biosorbției metalelor grele și care se desfășoară rapid, are loc probabil datorită abundenței de centri activi ai biomasei. O dată cu ocuparea graduală a acestor centri activi sorbția devine mai puțin eficientă în treapta a doua (Aslam și colab., 2010).

2.5.2. Biosorbția Pb(II) de către biomasa viabilă a bacteriei *Arthrobacter viscosus*

Procesul de biosorbție desfășurat de către celulele vii este în general realizat în două trepte. În primul stadiu, ionii de metal sunt adsorbiți la suprafața microorganismelor prin interacțiunea dintre aceștia și grupele funcționale. Al doilea stadiu îl reprezintă accesul ionilor metalici spre membrana și citoplasma celulei prin peretele celular. Peretele celular al microorganismelor conține o varietate de polizaharide și proteine oferind prin urmare un număr ridicat de centri activi capabili să imobilizeze metalele grele (Das și colab., 2008).

2.5.2.3. Influența concentrației inițiale a Pb(II) și izoterme de sorbție

Testele preliminare realizate în cazul biosorbției Pb(II) de către biomasa viabilă bacteriană au stabilit echilibrul procesului la 24 h. Prin urmare, influența concentrației inițiale a Pb(II) a fost investigată într-un timp de contact de 24 h, cu o concentrație de biosorbent de 2 g/L, la pH 6, 150 rpm și variind concentrația inițială de ion metalic între 25-500 mg/L Pb(II) (Fig. 2.47).

O dată cu creșterea concentrației de la 25 to 500 mg/L, capacitatea de sorbție a Pb(II) de către biomasa viabilă a crescut de la 5.88 to 108.75 mg/g. Mecanismul de reținere a ionilor metalici este în mod particular dependent de concentrația inițială a ionilor metalici: la concentrații scăzute, metalele sunt sorbite de către centrii activi specifici, pe când în cazul unor concentrații ridicate se obține o eficiență a procesului mai scăzută datorită saturației centrilor activi pentru sorbție (El-Sayed și colab., 2010).

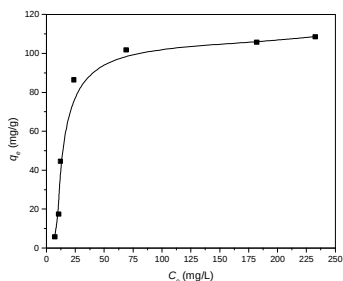


Fig. 2.47. Izoterma de sorbție a Pb(II) de către biomasa viabilă a bacteriei *A. viscosus* (pH 6; concentrația biomasei: 2 g/L; temperatura: 26 °C; timp de contact: 24 h)

2.6. Mecanismul biosorbției Cr(VI), Cd(II) și Pb(II) din soluții apoase de către biomasa viabilă și neviabilă a bacteriei *Arthrobacter viscosus*

Spectrometria în infraroșu cu transformată Fourier (FTIR) furnizează informații prețioase despre mecanismul biosorbției Cr(VI), Cd(II) și Pb(II) din soluții apoase de către biomasa viabilă și neviabilă a bacteriei *Arthrobacter viscosus*. Spectrul FTIR al biomasei înainte și după biosorbția ionilor metalici a fost realizat la lungimi de undă cuprinse între 500–4000 cm^{-1} , în scopul obținerii unor informații relevante referitoare la grupele funcționale ce pot fi implicate în biosorbția metalelor grele menționate (Fig. 2.50).

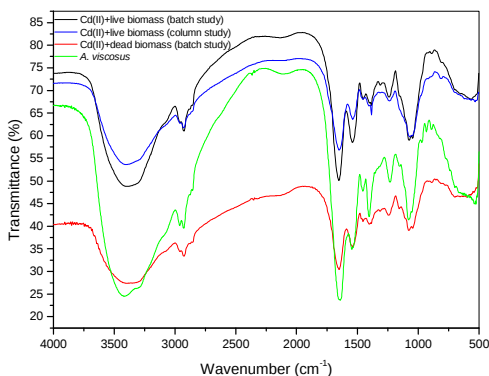


Fig. 2.50. Spectrul FTIR al bacteriei *A. viscosus* înainte și după biosorbția Cd(II)

Spectrul în infraroșu al bacteriei *A. viscosus* este tipic pentru bacteriile ce secretă exopolizaharide cu un complex de polielectroliți macromoleculari incluzând polizaharide, proteine, acizi nucleici și lipide sau substanțe humice (Figueiredo și colab., 2006).

Spectrul FTIR sugerează implicarea grupelor funcționale hidroxil, carboxil, fosfor și amino în biosorbția metalelor grele de către biomasa viabilă și neviabilă a bacteriei *Arthrobacter viscosus*.

2.7. Concluzii

Biomasa neviabilă dar și biomasa viabilă a bacteriei *A. viscosus* s-au dovedit a fi biosorbenți promițători ce pot fi folosiți pentru reducerea Cr(VI) la mai puțin toxicul Cr(III) din soluție apoasă în condiții puternic acide.

Biosorbția Cd(II) și Pb(II) de către celulele vii și moarte ale bacteriei *A. viscosus* a fost investigată având în vedere cele mai bune condiții experimentale:

- pH 6 și 3 g/L concentrație a biomasei și pH 5 și 5 g/L concentrație a biomasei pentru biosorbția Cd(II) de către celulele neviabile și respectiv viabile ale bacteriei *A. viscosus*;

- pH 4 și 2 g/L concentrație a biomasei și pH 6 și 2 g/L concentrație a biomasei pentru biosorbția Pb(II) de către celulele neviabile și respectiv viabile ale bacteriei *A. viscosus*.

În ceea ce privește studiul biosorbției Cd(II) și Pb(II) în regim continuu, pH 5 și respectiv pH 6 au fost pH-urile selectate pentru îndepărtarea celor două metale grele luând în considerare experimentele desfășurate cu microorganismul viabil în regim discontinuu.

Capacitatea maximă de sorbție obținută prin aplicarea modelului Langmuir a fost de 34.08 și 115.07 mg/g pentru biosorbția Cd(II) și respectiv a Pb(II) de către biomasa neviabilă a bacteriei *A. viscosus* și 24.26 și 114.94 mg/g pentru biosorbția Cd(II) și respectiv a Pb(II) de către biomasa viabilă a bacteriei *A. viscosus*.

Având în vedere cele menționate se poate afirma clar că atât biomasa neviabilă dar și biomasa viabilă a bacteriei *A. viscosus* reprezintă biosorbenți eficienți în îndepărtarea Cr(VI), Cd(II) și Pb(II) din soluții apoase.

Capitolul 3.

BIOSORBȚIA METALELOR GRELE DIN SOLUȚII APOASE FOLOSIND MUCEGAIUL *Trichoderma viride*

3.1. Scopul și importanța cercetării

Biomasa fungică prezintă un interes crescut în biosorbția și bioacumularea metalelor grele datorită (Gadd, 2009; Sağ, 2001):

1. Fungii sunt capabili să rețină metalele grele din soluții apoase în cantități substanțiale. În anumite instanțe, în literatura de specialitate s-a observat că, spre deosebire de adsorbanții convenționali, ca de exemplu cărbune activ sau rășini schimbătoare de ioni, capacitatea de reținere a metalelor grele de către fungi este cu mult amplificată.
2. Fungii sunt disponibili în cantități mari pentru că reprezintă sub-produse ale industriilor de fermentație și pot fi cu ușurință manipulați din punct de vedere genetic.
3. Multe specii au cerințe nutriționale scăzute.
4. Separarea biomasei de mediul lichid de creștere reprezintă o operație simplă.

Pereții celulari ai fungilor au o structură complexă macromoleculară ce conține predominant chitină, glucan, manan și proteine, dar și alte polizaharide, lipide și pigmenți (de ex. melanină). Varietatea componentelor structurale asigură fungilor diferite grupări funcționale capabile să imobilizeze metalele grele într-o anumită măsură.

Deși este bine cunoscut potențialul fungilor de a reține metale grele din soluții apoase, în literatura de specialitate există foarte puține informații în legătură cu biosorbția metalelor grele de către *Trichoderma viride*. Având în vedere cele menționate, *Trichoderma viride*, un mucegai din familia *Hypocreaceae*, ordinul *Hypocreales* a fost ales pentru studii de biosorbție și bioacumulare a Cr(VI) și Cd(II) din soluții apoase.

Programul experimental a fost structurat pe două direcții:

- biosorbția Cr(VI) din soluții apoase de către biomasa viabilă și neviabilă a mucegaiului *Trichoderma viride*;
- biosorbția Cd(II) din soluții apoase de către biomasa viabilă și neviabilă a mucegaiului *Trichoderma viride*;

Obiectivele acestui studiu sunt:

- evaluarea și discutarea influenței unor diverși factori ce influențează biosorbția și bioacumularea metalelor grele incluse în studiu (pH, concentrație de biosorbent, concentrație inițială a ionilor metalici, timp de contact și temperatura) în regim discontinuu;
- investigarea mecanismului care stă la baza biosorbției Cd(II) și Cr(VI) de către biomasa viabilă și neviabilă a mucegaiului *Trichoderma viride* prin evaluarea modelării cinetice și de echilibru, dar și a analizelor spectrelor în infraroșu cu transformată Fourier și prin microscopie electronică cu baleiaj (SEM).

3.2. Materiale și metode

3.2.1. Microorganism, însămânțare și condiții de creștere

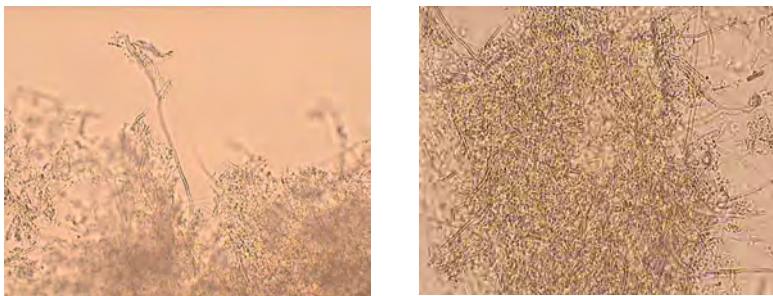


Fig. 3.1. Imagini microscopice ale mucegaiului *Trichoderma viride*

Biomasa fungică de *Trichoderma viride* folosită în biosorbția și bioacumularea ionilor metalici (Cd(II) și Cr(VI)) a fost izolată dintr-un sol de pădure de la adâncimea de 8-10 cm, în Iași, România. Proba de sol a fost diluată cu apă sterilizată și împrăștiată pe mediu solid agarizat (30 g/L glucoză, 5 g/L extract de drojdie, 3 g/L NaNO₃, 1 g/L MgSO₄ 7H₂O, 0.5 g/L KCl, 20 g/L agar). Plăcile Petri au fost incubate la 28±2 °C timp de 168 h. Imaginile microscopice ale mucegaiului *Trichoderma viride* sunt prezentate în Fig. 3.1.

3.2.3. Procedura experimentală privind bioacumularea metalelor grele în regim discontinuu

În scopul studiului creșterii și bioacumulării metalelor grele (Cr(VI) și Cd(II)) de către mucegaiul *T. viride*, au fost realizate două seturi de experimente.

În primul set de experimente, 5 mL de soluție stoc de Cd(II) și respectiv Cr(VI) au fost adăugați la 90 mL mediu de cultură pentru a obține concentrații finale de Cd(II) și respectiv Cr(VI) de 25, 50, 75, 100, 150 și 200 mg/L, după care soluția a fost însămânțată cu 5 mL de suspensie de spori de *T. viride* de pe mediul agarizat (*T. viride* spore suspension from slants - TVS) pentru a realiza un volum final de lucru de 100 mL.

Al doilea set de experimente a fost realizat prin adăugarea la mediul de cultură a unei anumite cantități de soluție de ion metalic pentru a realiza concentrația ce urmează a fi folosită în experimente (25-200 mg/L). Soluția finală a fost însămânțată cu 5 mL inocul de *T. viride* crescut timp de 7 zile (*T.*

viride from nutrient broth (TVB)) pentru a realiza un volum final de lucru de 100 mL.

Toate experimentele au fost realizate în flacoane Erlenmeyer de 250 mL cu un volum de lucru de 100 mL. Flacoanele Erlenmeyer au fost incubate la 28 ± 2 °C pentru 168 h și 150 rpm într-un incubator orbital. La intervale predeterminate de timp (0, 4, 8, 24, 30, 44, 48, 56, 68, 72, 96, 120, 144 și 168 h) s-au prelevat probe pentru martor, 25 și 50 mg/L și la 168 h pentru 75-200 mg/L Cd(II) și respectiv Cr(VI).

3.3. Biosorbția Cr(VI) din soluții apoase de către biomasa viabilă și neviabilă a mucegaiului *Trichoderma viride*

3.3.1. Îndepărtarea ionilor de Cr(VI): reducerea la Cr(III) și biosorbția de către biomasa neviabilă a mucegaiului *Trichoderma viride*

Biosorbția cromului hexavalent din soluția apoasă a fost realizată în regim discontinuu prin utilizarea mucegaiului *Trichoderma viride*. Deși în literatura de specialitate există o lucrare care discută despre biosorbția Cr(VI) de către *Trichoderma viride* (Bishnoi și colab., 2007), autorii au sugerat că ionul metalic a fost reținut de către microorganism prin adsorbție. Acest program experimental a evaluat biosorbția Cr(VI) din soluția apoasă însă a fost sugerat că biomasa fungică poate fi folosită pentru conversia Cr(VI) (toxic) la Cr(III) (nontoxic). Modelarea datelor experimentale și analizele FTIR și SEM-EDX au susținut ipoteza ce sugerează ca și mecanism al îndepărtării Cr(VI) din soluție de către *T. viride* o reacție redox. Acest mecanism a fost postulat și de Park și colab. (2005).

3.3.1.2. Influența concentrației de biosorbent asupra reducerii Cr(VI) și a biosorbției Cr total

În scopul determinării efectului concentrației de biosorbent asupra reducerii Cr(VI) de către biomasa neviabilă a mucegaiului *T. viride* s-au utilizat concentrații de biosorbent cu valori cuprinse între 3 și 10 g/L, experimentele fiind realizate la pH = 2. Concentrația Cr(VI) a scăzut brusc fiind complet îndepărtată din soluție (Fig. 3.3a) și, Cr(III) care inițial nu exista în soluție a apărut o dată cu epuizarea Cr(VI) (Fig. 3.3b).

Eficiența de îndepărtare a Cr(VI) a crescut o dată cu creșterea concentrației biosorbentului de 3 la 10 g/L, în timp ce timpul de contact necesar pentru îndepărtarea completă a Cr(VI) a scăzut de la 20 zile la 4 zile. După ce Cr(VI) a fost complet îndepărtat din soluție, concentrația finală a Cr(III) a rămas constantă la 93.67, 88.24, 80.82 și 81.96 mg/L pentru 3, 5, 8 și respectiv

10 g/L *T. viride*, indicând că 6.3-19.18 mg/L din Cr total (100 mg/L concentrație inițială) a fost îndepărtat din soluție prin adsorbție. Un rezultat similar a fost obținut de Gao și colab. (2008) pentru biosorbția Cr(VI) pe boabe de orez.

În următoarele studii referitoare la biosorbția Cr(VI) din soluție apoasă, se va folosi o concentrație de 5 g/L biomasă neviabilă a mucegaiului *T. viride*.

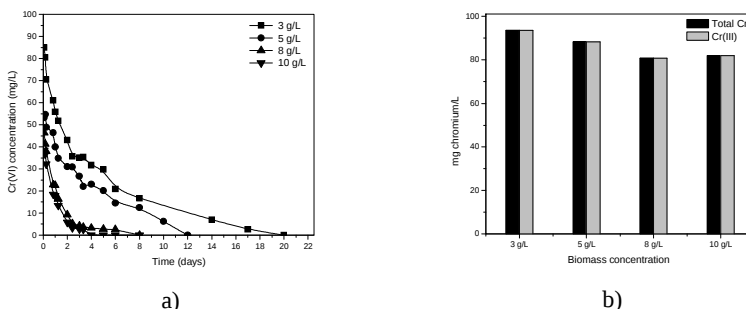


Fig. 3.3. Influența concentrației de biosorbent asupra reducerii și biosorbției cromului de către biomasa neviabilă a mucegaiului *T.viride*: a) Cr(VI) (mg/L) vs. timp, b) Cr total (mg/L) și Cr(III) (mg/L) la finalul timpului de contact (pH = 2; concentrația inițială a Cr(VI): 100 mg/L; temperatura: 25 °C; timp de contact: 3 g/L = 20 d; 5 g/L = 12 d; 8 g/L = 8 d; 10 g/L = 4 d)

3.3.1.4. Cinetica procesului de biosorbție

Datele cinetice au fost evaluate prin aplicarea modelelor cinetice de adsorbție: de ordin pseudo-unu (modelul Lagergren) și de ordin pseudo-doi (modelul Ho) și a modelelor cinetice bazate pe reacția de reducere: de ordin pseudo-unu și de ordin pseudo-doi. Parametri de regresie și coeficienții de corelație ai modelelor cinetice aplicate sunt indicați în Tabelul 3.1. Influența pH-ului soluției, a concentrației de biosorbent (Fig. 3.6a), a concentrației inițiale a Cr(VI) și a temperaturii (Fig. 3.6b) au fost corelate cel mai bine de modelul cinetic de adsorbție de ordin pseudo-unu ($R^2 > 0.9$).

Constantele de adsorbție calculate din modelul cinetic de ordin pseudo-unu, k_1 , pentru 25, 50, 100 și 200 mg/L Cr(VI) la 25 °C sunt 0.0482, 0.0201, 0.0069 și respectiv 0.0043 min⁻¹. prin creșterea concentrației de Cr(VI) s-a redus aparent difuzia speciilor de Cr în stratul limită al biomasei neviabile, fapt ce a dus la scăderea ratei de sorbție.

Pe de altă parte în ceea ce privește modelarea influenței concentrației de biosorbent, o dată cu creșterea acesteia de la 3 la 8 g/L, constanta cinetică de ordin pseudo-unu, k_1 , a crescut de la 0.0072 la 0.0375 min⁻¹. Acest

comportament presupune că o dată cu creșterea concentrației de biosorbent este indusă difuzia speciilor de Cr spre pereții celulari ai biomasei, crescând rata de sorbție.

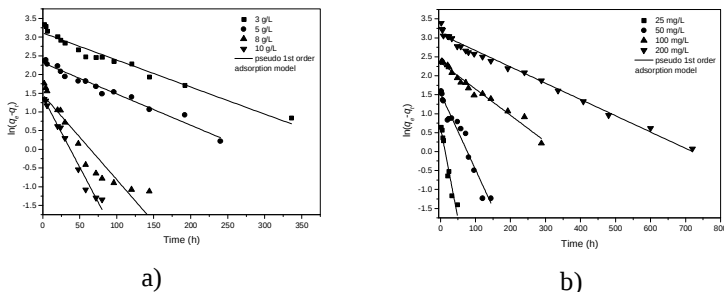


Fig. 3.6. Modelul cinetic de ordin pseudo-unu aplicat pentru biosorbția Cr(VI) de către biomasa neviabilă a mucegaiului *T. viride*: a) variația concentrației de biosorbent b) variația concentrației inițiale a Cr(VI) (temperatura: 25 °C)

Tabelul 3.1. Parametri cinetici obținuți în cazul modelării cinetice a biosorbției Cr(VI) de către biomasa neviabilă a mucegaiului *T. viride*

Kinetic models	Item	Value	Pseudo-first order		Pseudo-second order	
			<i>k</i>	<i>R</i> ²	<i>k</i>	<i>R</i> ²
Reduction kinetics	Cr(VI) concentration 25 °C, mg/L	25	0.0482	0.9308	0.0162	0.9607
		50	0.0201	0.9476	0.0044	0.8056
		100	0.0069	0.9688	$3.77 \cdot 10^{-4}$	0.8412
		200	0.0043	0.9846	$1.88 \cdot 10^{-4}$	0.8539
	Cr(VI) concentration 40 °C, mg/L	25	1.2440	0.9769	0.2191	0.9696
		50	0.0209	0.4107	0.0123	0.5334
		100	0.1130	0.9450	0.0314	0.9671
		200	0.0124	0.8846	0.0014	0.7269
	Cr(VI) concentration 50 °C, mg/L	25	1.4180	0.2155	0.8639	0.2669
		50	0.0122	0.7830	0.0125	0.8119
		100	0.1029	0.9266	0.0426	0.9491
		200	0.0664	0.9870	0.0097	0.7837
	pH	1	0.2857	0.8941	0.0891	0.8870
		2	0.0069	0.9688	$3.77 \cdot 10^{-4}$	0.8412
		3	0.00003	0.8942	$6.51 \cdot 10^{-6}$	0.9511
		4	0.00004	0.8787	$7.01 \cdot 10^{-6}$	0.9398
	biomass concentration,	3	0.0076	0.9751	$6.93 \cdot 10^{-4}$	0.7648
		5	0.0069	0.9688	$3.77 \cdot 10^{-4}$	0.8412

	g/L	8	0.0227	0.8836	0.0029	0.9626
		10	0.0375	0.9800	0.0049	0.9316
Adsorption kinetics	Cr(VI) concentration 25 °C, mg/L	25	0.0482	0.9308	0.081	0.9607
		50	0.0201	0.9476	0.0221	0.8056
		100	0.0069	0.9688	0.0018	0.8412
		200	0.0043	0.9846	$1.78 \cdot 10^{-7}$	0.7583
	Cr(VI) concentration 40 °C, mg/L	25	0.5438	0.9986	1.1036	0.9706
		50	0.0209	0.4107	$7.20 \cdot 10^{-6}$	0.6232
		100	0.1130	0.9450	0.1573	0.9671
		200	0.0124	0.8846	0.0071	0.7269
	Cr(VI) concentration 50 °C, mg/L	25	6.9920	0.9297	363.36	0.9987
		50	0.0126	0.7839	0.0629	0.8119
		100	0.1029	0.9266	0.2132	0.9491
		200	0.0664	0.9870	0.0487	0.7837
	pH	1	0.6090	0.9384	1.9891	0.9750
		2	0.0069	0.9688	0.0018	0.8412
		3	0.0015	0.9715	$5.15 \cdot 10^{-4}$	0.8715
		4	0.0016	0.9769	$4.77 \cdot 10^{-4}$	0.9782
	biomass concentration, g/L	3	0.0072	0.9567	0.0010	0.9261
		5	0.0069	0.9688	0.0018	0.8412
		8	0.0227	0.8836	0.0236	0.9623
		10	0.0375	0.9800	0.0495	0.9316

3.3.1.5. Izoterme de sorbție și parametri termodinamici

Temperatura și concentrația inițială a Cr(VI) au influențat major capacitatea de sorbție (q_e). Capacitatea de reținere a Cr total a crescut o dată cu creșterea temperaturii de la 25 la 50 °C și cu creșterea concentrației de ion metalic astfel: pentru 25 mg/L Cr(VI), de la 2.9 la 3.9 mg_{Cr_{tot}}/g_{biomasă}, pentru 50 mg/L Cr(VI), de la 3.3 la 5.2 mg_{Cr_{tot}}/g_{biomasă}, pentru 100 mg/L Cr(VI), de la 4.4 la 10.2 mg_{Cr_{tot}}/g_{biomasă} și pentru 200 mg/L Cr(VI), de la 14.7 la 19.07 mg_{Cr_{tot}}/g_{biomasă}.

Acest lucru demonstrează că procesul de biosorbție a Cr total de către biomasa neviabilă a mușgaiului *T. viride* este endotermic. În această situație există două posibile explicații:

- (1) concentrația inițială de ion metalic asigură o forță favorabilă care intensifică procesul de adsorbție;
- (2) un număr ridicat de ioni de crom total concurează pentru centrul activi disponibili ai biomasei.

În cadrul acestui studiu au fost aplicate patru modele de echilibru în modelarea datelor experimentale ale biosorbției Cr total, Langmuir, Freundlich, Temkin și Dubinin-Radushkevich (Tabelul 3.2).

Modelul linearizat Langmuir, a corelat cel mai bine datele experimentale comparativ cu celelalte modele aplicate (Tabelul 3.2) și sugerează că adsorbția Cr total are loc în monostrat la temperaturile de 25 și 40 °C. Modelul Freundlich a corelat cel mai bine datele experimentale la temperatura de 50 °C. Valorile K_F și n ale modelului Freundlich reprezintă constante ce încorporează tot factorii care afectează procesul de biosorbție a Cr total (capacitatea de adsorbție și intensitatea) și au fost calculați din panta și intersecția plotului $\log q_e$ vs. $\log C_e$. Valorile coeficientului $1/n$ între 0.1 și 1.0 indică faptul că sorbția Cr total pe suprafața biomasei neviabile a mucegaiului *T. viride* este favorabilă. Valorile energiei de activare, E , calculată prin aplicarea modelului D–R, cu valori între 8 și 16 kJ/mol (8.07, 10.89 și 8.06 kJ/mol pentru 25, 40 și respectiv 50 °C) corespund unui mecanism de schimb ionic.

Tabelul 3.2. Parametri izotermelor de adsorbție modelate pentru biosorbția Cr total de către biomasa neviabilă a mucegaiului *T. viride* la diferite temperaturi

Langmuir isotherm	Temperature	q_m (mg/g)	K_L (L/mg)	R^2
	25 °C	7.98	0.0293	0.9054
	40 °C	23.08	0.0089	0.9326
	50 °C	20.67	0.0153	0.8135
Freundlich isotherm	Temperature	n	K_F (mg/g(L/mg)^{1/n})	R^2
	25 °C	2.2207	0.8661	0.7755
	40 °C	1.8196	0.8473	0.8853
	50 °C	1.6691	0.8858	0.9443
Temkin isotherm	Temperature	K_T (L/mol)	B	R^2
	25 °C	1.0007	$274.2 \cdot 10^5$	0.3967
	40 °C	1.0010	$211.6 \cdot 10^3$	0.5671
	50 °C	1.0012	$189.2 \cdot 10^3$	0.7634
D-R isotherm	Temperature	q_{max} (mg/g)	$\beta \cdot 10^{-9}$	R^2
	25 °C	47.83	7.67	0.5170
	40 °C	114.39	8.43	0.8167
	50 °C	135.18	7.68	0.8753

3.3.2. Îndepărtarea ionilor de Cr(VI): reducerea la Cr(III) și biosorbția de către biomasa viabilă a mucegaiului *Trichoderma viride*

Costurile scăzute și performanța crescută a proceselor biologice ce folosesc microorganisme fac din aceste procese alternative fezabile pentru îndepărtarea metalelor grele din soluții apoase (Liu și colab., 2008). În acest scop, biomasa fungică poate fi considerată mai potrivită decât alte

microorganisme datorită toleranței crescute față de metale grele, capacitate mult mai mare de legare a acestora de pereții celulari și capacitate de transport a acestora în interiorul celulei (Ahluwalia și Goyal, 2010).

În capitoul precedent, referitor la biosorbția Cr(VI) de către biomasa neviabilă și viabilă a bacteriei *A. viscosus*, microorganismul a indicat o toleranță crescută la soluția de ion metalic dar și la mediul puternic acid. Prin urmare, în cadrul acestui program experimental, s-a urmărit, evaluat și discutat biosorbția Cr(VI) de către biomasa viabilă a mucegaiului *T. viride*. Posibila implicare a grupelor funcționale prezente pe suprafața microorganismului a fost de asemenea studiată.

3.3.2.2. Creșterea mucegaiului *T. viride* în prezența Cr(VI)

Creșterea biomasei de *T. viride* dar și biosorbția și reducerea Cr(VI) din mediu a fost monitorizată la diferite valori inițiale cuprinse între 25 și 200 mg/L Cr(VI), experimentele fiind realizate la temperatura camerei (28 ± 2 °C). Curbele de creștere ale mucegaiului *T. viride* (TVS și TVB) înainte de biosorbție (martor) și cu diferite concentrații inițiale de Cr(VI) (25 și 50 mg/L) sunt reprezentate în Fig. 3.11a, b. Curbele de creștere ale TVS și TVB au urmat același model așa cum se poate observa în Fig. 3.11. Au putut fi totuși observate diferențe față de martor în mediul de cultură expus la diferite concentrații de ion metalic. Microorganismul expus la soluția de Cr(VI) a crescut mai mult decât martorul, astfel, pentru concentrații de Cr(VI) variind între 25 și 100 mg/L, creșterea TVS a variat între 19.87 și 14.97 g/L. Un răspuns similar a putut fi observat și în cazul TVB, a cărui concentrație a ajuns la 16.30 g/L pentru mediul de cultură ce conține 75 mg/L Cr(VI) (Tabelul 3.3).

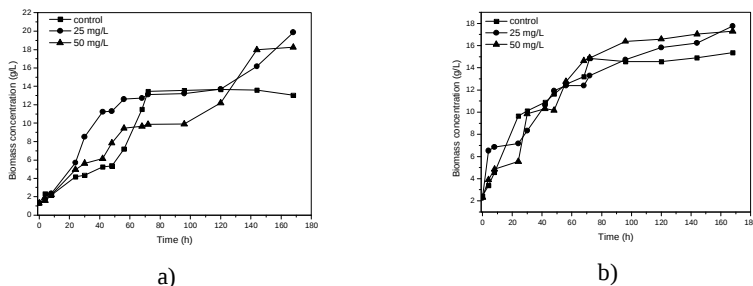


Fig. 3.11. Creșterea a) TVS și b) TVB la diferite concentrații inițiale de Cr(VI) (pH 6, timp de contact: 168 h)

Acest comportament sugerează faptul că în timpul reducerii Cr(VI) la Cr(III), microorganismul a folosit Cr(III) ca microelement. Această caracteristică a dovedit abilitatea mucegaiului *T. viride* de a tolera și reduce Cr(VI) la Cr(III) în timpul creșterii. Reducerea Cr(VI) la Cr(III) și biosorbția celui din urmă, a crescut o dată cu scăderea concentrațiilor de ion metalic folosite. TVS și TVB au prezentat o activitate similară, microorganismul fiind capabil să reducă 100 % concentrații de 25, 50 și 75 mg/L Cr(VI), 98 % din 100 mg/L Cr(VI) și 68-79% din 150 și 200 mg/L Cr(VI) (Tabelul 3.3). Reducerea Cr(VI) este cauzată de reducerea intracelulară a ionului metalic la Cr(III); acesta reprezintă principalul mecanism de detoxifiere pentru o întreagă varietate de microorganisme (Koçberber și Dönmez, 2007).

Tabelul 3.3. Influența concentrației inițiale de Cr(VI) asupra capacității de sorbție (q_e) și eficienței procesului (R%) pentru TVS și TVB

C_i (mg/L)	TVS			TVB		
	q_e (mg/g)	R (%)	X (g/L)	q_e (mg/g)	R (%)	X (g/L)
control	-	-	13.03	-	-	15.36
25	1.23	100	19.87	1.38	100	17.75
50	2.57	100	18.25	2.79	100	17.29
75	4.91	100	17.61	3.29	100	16.30
100	5.48	98.61	14.97	6.64	98.40	14.15
150	6.93	76.61	13.05	7.66	79.07	12.83
200	11.75	73.04	12.49	10.53	67.62	12.58

3.4. Biosorbția Cd(II) din soluții apoase de către biomasa viabilă și neviabilă a mucegaiului *Trichoderma viride*

Scopul acestui studiu îl reprezintă evaluarea biosorbției Cd(II) de către biomasa viabilă și neviabilă a mucegaiului *Trichoderma viride*, în regim discontinuu. În vederea cuantificării procesului prin analiza eficienței acestuia și a capacității de sorbție, au fost realizate o serie de experimente necesare în evaluarea mecanismului implicat în biosorbția Cd(II) dar și pentru o viitoare transpunere la scară a acestuia. În literatura de specialitate există o singură lucrare care investighează eficiența biosorbției Cd(II) de către *T. viride* la diferite pH-uri și valori ale temperaturii (Ali și Hashem, 2007). Prin urmare este necesară o investigare mult mai amănunțită asupra parametrilor ce influențează biosorbția și bioacumularea ionului metalic de către *T. viride* și mai mult, este necesar un studiu asupra mecanismului de sorbție al microorganismului.

3.4.1. Biosorbția Cd(II) de către biomasa neviabilă a mucegaiului *Trichoderma viride*

3.4.1.3. Influența timpului de contact și a temperaturii asupra biosorbției Cd(II)

În Fig. 3.16 sunt reprezentate datele comparative ale influenței timpului de contact și temperaturii asupra capacității de sorbție a biomasei neviabile a mucegaiului *T. viride* la 25 mg/L (Fig. 3.16a), 50 mg/L (Fig. 3.16b) și 100 mg/L (Fig. 3.16c).

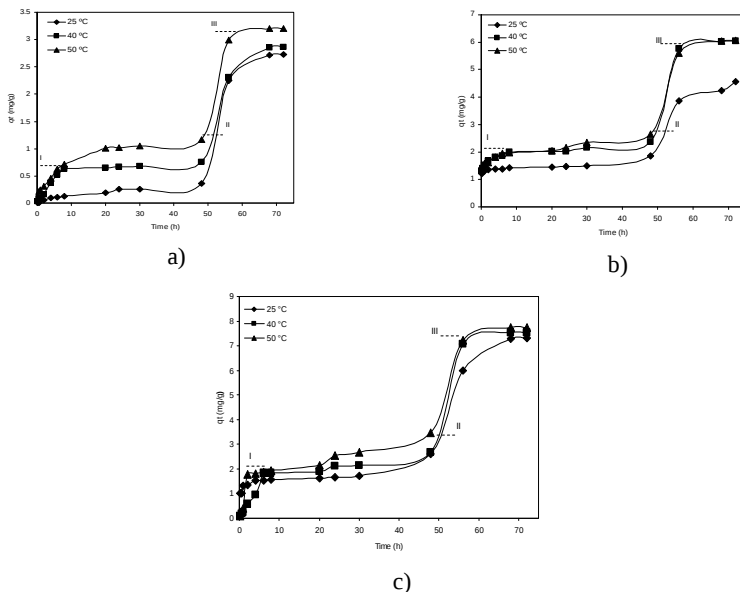


Fig. 3.16. Influența timpului de contact și a temperaturii asupra biosorbției Cd(II) de către biomasa neviabilă a mucegaiului *T. viride*: a) 25 mg/L Cd(II); b) 50 mg/L Cd(II); c) 100 mg/L Cd(II) (pH 6; concentrația biomasei: 8 g/L; timp de contact: 72 h)

În aceste figuri, se poate observa că există trei trepte în cinetica procesului de biosorbție în cazul tuturor concentrațiilor investigate. Prima treaptă a biosorbției Cd(II) de către microorganism este rapidă, fiind realizată în primele 2-3 h. Timp de 48 h, procesul inițial de transfer de masă extern este foarte lent și poartă numele de a doua treaptă a biosorbției Cd(II). A treia treaptă a biosorbției Cd(II) are loc în intervalul de timp 48 -72 h, și depinde de disponibilitatea ionilor metalici în soluție pentru sorbție (Vasudevan și colab., 2003). A treia treaptă a biosorbției Cd(II) a fost saturată la 2.7 – 3.2 mg/g

pentru 25 mg/L Cd(II) și 25-50 °C, 4.55-6.1 mg/g pentru 50 mg/L Cd(II) și 25-50 °C și 7.3-7.8 mg/g 100 mg/L Cd(II) și 25-50 °C. Pe de altă parte, eficiența procesului de biosorbție a Cd(II) de către *T. viride* a crescut o dată cu creșterea temperaturii, de la 83% la 99.99% pentru 25 mg/L, de la 69.1% la 88.5% pentru 50 mg/L și de la 57.92% la 63.55% pentru 100 mg/L, în timpul celor 72 h de contact. Acest rezultat indică natura endotermică a biosorbției ionului metalic de către *T. viride*.

Rezultate similare au fost raportate în literatura de specialitate și pentru alte sisteme metal-biosorbent (Basha și Jha, 2008; Rathinam și colab, 2010). Creșterea capacității de sorbție datorată creșterii temperaturii poate fi atribuită fie unei creșteri în numărul centrilor activi disponibili pentru sorbția Cd(II) de către *T. viride*, a unei creșteri a porozității sau a volumului total al porilor biosorbentului, fie se datorează unei descreșteri a grosimii stratului limită ce înconjoară biosorbentul o dată cu creșterea temperaturii, astfel încât rezistența la transferul de masă al sorbatului în stratul limită descrește (Aksu și colab., 2008; Sarı și Tuzen, 2009).

3.4.1.5. Influența concentrației inițiale a Cd(II), izoterme de sorbție și parametri termodinamici

Experimentele ce au urmărit stabilirea echilibrului procesului de biosorbție au avut în vedere folosirea unor concentrații de Cd(II) cuprinse între 25-500 mg/L Cd(II), la un timp de contact de 72 h și temperatura variind între 25 și 50 °C (Fig. 3.18).

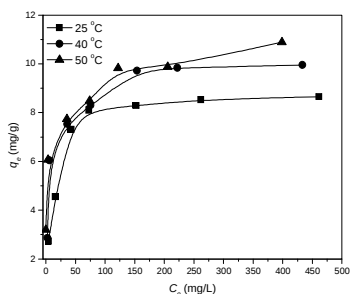


Fig. 3.18. Izoterma de sorbție a Cd(II) de către biomasa neviabilă a mucegaiului *T. viride* (pH 6; concentrația biomasei: 8 g/L; timp de contact: 72 h)

Studiile de echilibru oferă informații relevante și valoroase asupra mecanismelor de sorbție dar și a capacității de sorbție a microorganismelor

pentru metale (Peng și colab., 2010). Din Fig. 3.18 se poate observa cum capacitatea de sorbție crește o dată cu creșterea concentrației de echilibru și a temperaturii atingând maximum.

3.4.1.6. Studiul desorbției Cd(II) în regim discontinuu

În scopul stabilirii eficienței de desorbție a Cd(II) biosorbit pe biomasa mucegaiului *T. viride*, au fost testați patru agenți de eluție (0.1 M) H_2SO_4 , HNO_3 , NaOH și $CaCl_2$ în două cicluri (Fig. 3.22). Desorbția maximă a Cd(II) a avut loc folosind HNO_3 urmat în ordine descrescătoare de H_2SO_4 , $CaCl_2$ și HNO_3 . În scopul evaluării refolosirii biosorbentului în cicluri consecutive, s-a testat utilizarea eluanților propuși într-un al doilea ciclu de sorbție-desorbție. Deși în primul și al doilea ciclu, NaOH a avut o influență scăzută asupra desorbției Cd(II) de pe suprafața biomasei, înregistrând o eficiență de desorbție de 15.3%, a crescut eficiența sorbției în al doilea ciclu de la 69.4 % (eficiență înregistrată în cazul primului ciclu) la 78.3%. Această consecință sugerează că un tratament al biomasei cu NaOH ar putea intensifica capacitatea de sorbție a mucegaiului *T. viride* spre ioni de cadmiu.

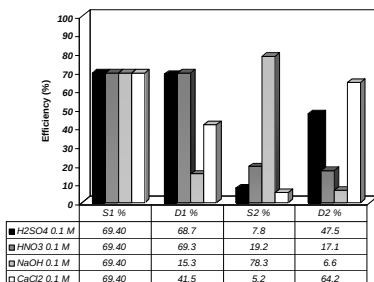


Fig. 3.22. Profilul sorbție-desorbție al Cd(II)
 (concentrația Cd(II): 100 mg/L; concentrația biomasei: 8 g/L; temperatura: 25 °C)

3.4.2. Biosorbția Cd(II) de către biomasa viabilă a mucegaiului *Trichoderma viride*

Folosirea celulelor active aflate în creștere, ca și biosorbenti pentru metale grele poate evita necesitatea unui process de separare a biomasei (de ex. cultivare, uscare, mărunțire, procesare și depozitare înainte de folosire) și poate fi considerată foarte eficientă dacă se realizează în condiții apropiate care favorizează creșterea microorganismelor (concentrații moderate de ioni metalici, pH) (Wang and Hu, 2008). În acest scop au fost inițiate o serie de experimente pentru a evalua eficiența biosorbției Cd(II) de către biomasa aflată

în creștere, la diferite pH-uri inițiale ale soluției și concentrații inițiale de ion metalic. Scopul acestui studiu a fost elucidarea mecanismului care stă la baza reținerii Cd(II) de către *T. viride* și evaluarea bioacumulării Cd(II) de către microorganismul viabil.

3.4.2.2. Creșterea mucegaiului *T. viride* în prezența Cd(II)

În Tabelul 3.7 sunt prezentate rezultatele bioacumulării unor concentrații de 25, 50, 75, 100, 150 și 200 mg/L Cd(II) de către *T. viride*. Celulele de TVS crescute timp de 168 h în prezența a diferitor concentrații inițiale de ion metalic, au fost capabile să bioacumuleze 1.54, 3.48, 4.02, 5.89, 7.85 și 4.17 mg_{Cd}/g_{biomasă}.

În prezența a 25, 50, 75, 100, 150 și 200 mg/L Cd(II) celulele de TVB crescute timp de 168 h au fost capabile să bioacumuleze 1.06, 4.04, 4.79, 6.92 și respectiv 8.59 mg_{Cd}/g_{biomasă}.

Tabelul 3.7. Influența concentrației inițiale de Cd(II) asupra reținerii ionului metalic (q_e), și eficienței procesului (R %) pentru TVS și TVB

C_i (mg/L)	TVS			TVB		
	q_e (mg/g)	R (%)	X (g/L)	q_e (mg/g)	R (%)	X (g/L)
control	-	-	13.03	-	-	15.36
25	1.54	100	14.56	1.06	100	16.79
50	3.48	100	13.37	4.04	100	15.88
75	4.02	69.87	12.95	4.79	71.87	10.87
100	5.89	76.63	11.82	6.92	86	11.55
150	7.85	72.94	11.05	8.59	77.64	11.47
200	4.17	21.27	6.99	10.02	46.64	6.63

3.5. Mecanismul biosorbției Cr(VI) și Cd(II) din soluții apoase de către biomasa viabilă și neviabilă a mucegaiului *Trichoderma viride*

Mecanismul de interacțiune dintre ionii de metal și biomasa neviabilă și viabilă a mucegaiului *T. viride* a fost investigat prin folosirea spectrometriei în infraroșu cu transformată Fourier (FTIR) și a microscopiei electronice de baleiaj cuplată cu difracție de raze X (SEM-EDX). Din analiza spectrului IR a rezultat că cele mai importante grupe funcționale implicate în biosorbția Cd(II) de către biomasa viabilă și neviabilă sunt amino, hidroxil și fosfat. O influență asupra procesului de biosorbție a ionului metalic o prezintă însă și grupările carbonil și carboxil (Fig. 3.26).

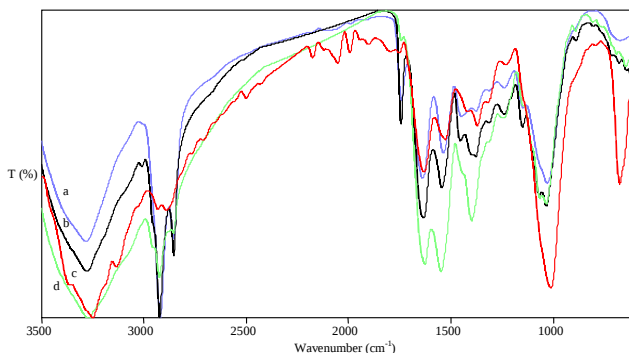
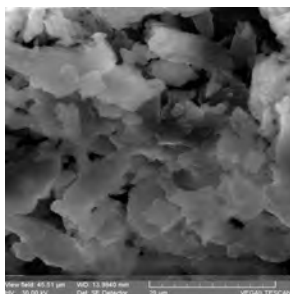
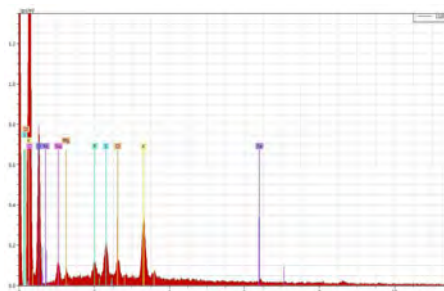


Fig. 3.26. Spectrul FTIR: a) biomasa neviabilă *T. viride*+Cd(II); b) biomasa viabilă *T. viride* (TVB)+Cd(II); c) *T. viride* ; d) biomasa viabilă *T. viride* (TVS)+Cd(II)



a)



b)

Fig. 3.28. Analiza SEM (a) și spectrul EDX (b) al biomasei *T. viride*

Analizele SEM și EDX obținute pentru biomasa moartă a mușgaiului *T. viride* sunt reprezentate în Fig. 3.28. Mușgaiul prezintă o structură poroasă, structură ce se datorează numărului mare de centri activi. Morfologia microorganismului nu se schimbă după adsorbția Cd(II). Spectrul EDX indică prezența unor picuri corespunzătoare elementelor C, Na, K, P, S, Mg, Fe, Cl, O. Aceste elemente sunt prezente în biomasa mușgaiului ca principali constituenți ai chitinei, chitosanului, proteinelor celulozelor, etc, componente ale peretelui celular al fungilor.

Analizele experimentale, și analizele FTIR și SEM – EDX confirmă ca și mecanism al biosorbției Cd(II) de către *T. viride* schimbul ionic. Rezultatele experimentale, corelate foarte bine de către izoterma Langmuir sugerează faptul ca adsorbția are loc în monostrat fără interacțiunea moleculelor sorbite. Mai

mult, valoarea energiei libere de activare, E (kJ/mol), calculată din izoterma Dubinin-Radushkevich, indică ca și mecanism dominant al biosorbției Cd(II) de către *T. viride* la 25 °C, schimbul ionic, pentru ca o dată cu creșterea temperaturii la 50 °C, difuzia intra-particulă să aibă un rol semnificativ în biosorbția ionului metalic.

3.6. Concluzii

Acest studiu aduce ca element de noutate biosorbția și bioacumularea Cr(VI) și Cd(II) de către o specie nou-izolată dintr-un sol de pădure din zona Iași, *Trichoderma viride*. Atât biosorbția cât și bioacumularea ionilor metalici a fost studiată în regim discontinuu.

Biomasa neviabilă a mucegaiului *Trichoderma viride* a fost capabilă să reducă spontan Cr(VI) la Cr(III) la 97% și 47% în cazul valorilor de pH 1 și respectiv pH 2, în doar 5 min. O reducere de 100% a unei concentrații de Cr(VI) de 100 mg/L în condiții puternic acide, pH 1 și pH 2, a fost obținută în 15 min și respectiv 12 zile (25 °C, concentrația biomasei 5g/L). Concentrațiile inițiale ale Cr(VI) (25-200 mg/L) și timpul necesar pentru o reducere de 100% a ionului metalic au scăzut o dată cu creșterea temperaturii de la 25 la 50 °C. Reducerea Cr(VI) din soluția apoasă a fost modelată cel mai bine de către modelul cinetic de ordin pseudo-unu (Lagergren), având în vedere ca și parametri de operare, pH-ul inițial al soluției, concentrația de biosorbent, concentrația inițială de ion metalic și temperatura ($R^2 > 0.9$).

Au fost propuse două mecanisme pentru îndepărtarea Cr(VI) de către biomasa neviabilă a mucegaiului *T. viride*: I – Cr(VI) poate fi redus direct la Cr(III) în faza apoasă sau II - Cr(VI) poate fi redus indirect la Cr(III) în faza apoasă.

Biosorbția Cd(II) de către biomasa neviabilă a mucegaiului *T. viride*, este puternic influențată de pH-ul inițial al soluției, concentrația de biosorbent, concentrația inițială de ion metalic, timp de contact și temperatura.

Cinetica procesului de sorbție a Cd(II) s-a realizat în trei trepte distincte, procesul urmând o cinetică de ordin pseudo-doi (modelul Ho), comportament ce sugerează ca și mecanism de sorbție chemosorbția, mecanism susținut și prin analizele FTIR și SEM-EDX.

Deși pe baza observațiilor obținute din datele experimentale, atât biosorbția cât și bioacumularea Cd(II) de către *Trichoderma viride* par a urma un comportament similar, microorganismul viu a prezentat eficiențe mai ridicate comparativ cu microorganismul neviabil.

Abilitatea acestei specii de *T. viride*, nou isolate din zona Iași a dovedit o capacitate de sorbție crescută dar și eficiențe ridicate atât în reducerea Cr(VI) cât și în îndepărtarea Cd(II).

Capitolul 4.

BIOSORBȚIA METALELOR GRELE DIN SOLUȚII APOASE FOLOSIND DROJDIA *Saccharomyces cerevisiae*

Capitolele precedente au tratat îndepărtarea metalelor grele prin folosirea biomasei bacteriene (*Arthrobacter viscosus*) și fungice (*Trichoderma viride*). Potențialul aplicabilității proceselor de biosorbție și bioacumulare a fost evaluat prin diferite experimente relizate în scopul îndreptării atenției asupra performanțelor ridicate ale acestor tipuri de procese, costuri reduse și disponibilitate a acestor tipuri de microorganisme. Acest capitol are însă în vedere, utilizarea drojdiei *Saccharomyces cerevisiae*, un biosorbent foarte mult utilizat și menționat în literatură, permițând însă compararea diferitelor microorganisme pentru biosorbția metalelor grele din soluții apoase.

4.1. Scopul și importanța cercetării

Datorită naturii unice de care a dat dovadă, drojdia *S. cerevisiae* a primit o atenție deosebită în ultimii ani, deși prezintă o capacitate de reținere a metalelor grele mediocră comparativ cu alți fungi sau bacterii. Drojdia *S. cerevisiae*, este considerată un microorganism ideal pentru identificarea mecanismului biosorbției metalelor grele, în mod special a interacțiunilor metal-microorganism la nivel molecular. Cunoștințele acumulate în biologia moleculară a drojdiei sunt foarte folositoare în identificarea mecanismului biosorbției metalelor grele la nivel molecular.

4.2. Materiale și metode

4.2.1. Microorganism

Drojdia activă comercială *Saccharomyces cerevisiae* în forma umedă presată a fost achiziționată de la un magazin local. Biomasa a fost spălată de trei ori cu apă distilată, operație urmată de centrifugare la 6.000 rpm timp de 10 min. Biomasa a fost dezactivată prin încălzire într-un cuptor la 80 °C timp de 24 h. Drojdia uscată a fost mărunțită până la valoare constantă a particulelor de drojdie de 125-250 μm. Pentru a testa absența viabilității microorganismului a

fost aplicată o procedură adițională: celulele moarte au fost suspendate în apă distilată sterilă și incubate timp de o săptămână la 28 °C pe mediu de cultură agarizat. După această perioadă de timp, s-a observat ca nu s-a dezvoltat nici o colonie vie de microorganism, demonstrându-se astfel moartea celulelor de drojdie prin dezactivare la temperatura de 80 °C.

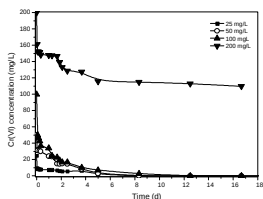
4.3. Biosorbția Cr(VI) și Cd(II) din soluții apoase de către biomasa neviabilă a drojdiei *Saccharomyces cerevisiae*

4.3.1. Îndepărtarea ionilor de Cr(VI): reducerea la Cr(III) și biosorbția de către biomasa neviabilă a drojdiei *Saccharomyces cerevisiae*

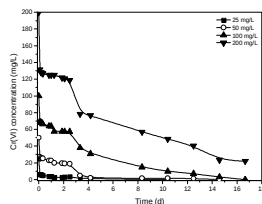
4.3.1.3. Influența timpului de contact, a concentrației inițiale de ion metalic și a temperaturii asupra reducerii Cr(VI)

Concentrația Cr(VI) în timp a fost examinată la concentrații inițiale ale Cr(VI) de la 25 la 200 mg/L și variind temperatura (25, 40 și 50 °C); parametrii, pH-ul soluției, 2, concentrația biomasei 5g/L, și viteza de agitare, 150 rpm, au fost menținuți constanți. Îndepărtarea completă din soluție a 25 mg/L Cr(VI) a necesitat un timp de contact de 8 zile, în timp ce pentru 200 mg/L Cr(VI) s-a atins o eficiență de 41 % în 17 zile (Fig. 4.5a). Creșterea temperaturii a influențat în mod semnificativ eficiența procesului de reducere a Cr(VI) și a redus timpul necesar unei eficiențe maxime de îndepărtare a ionului metalic. (Fig. 4.5b, c).

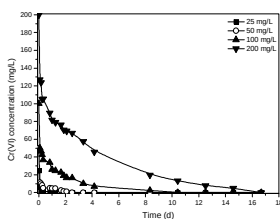
Timpul necesar pentru atingerea eficienței maxime la temperatura de 50 °C a fost de 2 zile și 17 zile pentru 25 și respectiv 200 mg/L Cr(VI). Așa cum a fost menționat în cazul unor studii similare ce au folosit biomateriale ca și biosorbenți, creșterea temperaturii induce rata unei reacții redox (Park și colab., 2005). Cr(VI) poate fi complet îndepărtat din soluție atât timp cât timpul de contact este suficient, și cu creșterea temperaturii; prin urmare, mecanismul de îndepărtare a Cr(VI) de către *S. cerevisiae*, așa cum a fost menționat și pentru celelalte microorganisme, nu este adsorbție anionică ci adsorbție cuplată cu reducere (Park și colab., 2006; Deng și colab., 2009).



a)



b)

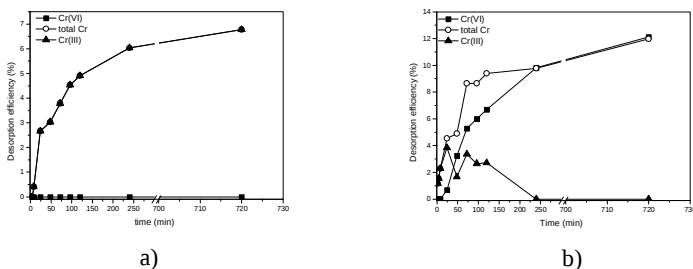


c)

Fig. 4.5. Influența timpului de contact asupra reducerii Cr(VI) de către biomasa neviabilă a drojdiei *S. cerevisiae* la diferite temperaturi: a) 25 °C; b) 40 °C; c) 50 °C (pH 2; concentrația biomasei: 5 g/L)

4.3.1.6. Studiul desorbției Cr(VI) în regim discontinuu

Bazându-ne pe presupunerea că un biosorbent promovează o alternativă economică în vederea îndepărtării metalelor grele din soluțiile apoase, a fost studiată posibilitatea recuperării metalului prin experimente de desorbție. Desorbția Cr de la suprafața microorganismului pare a fi o sarcină dificilă având în considerare că Cr(VI) a fost redus la Cr(III). Mai mulți cercetători au ajuns la concluzia că soluții bazice sau săruri alcaline (NaOH, Na_2CO_3 și NaHCO_3) au o capacitate mai mare de desorbție a Cr(VI) decât acizii sau sărurile minerale (Isa și colab., 2008). Astfel, experimentele privind desorbția Cr(VI) au fost realizate folosind ca agenți de desorbție 0.5M H_2SO_4 și 0.5M NaOH la 50 °C în regim discontinuu (Fig. 4.10a, b).



a)

b)

Fig. 4.10. Profilul de desorbție al cromului legat de biomasa utilizând diverși agenți de desorbție: a) H_2SO_4 0.5M; b) NaOH 0.5M

Așa cum se poate observa din figură, 0.5 M NaOH este un eluant mai adecvat comparativ cu H_2SO_4 , însă cu o eficiență de desorbție destul de scăzută a Cr legat de biomasa în 30 de zile (12 %). 0.5 M H_2SO_4 a desorbit doar Cr(III), în timp ce atât Cr(III) cât și Cr(VI) au fost desorbiți de 0.5M NaOH. În această

situație, Cr(III) a apărut în soluție până la 150 min, dispărând lent după 240 min. Bazându-ne pe aceste rezultate există posibilitatea ca atât Cr(III) cât și Cr(VI) să existe pe suprafața biomasei, Cr(VI) fiind redus la Cr(III), care a fost desorbit în soluția apoasă (Park și colab., 2005). Acest studiu sugerează că o concentrație mai mare de NaOH poate fi necesară pentru a spori desorbția posibilelor specii de Cr legate de biomasa neviabilă a drojdiei *S. cerevisiae*.

4.3.2. Biosorbția Cd(II) din soluții apoase de către biomasa neviabilă a drojdiei *Saccharomyces cerevisiae*

Unul dintre primele studii publicate referitoare la biosorbția cadmiului(II) de către *Saccharomyces cerevisiae* a fost realizat de către Volesky și colab. (1993). Reținerea cadmiului de către biomasa neviabilă a *S. cerevisiae* obținută în diferite condiții aerobice și anaerobice a fost examinată în timp (Volesky și colab., 1993). Alte lucrări din literatura de specialitate referitoare la biosorbția Cd(II) de către drojdia *S. cerevisiae* în diferite forme, au fost publicate de-a lungul timpului (Vianna și colab., 2000; Dai și colab., 2008; Park și colab., 2003; Pasternakiewicz, 2006; Rahatgaonkar și Mahore, 2008; Ruta și colab., 2010), deși mecanismul biosorbției nu a fost pe deplin înțeles. Acest program experimental este concentrat pe evaluarea parametrilor experimentali optimi ce vor putea fi folosiți în proiectarea sistemului de biosorbție. Aplicarea unor modele de echilibru și cinetice, precum și analizele FTIR și SEM-EDX au permis caracterizarea naturii și a mecanismului de biosorbție a cadmiului(II). Rezultatele din cadrul acestei teze de doctorat contribuie la o mai bună înțelegere a biosorbției și a dezvoltării potențialului biosorbției Cd(II) din soluții apoase.

4.3.2.3. Influența timpului de contact și a temperaturii asupra biosorbției Cd(II)

Fig. 4.14a, b arată capacitatea de reținere a 50 și 100 mg/L Cd(II), de către 5 g/L *S. cerevisiae* la pH 6, în funcție de timpul de contact și temperatură. Reținerea Cd(II) crește continuu în timp, până la 440 min după care se înregistrează valori nesemnificative. Acest lucru este cauzat de forțele de atracție puternice dintre ionul metalic și biomasa de drojdie și de numărul de centri activi disponibili pentru sorbție. La echilibru, capacitatea de sorbție este controlată de viteza la care ionii metalici sunt transportați de la suprafața externă spre centrii activi din interiorul biomasei (Bhattacharya și Gupta, 2006; Yeddou și Bensmaili, 2005).

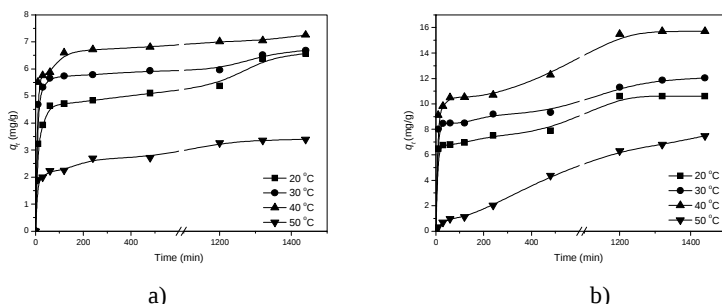


Fig. 4.14. Influența timpul de contact și a temperaturii asupra biosorbției Cd(II) de către biomasa neviabilă a drojdiei *S. cerevisiae*: a) 50 mg/L Cd(II); b) 100 mg/L Cd(II) (pH 6; concentrația biomasei: 5 g/L; timp de contact: 24 h)

4.3.2.4. Cinetica procesului de biosorbție

În modelarea datelor cinetice ale biosorbției Cd(II) de către *S. cerevisiae* au fost folosite diverse modele de adsorbție. Rezultatele au arătat că modelul cinetic de ordin pseudo-doi (modelul Ho) corelează cel mai bine datele experimentale și prezice comportamentul cinetic în toată raza de studii (Tabelul 4.4, Fig. 4.15a, b).

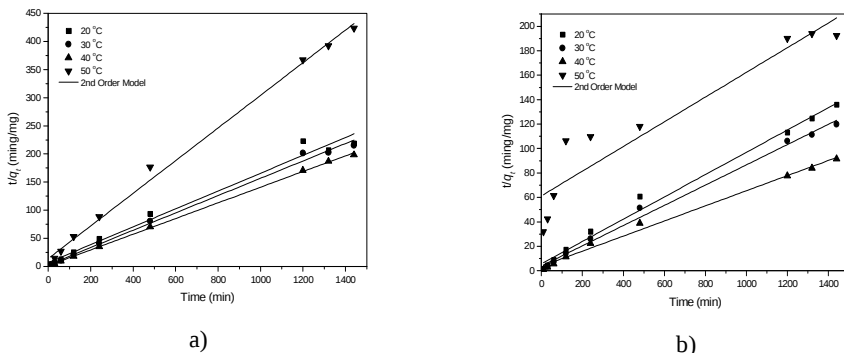


Fig. 4.15. Modelul cinetic de ordin pseudo-doi aplicat pentru biosorbția Cd(II) de către biomasa neviabilă a drojdiei *S. cerevisiae* la diferite temperaturi:
 (a) 50 mg/L Cd(II) (b) 100 mg/L Cd(II)

Tabelul 4.4. Parametrii cinetici obținuți pentru biosorbția Cd(II) de către biomasa neviabilă a drojdiei *S. cerevisiae*

Initial concentration (mg/L)	Kinetics	Parameters	Temperature			
			20 °C	30 °C	40 °C	50 °C
50	Pseudo-first-Order	q_e (mg/g)	1.9172	1.2291	0.6961	1.3493
		k_1 (min ⁻¹)	0.0414 10 ⁻²	0.1447 10 ⁻²	0.0918 10 ⁻²	0.1889 10 ⁻²
		R ²	0.9413	0.9614	0.9931	0.9565
	Pseudo-second-Order	q_e (mg/g)	6.2968	6.4880	7.1756	3.4454
		k_2 (g/mg min)	0.3504 10 ⁻²	0.8196 10 ⁻²	1.113 10 ⁻²	2.041 10 ⁻²
		h (mg/g min)	0.1389	0.34503	0.57314	0.07032
		R ²	0.9811	0.9946	0.9994	0.9956
	Elovich Equation	α (mg/g min)	20.74	230467.18	308681.78	6.62
		β (mg/g min)	1.7958	3.2433	2.92192	3.1544
		R ²	0.8693	0.8433	0.9357	0.9258
	Experimental values	q_e (mg/g)	6.56	6.685	7.252	3.397
100	Pseudo-first-Order	q_e (mg/g)	4.0197	3.7736	6.1643	7.4354
		k_1 (min ⁻¹)	8.67 10 ⁻⁴	7.87 10 ⁻⁴	11.85 10 ⁻⁴	17.02 10 ⁻⁴
		R ²	0.9542	0.80061	0.8827	0.9535
	Pseudo-second-Order	q_e (mg/g)	10.9637	12.0685	16.1733	9.8980
		k_2 (g/mg min)	14.49 10 ⁻⁴	17.86 10 ⁻⁴	10.41 10 ⁻⁴	1.66 10 ⁻⁴
		h (mg/g min)	0.1742	0.2601	0.2723	0.0163
		R ²	0.9903	0.9934	0.9928	0.8810
	Elovich Equation	α (mg/g min)	38.10	711.20	43.99	0.06
		β (mg/g min)	1.0981	1.2488	0.7179	0.6645
		R ²	0.7770	0.7838	0.8345	0.8464
	Experimental values	q_e (mg/g)	10.6	12.03395	15.71282	7.48496

4.3.2.5. Influența concentrației inițiale a Cd(II), izoterme de sorbție și parametri termodinamici

Fig. 4.13 prezintă izotermele de sorbție ale Cd(II) (25-500 mg/L) la diferite temperaturi 20, 30, 40 and 50 °C.

Datele experimentale au arătat o creștere a cantității de cadmiu(II) sorbit o dată cu creșterea concentrației inițiale de ion metalic de la 25 la 500

mg/L. În plus, cantitatea de metal sorbit a crescut o dată cu creșterea temperaturii de la 20 to 40 °C, indicând un proces endoterm în acest interval de temperatură. O dată cu creșterea temperaturii până la 50 °C, cantitatea de metal sorbit a scăzut, acest comportament sugerând că la temperaturi mai mari procesul este exoterm.

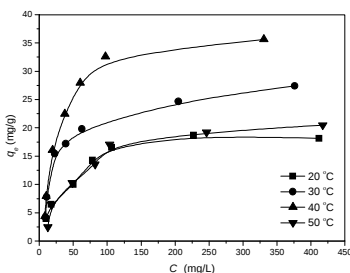


Fig. 4.16. Izoterma de sorbție a Cd(II) de către biomasa neviabilă a drojdiei *S. cerevisiae* (pH 6; concentrația de biosorbent: 5 g/L; timp de contact: 24 h)

4.5. Concluzii

Drojdia *S. cerevisiae* produsă în cantități mari de către industria alimentară și a băuturilor a putut îndepărta cu succes Cr(VI) din soluția apoasă. Îndepărtarea Cr(VI) a implicat două mecanisme așa cum a fost sugerat și în cazul celorlalte două microorganisme folosite în cadrul tezei de doctorat (bacteria *A. viscosus* și mucegaiul *T. viride*): reducerea directă sau indirectă a Cr(VI) la Cr(III). Reducerea și biosorbția Cr(VI) este influențată în mod evident de pH-ul soluției, concentrația de 100 mg/L Cr(VI) fiind complet îndepărtată din soluție la pH 1-2, în 5-12 zile de către 5 g/L biomasă de drojdie.

Modele cinetice de adsorbție și reducere au fost aplicate în vederea corelării datelor experimentale rezultate de la biosorbția posibilelor specii de crom legate de biomasa neviabilă a drojdiei.

Acest studiu a indicat ca drojdia *S. cerevisiae* este un biosorbent promițător pentru îndepărtarea Cd(II) din soluție apoasă. Pentru o soluție de Cd(II) de concentrație 100 mg/L, s-a putut observa o eficiență a procesului de 86-87 % utilizând o concentrație de biosorbent de 5 g/L la un pH inițial al soluției de 6, timp de contact de 24 h și temperatura de 40 °C.

În evaluarea aplicabilității procesului de biosorbție, datele experimentale ce privesc echilibrul procesului au fost modelate de către izotermele de sorbție în forma liniarizată Langmuir, Freundlich, Temkin și Dubinin-Radushkevich. Modelul Langmuir a corelat cel mai bine datele

experimentale, estimând capacitatea de sorbție a drojdiei neviabile *S. cerevisiae* la 20.24 mg/g, 29.72 mg/g, 40.40 mg/g și 24.20 mg/g pentru temperaturile de 20, 30, 40 și respectiv 50 °C. Acest model sugerează că adsorbția ionului metalic are loc pe o suprafață omogenă în monostrat fără ca moleculele adsorbite să interacționeze. Modelul Dubinin-Radushkevich, a permis calculul energiei de activare, ca fiind 9.72-10.52 kJ/mol în cazul biosorbției Cd(II) de către biomasa de drojdie, indicând că biosorbția ionului metalic are loc prin chemisorbție, așa cum a fost indicat și prin aplicarea modelului cinetic de ordin pseudo-doi (modelul Ho).

Prin urmare, se poate concluziona că drojdia *S. cerevisiae* reprezintă un biosorbent eficient pentru îndepărtarea metalelor grele (Cr(VI) și Cd(II)) din soluții apoase, datorită capacității de sorbție și eficiențelor ridicate, și în mod special pentru că reprezintă un sub-produs al industriei fermentative, fiind produsă în cantități foarte mari.

Capitolul 5.

EVALUAREA ȘI COMPARAREA PERFORMANȚEI MICROORGANISMELOR *Arthrobacter viscosus*, *Trichoderma viride* ȘI *Saccharomyces cerevisiae* ÎN PROCESUL DE BIOSORBȚIE A METALELOR GRELE DIN SOLUȚII APOASE

Acest capitol este concentrat pe evaluarea celor mai buni parametri rezultați în urma analizelor experimentale, capacitatea de sorbție și eficiența proceselor de biosorbție și bioacumulare a metalelor grele în vederea proiectării.

Rezultatele obținute constituie baza științifică pentru evaluarea proceselor de biosorbție și bioacumulare în protecția mediului, putând fi transpuse la scara pilot și/sau industrială. Tabelul 5.1 furnizează informații de bază (cele mai bune condiții experimentale obținute) pentru o viitoare proiectare a procesului de biosorbție a Cr(VI), Cd(II) și Pb(II) de către *A. viscosus*, *T. viride* și *S. cerevisiae*.

Analiza numeroaselor date experimentale a vizat și evidențiat complexitatea proceselor investigate, mecanisme de sorbție și dificultățile de modelare, cinetică și de echilibru, indicând astfel noi direcții de studiu în viitor.

Datele experimentale sau cele modelate arată că procesele alternative de biosorbție și bioacumulare dezvoltate în cadrul tezei sunt eficiente și promițătoare din punct de vedere al aplicabilității la scară industrială, ținând cont de o serie de avantaje: tehnologie relativ simplă, cantitate de biomasă redusă, eficiență ridicată a proceselor (Tabelul 5.1).

Table 5.1. Parametri experimentali obținuți în cazul biosorbției Cr(VI), Cd(II) și Pb(II) de către *A. viscosus*, *T. viride* și *S. cerevisiae*

Microorganism		Metal	Initial metal conc. (mg/L)	Biomass conc. (g/L)	pH	Contact time (h)	Temperature (°C)	q_m (mg/g)	q_{exp} (mg/g)	K_L (L/mg)	V_m/V (L bead/L solution)	Biosorption efficiency for 100 mg/L metal solution (%)
<i>A. viscosus</i>	dead	Cr(VI) ($C_{r_{tot}}$)	25-250	5	1-2	144 h	50	1089.2	18.23	1.43	$4.38 \cdot 10^{-2}$	100 31
		Cd(II)	25 - 400	3	6	48 h	26	34.08	33.33	0.1717	29.40	93
		Pb(II)	25 - 500	2	4	2 -24 h	26	115.07	121.4	0.1651	5.67	97-98
	living	Cr(VI) ($C_{r_{tot}}$)	25-250	5	1-2	48 h	26	1161.3	12.4			100
		Cd(II)	25-250	5	5	48 h	26	24.26	24.04			89
		Pb(II)	25 - 500	2	6	24 h	26	114.94	108.75			96
<i>T. viride</i>	dead	Cr(VI) ($C_{r_{tot}}$)	25-200	5	2	48 h	50	20.67	19.07	0.015	129.35	100 20.02
		Cd(II)	25-500	8	6	72 h	50	10.95	10.89	0.0895	64.78	63.5
	living	Cr(VI) ($C_{r_{tot}}$)	25-200	12.5	6	168	28	-	10.53-11.75			98-99
		Cd(II)	25-200	6.9	6	168	28	-	10.02			86
<i>S. cerevisiae</i>	dead	Cr(VI) ($C_{r_{tot}}$)	25-200	5	2	250 h	50	46.08	8.7	0.0033	262.27	100 36.02
		Cd(II)	25-500	5	6	24 h	40	40.40	35.62	0.026	95.54	87

q_{exp} (mg/g)- capacitatea maximă de sorbție obținută din experimente

q_m (mg/g)- capacitatea maximă de sorbție obținută din aplicarea izotermei Langmuir

În cadrul prezentei teze s-a arătat că celulele neviabile ale microorganismelor, fie ele bacterii sau fungi, sunt mai avantajoase în folosire decât celulele viabile, pentru că nu necesită utilizarea unui sistem de cultivare, nu sunt afectate de metalele grele care pot fi toxice în cazul utilizării celulelor viabile și pot fi ușor depozitate. Experimentele de biosorbție sunt deseori realizate prin folosirea celulelor microbiene dezactivate la temperaturi ridicate. Un astfel de tratament cauzează ruperea pereților celulari, descoperind mai multe grupări funcționale și atingând astfel maximul capacității de sorbție a biomasei.

Diferența dintre echilibrul proceselor de biosorbție și bioacumulare este reprezentat grafic în Fig. 5.1.

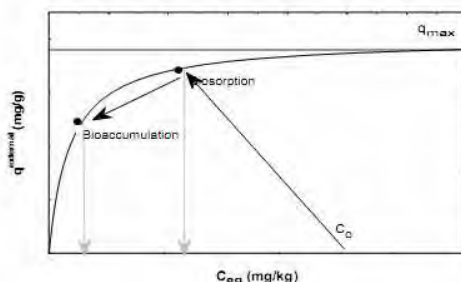


Fig. 5.1. Diferența dintre echilibrul atins în biosorbție și bioacumulare (Chojnacka, 2009)

Ca o observație de final, poate fi menționat faptul că toate microorganismele au capacitatea de a reține metalele grele din soluții apoase, însă această capacitate este intensificată în cazul bacteriilor și fungilor (în special mucegaiuri).

CONCLUZII GENERALE

Biosorbția și bioacumularea reprezintă procese bazate pe biomasă existentă în natură, dar aplicarea lor pe scară industrială necesită controlul diverselor tipuri de microorganisme precum și al parametrilor ce influențează procesele, acestea neputând fi realizate în absența unei înțelegeri aprofundate a mecanismelor de interacțiune ce se stabilesc între metalele grele și microorganisme.

De aceea, acest domeniu este investigat la nivel internațional, ca alternativă la procesele clasice de îndepărtare a metalelor grele din soluții apoase, pentru identificarea de soluții eficiente, selective și cu costuri relativ scăzute.

În acest context studiile și cercetările efectuate în cadrul prezentei teze de doctorat cu titlul ***“Sorption processes applied for the removal of heavy***

metals from contaminated environments” (Procese de sorbție aplicate pentru îndepărtarea metalelor grele din medii contaminate) au ca obiectiv fundamental abordarea uneia dintre cele mai relevante ramuri ale biotehnologiei, bioremedierea, urmărind două direcții, biosorbția și bioacumularea, aplicate pentru îndepărtarea din soluții apoase a unor metale grele selectate prin utilizarea unor microorganisme neviabile și viabile ca și biosorbenți.

Prin prezenta teza de doctorat s-a realizat o analiză sistematică a biosorbției și bioacumulării unor metale grele relevante: Cr(VI), Cd(II) și Pb(II) de către biomasa neviabilă și viabilă a unor microorganisme aparținând clasei bacteriilor și fungilor (mușcăiuri și drojdii): *Arthrobacter viscosus*, *Trichoderma viride* și *Saccharomyces cerevisiae*.

Din aceasta derivă **obiectivele specifice** ale programului experimental elaborat în cadrul tezei de doctorat:

- alegerea biosorbenților în funcție de caracteristicile acestora, eficiența și proprietățile lor pentru îndepărtarea metalelor grele (Cr(VI), Cd(II) și Pb(II)) din soluții apoase;

- evaluarea și cuantificarea influenței unor parametri de care depinde eficiența procesului: pH, concentrația de biosorbent, concentrația inițială de ion metalic, timp de contact și temperatură, în scopul stabilirii eficienței procesului în sistem discontinuu;

- investigarea mecanismului care stă la baza reținerii Cr(VI), Cd(II) și Pb(II) de către biomasa neviabilă și viabilă a bacteriei *A. viscosus*;

- investigarea mecanismului care stă la baza reținerii Cr(VI) și Cd(II) de către biomasa neviabilă și viabilă a mușcăiului *T. viride*;

- investigarea mecanismului care stă la baza reținerii Cr(VI) și Cd(II) de către biomasa neviabilă a drojdiei *S. cerevisiae*;

- investigarea potențialului bacteriei *A. viscosus* de îndepărtare a Cr(VI), Cd(II) și Pb(II) în sistem continuu, prin realizarea unui biofilm bacterian imobilizat pe un nou tip de suport inert din polietilenă;

- modelarea datelor experimentale în scopul evaluării și înțelegerii mecanismului biosorbției, a factorilor de influență și a unor criterii de transpunere la scară a procesului.

Prin programul experimental atent elaborat în cadrul tezei de doctorat **Procese de sorbție aplicate pentru îndepărtarea metalelor grele din medii contaminate** s-au obținut rezultate cu caracter cert de noutate, atât în ceea ce privește îndepărtarea metalelor grele pe speciile de biomasă selectate, cât și din punctul de vedere al proceselor (în regim discontinuu și, respectiv continuu), iar valorificarea observațiilor experimentale prin modele cinetice, de echilibru și

termodinamice, împreună cu analizele FTIR și SEM-EDX, susține viabilitatea acestor rezultate.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- Acevedo-Aguilar F.J., Espino-Saldaña A.E., Leon-Rodriguez I.L., Rivera-Cano M.E., Avila-Rodriguez M., Wrobel K., Wrobel K., Lappe P., Ulloa M., Gutiérrez-Corona J.F., (2006), Hexavalent chromium removal in vitro and from industrial wastes, using chromate-resistant strains of filamentous fungi indigenous to contaminated wastes, *Canadian Journal of Microbiology*, **52**, 809-815.
- Baysal Z., Çinar E., Bulut Y., Alkan H., Dogru M., (2009), Equilibrium and thermodynamic studies on biosorption of Pb(II) onto *Candida albicans* biomass, *Journal of Hazardous Materials*, **161**, 62–67.
- Brinza L., Nygård C.A., Dring M.J., Gavrilescu M., Benning L.G., (2009), Cadmium tolerance and adsorption by the marine brown alga *Fucus vesiculosus* from the Irish Sea and the Bothnian Sea, *Bioresource Technology*, **100**, 1727-1733.
- Figueiredo H., Neves I.C., Quintelas C., Tavares T., Taralunga M., Mijoin J., Magnoux P., (2006), Oxidation catalysts prepared from biosorbents supported on zeolites, *Applied Catalysis B: Environmental*, **66**, 274–280.
- Figueiredo H., Silva B., Quintelas C., Neves I.C., Tavares T., (2010), Effect of the supporting zeolite structure on Cr biosorption: Performance of a single-step reactor and of a sequential batch reactor—A comparison study, *Chemical Engineering Journal*, **163**, 22–27.
- Gavrilescu M., (2004), Removal of heavy metals from the environment by biosorption, *Engineering in Life Sciences*, **4**, 219-232.
- Gavrilescu M., Chisti Y., (2005), Biotechnology—a sustainable alternative for chemical industry, *Biotechnology Advances*, **23**, 471–499.
- Gavrilescu M., Pavel V.L., Cretescu I., (2009), Characterization and remediation of soils contaminated with uranium, *Journal of Hazardous Materials*, **163**, 475-510.
- Gavrilescu M., (2010a), *Biosorption in environmental remediation*. In: *Bioremediation technology*, Fulekar M.H. (Ed.), 35-99.
- Hlihor R.M.**, Gavrilescu M., (2009a), Removal of some environmentally relevant heavy metals using low-cost natural sorbents, *Environmental Engineering and Management Journal*, **8**, 353-372.
- Hlihor R.M.**, Gavrilescu M., (2009b), Biosorption of heavy metals from the environment using yeasts as biosorbents, *Bulletin of the Polytechnic Institute of Iassy, Section Chemistry and Chemical Engineering*, **LV(LIX)**, 21-37.
- Hlihor R.M.**, Apostol L.C., Smaranda C., Pavel V.L., Caliman F.A., Robu B., Gavrilescu M., (2009a), Bioavailability processes for contaminants in soils and their use in risk assessment, *Environmental Engineering and Management Journal*, **8**, 1199-1206.
- Hlihor R.M.**, Apostol L.C., Pavel V.L., Smaranda C., Robu B., Caliman F.A., Gavrilescu M., (2009b), Overview on chromium occurrence in the environment and its

- remediation, *Bulletin of the Polytechnic Institute of Iassy, Section Chemistry and Chemical Engineering*, **LV(LIX)**, 19-34.
- Hlihor R.M.**, Diaconu M., Gavrilescu M., (2010a), Influence of pH on Cr(VI) reduction and removal by *Saccharomyces cerevisiae*, *Bulletin of the Polytechnic Institute of Jassy, Section Chemistry and Chemical Engineering*, **57**, 147-153.
- Hlihor R.M.**, Diaconu M., Figueiredo H., Tavares T., Gavrilescu M., *Biosorption of cadmium (II) ions from simulated wastewaters by dried yeast biomass*, (2010b), Proceedings of the 3rd International Conference on Advanced Materials and Systems, **ISSN: 2068-0783**, 387-392.
- Hlihor R.M.**, Diaconu M., Gavrilescu M., (2011), A comparison of kinetic models applied for Cd(II) removal by *S. cerevisiae*, *Bulletin of the Polytechnic Institute of Jassy, Section Chemistry and Chemical Engineering*, **LVII(LXI)**, 163 – 171.
- Lameiras S., Quintelas C., Tavares T., (2008), Biosorption of Cr (VI) using a bacterial biofilm supported on granular activated carbon and on zeolite, *Bioresource Technology*, **99**, 801–806.
- Le Cloirec P., Andrès Y., (2005), *Bioremediation of Heavy Metals Using Microorganisms*. In: *Bioremediation of aquatic and terrestrial ecosystems*, Fingerman M., Nagabhushanam R. (Eds.), Science Publishers, Inc., 97-140.
- Naja G., Volesky B., (2009a), *Toxicity and sources of Pb, Cd, Hg, Cr, As, and radionuclides in the environment*. In: *Heavy metals in the environment*, Wang L.K., Chen J.P., Hung Y.-T., Shammas N.K. (Eds.), CRC Press, 13-62.
- Pagnanelli F., (2011), *Equilibrium, kinetic and dynamic modelling of biosorption processes*, In: *Microbial Biosorption of Metals*, Kotrba P., Mackova M., Macek T. (Eds.), Springer, 59-120.
- Park D., Yun Y.-s., Park J.M., (2010), The past, present, and future trends of biosorption, *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, **15**, 86-102.
- Pavel V.L., **Hlihor R.M.**, Caliman F.A., Gavrilescu M., (2008), Biophysico-chemical processes of heavy metals in soil environments, *Bulletin of the Polytechnic Institute of Iassy, Section Chemistry and Chemical Engineering*, **LIV (LVIII)**, 75-87.
- Pavel V.L., Bulgariu D., Bulgariu L., **Hlihor R.M.**, Gavrilescu M., (2009), Studies on sorption and transport processes of cadmium in soils, *Environmental Engineering and Management Journal*, **8**, 1315-1320.
- Pavel V.L., Bulgariu D., Bulgariu L., **Hlihor R.M.**, Gavrilescu M., (2010), Analysis of factors determining the behaviour of chromium in some Romanian soils, *Environmental Engineering and Management Journal*, **9**, 89-94.
- Pavel V.L., **Hlihor R.M.**, Bulgariu D., Stătescu F., Gavrilescu M., (2011), Study of cadmium sorption on some Romanian soils, *Environmental Engineering and Management Journal*, **10**, 367-373.
- Quintelas C., Sousa E., Silva F., Neto S., Tavares T., (2006), Competitive biosorption of orto-cresol, phenol, chlorophenol and chromium (VI) from aqueous solution by a bacterial biofilm supported on granular activated carbon, *Process Biochemistry*, **41**, 2087-2091.

- Quintelas C., Fernandes B., Castro J., Figueiredo H., Tavares T., (2008a), Biosorption of Cr(VI) by three different bacterial species supported on granular activated carbon – A comparative study, *Journal of Hazardous Materials*, **153**, 799-809.
- Quintelas C., Fonseca B., Silva B., Figueiredo H., Tavares T., (2009), Treatment of chromium(VI) solutions in a pilot-scale bioreactor through a biofilm of *Arthrobacter viscosus* supported on GAC, *Bioresource Technology*, **100**, 220–226.
- Viraraghavan T., Srinivasan A., (2011), *Fungal biosorption and biosorbents*. In: *Microbial Biosorption of Metals*, Kotrba P., Mackova M., Macek T. (Eds.), Springer, 143-158.

Activitatea științifică

I. LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE ÎN REVISTE COTATE ISI

1. *Bioremoval of Cd(II) from aqueous solutions using Trichoderma viride*, (2011), **Raluca Maria Hlihor**, Mariana Diaconu, Ciprian Chelaru, Ion Sandu, Teresa Tavares, Maria Gavrilescu, under evaluation.
2. *Bio(sorbent) based remediation in environmental pollution control*, (2011), Laura Carmen Apostol, **Raluca Maria Hlihor**, Maria Gavrilescu, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, under evaluation.
3. *Study of cadmium sorption on some Romanian soils*, (2011), Vasile Lucian Pavel, **Raluca-Maria Hlihor**, Dumitru Bulgariu, Florian Statescu, Maria Gavrilescu, *Environmental Engineering and Management Journal*, **10**, 367-373.
4. *Analysis of factors determining the behaviour of chromium in some Romanian soils*, (2010), Vasile Lucian Pavel, Dumitru Bulgariu, Laura Bulgariu, **Raluca Maria Hlihor**, Maria Gavrilescu, *Environmental Engineering and Management Journal*, **9**, 89-94.
5. *Studies on sorption and transport processes of cadmium in soils*, (2009), Vasile Lucian Pavel, Dumitru Bulgariu, Laura Bulgariu, **Raluca Maria Hlihor**, Maria Gavrilescu, *Environmental Engineering and Management Journal*, **8**, 1315-1320.
6. *Bioavailability processes for contaminants in soils and their use in risk assessment*, (2009), **Raluca Maria Hlihor**, Laura Carmen Apostol, Camelia Smaranda, Vasile Lucian Pavel, Florentina Anca Căliman, Brîndușa Mihaela Robu, *Environmental Engineering and Management Journal*, **8**, 1199-1206.
7. *Removal of some environmentally relevant heavy metals using low-cost natural sorbents*, (2009), **Raluca Maria Hlihor**, Maria Gavrilescu, *Environmental Engineering and Management Journal*, **8**, 353-372.

II. LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE ÎN REVISTE NAȚIONALE RECUNOSCUTE CNCIS COTATE B+

1. *A comparison of kinetic models applied for Cd(II) removal by S. cerevisiae*, (2011), **Raluca-Maria Hlihor**, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, *Bulletin of the Polytechnic Institute of Jassy, Section Chemistry and Chemical Engineering*, **LVII(LXI)**, 163 – 171.

2. *Influence of pH on Cr(VI) reduction and removal by Saccharomyces cerevisiae*, (2011), **Raluca-Maria Hlihor**, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, *Bulletin of the Polytechnic Institute of Jassy, Section Chemistry and Chemical Engineering*, **LVII (LXI)**, 147- 153.
3. *Thermodynamic study of Cd(II) sorption on soil*, (2010), **Raluca-Maria Hlihor**, Petronela Cozma, Cristina Ghinea, Vasile Lucian Pavel, Brindusa Mihaela Robu, Maria Gavrilescu, *Scientific Papers Journal. Agronomy series*, **53**, 93-95.
4. *Equilibrium study of Cd(II) sorption from aqueous solution onto soil: Effect of temperature*, (2010), **Raluca Maria Hlihor**, Vasile Lucian Pavel, Dumitru Bulgariu, Maria Gavrilescu, *Bulletin of the Polytechnic Institute of Jassy, Section Chemistry and Chemical Engineering*, **LVI(LX)**, 37-46.
5. *Overview on chromium occurrence in the environment and its remediation*, (2009), **Raluca Maria Hlihor**, Laura Carmen Apostol, Vasile Lucian Pavel, Camelia Smaranda, Brîndușa Mihaela Robu, Florentina Anca Căliman, Maria Gavrilescu, *Bulletin of the Polytechnic Institute of Jassy, Section Chemistry and Chemical Engineering*, **LV (LIX)**, 19-34.
6. *Life cycle impact assessment of pesticides: current issues and perspectives*, (2009), Laura Carmen Apostol, **Raluca Maria Hlihor**, Camelia Smaranda, Vasile Lucian Pavel, Brindusa Mihaela Robu, Florentina Anca Caliman, Maria Gavrilescu, *Bulletin of the Polytechnic Institute of Jassy, Section Chemistry and Chemical Engineering*, **LV (LIX)**, 67 – 83.
7. *Biosorption of heavy metals from the environment using yeasts as biosorbents*, (2009), **Raluca Maria Hlihor**, Maria Gavrilescu, *Bulletin of the Polytechnic Institute of Jassy, Section Chemistry and Chemical Engineering*, **LV (LIX)**, 21 – 37.
8. *Biophysico-chemical processes of heavy metals in soil environments*, (2008), Vasile Lucian Pavel, **Raluca Maria Hlihor**, Florentina Anca Caliman, Maria Gavrilescu, *Bulletin of the Polytechnic Institute of Jassy, Section Chemistry and Chemical Engineering*, **LIV (LVIII)**, 75-87.

III. LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE ÎN VOLUME ALE CONFERINȚELOR NAȚIONALE ȘI INTERNAȚIONALE

1. *Biosorption of cadmium (II) ions from simulated wastewaters by dried yeast biomass*, (2010), **Raluca Maria Hlihor**, Mariana Diaconu, Hugo Figueiredo, Teresa Tavares, Maria Gavrilescu, *Proceedings of the 3rd International Conference on Advanced Materials and Systems*, **ISSN: 2068-0783**, 387-392.
2. *Equilibrium, thermodynamic and kinetic studies for the biosorption of aqueous cadmium(II) ions by Saccharomyces cerevisiae*, (2010), **Raluca Maria Hlihor**, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, *Proceedings of the 14th International Symposium on Cellulose Chemistry and Technology*, **ISBN 978-973-621-306-9**, 232-238.
3. *Behaviour of persistent pollutants and risks associated with their presence in the environment*, (2009), M. Gavrilescu, F.A. Căliman, B.M. Robu, C. Smaranda, V.L. Pavel, **R.M. Hlihor**, L.C. Apostol, *Expoziția realizărilor cercetării românești – SALONUL CERCETĂRII – 2009*, 28 – 31 octombrie 2009, Târgul Tehnic Internațional București, Complexul Expozițional ROMEXPO.

4. *Studiu experimental comparativ al sorbției Cd(II) pe sorbenți naturali și sintetici*, (2008), **Raluca Maria Hlihor**, Lucian Vasile Pavel, Anca Florentina Caliman, Igor Cretescu, Maria Gavrilăscu, *Materiale și Procese Inovative*, Lucrările celei de-a V-a ediții a Conferinței Naționale a Zilelor Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului, ISBN 978-973-621-255-0, 514-519.

5. *Factors influencing the sorption of anionic azo dye tartrazine from aqueous solutions onto natural clay*, (2008), Florentina Anca Caliman, Laura Carmen Apostol, **Raluca Maria Hlihor**, Maria Gavrilăscu, *Materiale și Procese Inovative*, Lucrările celei de-a V-a ediții a Conferinței Naționale a Zilelor Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului, ISBN 978-973-621-255-0, 455-460.

6. *Sorbția unor metale grele (CrVI și CdII) pe soluri*, (2008), Lucian Vasile Pavel, **Raluca Maria Hlihor**, Camelia Smaranda, Florentina Anca Căliman, Maria Gavrilăscu, *Materiale și Procese Inovative*, Lucrările celei de-a V-a ediții a Conferinței Naționale a Zilelor Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului, ISBN 978-973-621-255-0, 249-254.

IV. LUCRĂRI COMUNICATE/POSTERE

1. *Analysis and management of specific processes from environmental engineering and protection based on sustainability indicators*, M.E. Fortună, I. Teslaru Simion, C. Ghinea, M. Petraru, L.C. Fasolă Apostol, **R.M. Hlihor**, M. Gavrilăscu, The 6th International Conference on Environmental Engineering and Management - GREEN FUTURE, 1-4 September 2011, Lake Balaton, Hungary.

2. *Bio(sorbent) based remediation in environmental pollution control*, Laura Carmen Apostol, **Raluca Maria Hlihor**, Maria Gavrilăscu, The 5th European Bioremediation Conference", July 4-7, 2011, Chania, Crete, Greece.

V. PARTICIPĂRI LA WORKSHOP-URI

„CONCEPTS IN ENVIRONMENTAL SCIENCE AND ENGINEERING”, International Training Workshop on Environmental and Occupational Health, Organizat de Institute of International Health, Michigan State University, Gheorghe Asachi Technical University of Iasi, University Politehnica of Bucharest, Institute of Public Health Bucharest, Instructori: D.T Long, Ph.D., T.C. Voice, Ph.D., C. Teodosiu, Ph.D., R.G. Stanescu, Ph.D., I.G. Breaban, Ph.D., 1-4 iunie 2009, Iasi, Romania.